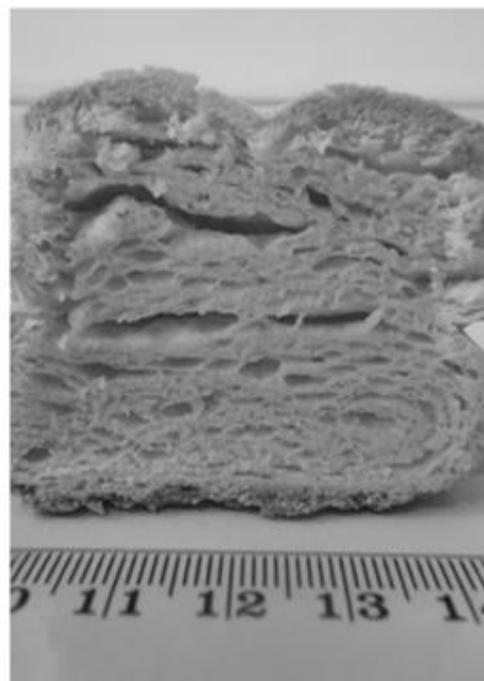


Trabajo de tesis doctoral

Estudio de productos laminados salados libres de gluten

Efecto de la incorporación de aditivos sobre la calidad y la conservación

ANA E. DE LA HORRA

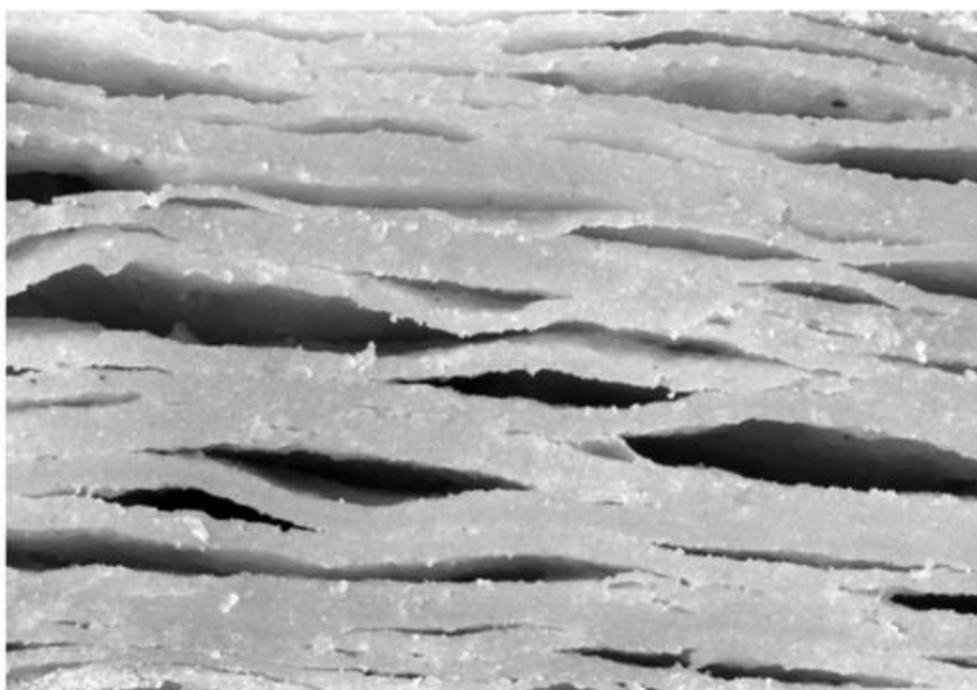


Universidad
Nacional de Córdoba

FCEfyN

ICYTAC

CONICET
U N C



Tesis para optar al título de doctor en Ciencias de la
Ingeniería

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Univesidad Nacional de Córdoba

Dr. Alberto E. León director

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos
Córdoba (UNC-CONICET)

Córdoba, Argentina

2016

Índice



Resumen	1
Introducción	3
Inmunopatogénesis de la enfermedad celíaca	3
Prevalencia de la enfermedad celíaca	7
Función estructural de la red de gluten	8
Alimentos libres de gluten	13
Estructura de productos panificados libres de gluten	14
Objetivo general	26
Objetivos específicos	27

Sección I Panificados laminados de harina de trigo

Capítulo 1. Relación entre las características de harina de diferentes tipos de trigo y las propiedades de masas y panificados laminados	29
1.1 Materiales y métodos	30
1.1.1 Caracterización físico-química de las muestras de harina	30
1.1.2 Elaboración de panificados laminados salados	32
1.1.3 Caracterización estructural de las piezas de masa	33
1.1.4 Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados	33
1.1.5 Análisis estadístico	36
1.2 Resultados y discusión	36
1.2.1 Caracterización físico-química de las muestras de harina	36
1.2.2 Propiedades estructurales de las piezas de masa laminadas	42
1.2.3 Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados	44
1.2.4 Correlación entre los parámetros obtenidos	50
1.2.5 Determinación de indicadores de aptitud de una harina para la obtención de panificados laminados	54
1.3 Conclusiones	55

Capítulo 2 Relación entre las propiedades estructurales de la materia grasa y la calidad tecnológica y sensorial de panificados laminados	57
2.1 Materiales y métodos	58
2.1.1 Caracterización físico-química de la muestra de harina	58
2.1.2 Caracterización estructural de la materia grasa	59
2.1.3 Elaboración de panificados laminados salados	60
2.1.4 Caracterización estructural de las piezas de masa	61
2.1.5 Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados.....	61
2.1.6 Evaluación sensorial de los panificados	62
2.1.7 Análisis estadístico	63

2.2 Resultados y discusión	63
2.2.1 Caracterización físico-química de la muestra de harina	63
2.2.2 Caracterización estructural de la materia grasa	64
2.2.3 Caracterización estructural de las piezas de masa	69
2.2.4 Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados	70
2.2.5 Evaluación sensorial de los panificados	74
2.3 Conclusiones	76

Sección II Panificados laminados libres de gluten

Capítulo 3. Efecto de la incorporación de hidrocoloides en las propiedades estructurales de las masas y la calidad tecnológica de los panificados

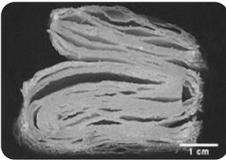
3.1 Materiales y métodos	78
3.1.1 Ensayos preliminares	78
3.1.2 Evaluación de la incorporación de hidrocoloides	79
Elaboración de panificados laminados libres de gluten	80
Estudio de las interacciones en el sistema masa	80
Comportamiento reológico	80
Análisis de la fracción proteica	82
Movilidad del agua presente en el sistema	83
Efecto del aumento de temperatura en la estructura de la masa	85
Comportamiento reológico	85
Distribución del agua durante el calentamiento	86
Evaluación de la estructura interna durante el horneado	86
Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados	87
3.1.3 Análisis estadístico	88
3.2 Resultados y discusión	90
3.2.1 Ensayos preliminares	90
3.2.2 Incorporación de goma xántica	94
Efecto de la goma xántica en la calidad tecnológica de los panificados	94
Evaluación de las interacciones en el sistema masa	97
Efecto del aumento de temperatura en la estructura de la masa	110
3.2.3 Incorporación de hidroxipropilmetil celulosa	120
Efecto de la hidroxipropilmetil celulosa en la calidad tecnológica de los panificados	120
Evaluación de las interacciones en el sistema masa	123
Efecto del aumento de temperatura en la estructura de la masa	130
3.2.4 Incorporación de <i>psyllium</i>	136
Efecto del <i>psyllium</i> en la calidad tecnológica de los panificados	136
Evaluación de las interacciones en el sistema masa	139
Efecto del aumento de temperatura en la estructura de la masa	146
3.3 Conclusiones	150

Capítulo 4. Efecto de la incorporación de enzimas y emulsionantes en las propiedades estructurales de las masas y la calidad tecnológica de los panificados	155
4.1 Materiales y métodos	155
4.1.1 Elaboración de panificados laminados libres de gluten	156
4.1.2 Estudio de las interacciones en el sistema masa	156
Análisis de la fracción proteica	156
Comportamiento reológico	157
4.1.3 Efecto del aumento de temperatura en la estructura de la masa	157
Comportamiento reológico	157
4.1.4 Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados	157
4.1.5 Análisis estadístico	158
4.2 Resultados y discusión	159
4.2.1 Efecto de la incorporación de enzimas	159
Efecto de las enzimas en la calidad tecnológica de los panificados	159
Evaluación de las interacciones en el sistema masa	161
Efecto del aumento de temperatura en la estructura de la masa	168
4.2.2 Efecto de la incorporación de emulsionantes	170
Efecto de los emulsionantes en la calidad tecnológica de los panificados	170
4.3 Conclusiones	173
Capítulo 5. Evaluación del efecto combinado de aditivos y metodologías de conservación sobre la calidad tecnológica de los panificados	175
5.1 Materiales y métodos	175
5.1.1 Efecto combinado de los aditivos	175
Selección de variables y planteo del diseño experimental	175
Elaboración de los productos laminados y evaluación de la calidad	176
Tratamiento de los resultados y evaluación de las ecuaciones predictoras	176
5.1.2 Optimización de la formulación	177
5.1.3 Evaluación de las metodologías de conservación	177
5.1.4 Análisis Estadístico	178
5.2 Resultados y discusión	179
5.2.1 Ensayos preliminares	179
5.2.2 Efecto combinado de los aditivos sobre las características tecnológicas de los panificados	180
5.2.3 Optimización de la formulación de panificados laminados LG	185
5.2.4 Efecto de diferentes metodologías de conservación sobre la calidad tecnológica de los panificados	187
5.3 Conclusiones	197
Conclusiones generales	199
Referencias bibliográficas	203

Resumen



El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de ingredientes y aditivos libres de gluten (LG) en las propiedades de masas y la calidad tecnológica de productos de estructura laminada. En una primera etapa se estudió un sistema elaborado con harina de trigo, para establecer relaciones entre las características de las harinas y muestras de materia grasa y el comportamiento de la masa y la calidad de los productos. Seguidamente se incorporaron hidrocoloides (goma xántica, psyllium y HPMC) en un sistema elaborado con harinas LG. Las interacciones hidrocoloide-agua y los cambios en la fracción proteica debido a la presencia de hidrocoloides permitieron la formación de masas con mayor resistencia a la deformación. Durante el calentamiento, la formación de una estructura tipo gel y el retraso de la gelatinización del almidón, impartieron un comportamiento reológico a la masa que promovió la preservación de la integridad de las capas y por lo tanto de la estructura. Concomitantemente hubo una mejora en la calidad tecnológica de los productos con hidrocoloides, los cuales fueron más altos, de estructura laminada y mayor firmeza. Además se evaluó la incorporación de otros aditivos, como enzimas (glucosa oxidasa y ciclodextrina glucano tranferasa) y emulsionantes (SSL y DATEM). A partir de los resultados obtenidos se seleccionaron tres aditivos y se optimizó su concentración para obtener un producto de buena calidad tecnológica. Finalmente la formulación óptima obtenida fue utilizada para la evaluación de dos metodologías de conservación, masas precocidas y congeladas.



The aim of this work was to evaluate the effect of gluten-free (GF) ingredients and additives on dough properties and the technological quality of laminated structure baked products. In a first stage, a system developed with wheat flour was studied to establish relationships between the characteristics of flours and fat samples and the dough behavior and the quality of the products. Subsequently hydrocolloids (xanthan gum, *psyllium* and HPMC) were incorporated into a system made with GF ingredients. Hydrocolloid-water interactions and changes in the protein fraction due to the presence of hydrocolloids allowed the obtainment of dough samples with greater resistance to deformation. During heating, the formation of a gel-like structure and a delay in the starch gelatinization imparted a rheological behavior to the dough sample, which promoted the preservation of the layers integrity; and therefore of the structure. Concomitantly there was an improvement in the technological quality of the products with hydrocolloids. They were higher, with a laminated structure and greater firmness. In addition, the incorporation of other additives, such as enzymes (glucose oxidase and cyclodextrin glucan tranferase) and emulsifiers (SSL and DATEM) were evaluated. From the results obtained, three additives were selected and their concentration was optimized to obtain a product of good technological quality. Finally the optimized product was used to evaluate the effect of conservation methodologies, part-baking and freezing process.



L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de différents ingrédients sans gluten (SG) et additifs dans les propriétés de pâte et la qualité technologique des produits de boulangerie laminés. Dans une première étape, un système à base de farine de blé a été étudié pour établir des relations entre les caractéristiques de la farine et de différentes matières grasses dans le comportement de la pâte et la qualité des produits cuits. Postérieurement, l'effet des hydrocolloïdes (xanthane, psyllium et HPMC) dans un système à base de farine SG a été étudié. Les résultats obtenus indiquent que les interactions hydrocolloïdes-eau et les changements dans la fraction protéique due à la présence d'hydrocolloïdes ont permis la formation d'une pâte avec une plus grande résistance à la déformation. Pendant le chauffage, la formation d'une structure de type gel et le retard de la gélatinisation de l'amidon, ont donné à la pâte un comportement rhéologique qui a favorisé la préservation de l'intégrité des couches et, par conséquent, la structure du produit. Concomitamment, il y a eu une amélioration de la qualité technologique des produits avec des hydrocolloïdes, ils étaient, plus élevés, la structure plus laminé et plus ferme. En outre, l'incorporation d'additifs tels que des enzymes (glucose-oxydase et cyclodextrine-transférase glucane) et d'émulsifiants (DATEM et SSL) a été évaluée. A partir des résultats obtenus, trois additifs ont été sélectionnés et sa concentration a été optimisée pour obtenir un produit de bonne qualité technologique. Enfin, la formulation optimale obtenue a été utilisée pour l'évaluation des deux méthodes de conservation, c'est-à-dire, la pâte précuite et congelée.

Introducción

En los últimos años la comunidad científica ha reportado la existencia de un amplio espectro de trastornos relacionados a la ingesta de gluten. Según las definiciones propuestas en el *XIV International Coeliac Disease Symposium* (2011, Oslo) y por Ludvigsson et al. (2012) los trastornos relacionados a la ingesta de gluten son todas aquellas enfermedades desencadenadas por el gluten. Estos incluyen la dermatitis herpetiformis, la ataxia por gluten, la sensibilidad al gluten no celíaca y la enfermedad celíaca (EC). La EC es definida como una enteropatía crónica del intestino delgado inmuno-mediada y promovida por la exposición a una dieta con gluten en individuos genéticamente predispuestos. La interacción de factores genéticos y ambientales lleva a la pérdida de tolerancia a ciertas proteínas presentes en algunos cereales, en particular a las prolaminas del trigo (gliadinas), cebada (hordeínas), centeno (secalinas) y otras especies como el triticale y la avena (aveninas). Este conjunto de prolaminas presentes en diversos cereales es referido en general en la bibliografía bajo el término de "gluten". Como consecuencia de la intolerancia a las prolaminas se produce una lesión intestinal, con repercusión clínica y funcional variable. En general se caracteriza por un aumento de linfocitos en el epitelio y lámina propia, pérdida de vellosidades, apoptosis de enterocitos y remodelación de la mucosa, y la presencia de anticuerpos anti-transglutaminasa.

Inmunopatogénesis de la enfermedad celíaca

La susceptibilidad a la enfermedad celíaca, su activación y perpetuación conllevan una combinación de factores genéticos y ambientales, y de mecanismos inmunológicos.

El rol de las proteínas de la dieta en la EC

La gran mayoría de las proteínas ingeridas en la dieta son hidrolizadas en la luz del intestino, mediante peptidasas gástricas, pancreáticas y del borde en cepillo intestinal, dando lugar a péptidos más pequeños o a aminoácidos aislados. Los péptidos y/o aminoácidos son absorbidos a través del epitelio intestinal mediante transporte transcelular. La digestión del gluten es escasa tanto en intestinos que poseen la EC como en intestinos sanos. El alto contenido de glutamina y prolina de las proteínas de ciertos cereales las vuelve resistentes a una completa proteólisis enzimática (Hausch et al. 2002, Shan et al. 2002). Por lo tanto se originan fragmentos residuales de gran tamaño que no se absorben fácilmente a través de los mecanismos normales que siguen las proteínas de la dieta. Aunque la digestión incompleta de estas proteínas no es suficiente como para generar la EC, en individuos con la EC activa esta digestión incompleta se da de manera exagerada en el intestino delgado y produce lesiones en el borde en cepillo de las células epiteliales (figura 1).

Mecanismos inmunológicos

El organismo humano presenta ciertos mecanismos de inmunidad frente a las agresiones que recibe del medio. La respuesta inmune innata constituye la primera barrera de defensa y está constituida por ciertos componentes, como células fagocíticas, NK, dendríticas y endoteliales y los mastocitos, entre otros; encargados de desarrollar los mecanismos de defensa. Las células de inmunidad reconocen un grupo reducido de estructuras presentes en los patógenos a través de receptores. La activación de la inmunidad innata se inicia con la captura de los antígenos microbianos

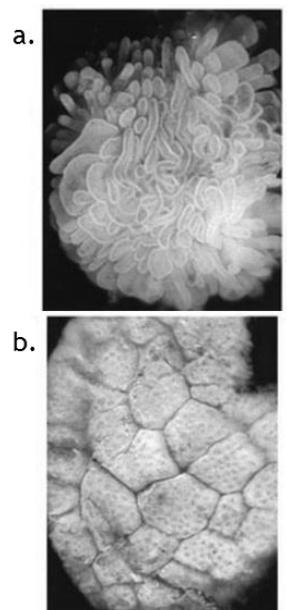


Figura 1 Biopsias de mucosa del intestino delgado. **a.** Biopsia de un intestino normal con numerosas vellosidades. **b.** Biopsia de un individuo con la EC. En lugar de vellosidades se observan numerosas aberturas superficiales a las criptas subyacentes y los bordes de la superficie. (Adaptado a partir de Kagnoff 2007).

en los tejidos periféricos, piel y mucosas, por parte de las células dendríticas. Estas células capturan el antígeno en la periferia, lo procesan y, en respuesta a señales indicativas de estrés tisular, migran hacia los órganos linfáticos secundarios donde presentan el antígeno a los linfocitos T $CD4^+$ y T $CD8^+$. De esta manera se inicia la respuesta inmune adaptativa.

Los elementos celulares de la respuesta inmune adaptativa son los linfocitos T y B. Estos elementos reconocen secuencias aminoácidas cortas y específicas presentes en las proteínas microbianas a través de receptores antigénicos (TCR y BCR). Es decir, cada linfocito T o B reconoce un único antígeno. Una vez que el linfocito reconoció a su antígeno se activa y sufre un proceso de expansión clonal que genera una progenie compuesta de miles de células con idéntica especificidad antigénica. La existencia de centenares de clones diferentes brinda un repertorio adecuado para el reconocimiento de diferentes antígenos microbianos. Por otro lado, en la respuesta inmune innata cada receptor posee una especificidad determinada genéticamente. Por selección natural, los receptores evolucionan para reconocer microorganismos infecciosos.

Los linfocitos B y T presentan mecanismos diferentes de reconocimiento de antígenos. Los linfocitos B reconocen al antígeno en su conformación nativa y no requieren la participación de células presentadoras del antígeno (CPA). Mientras que los linfocitos T no reconocen el antígeno nativo. De modo que los linfocitos T solo son capaces de reconocer péptidos derivados del procesamiento del antígeno, presentados por moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase I (para los linfocitos T $CD8^+$) o de clase II (para los linfocitos T $CD4^+$), expresadas sobre la superficie de las CPA. Se deduce entonces que la principal función del CMH es la presentación de péptidos antigénicos. El CMH en humanos recibe el nombre de Antígeno Leucocitario Humano (HLA, por sus siglas en inglés). El HLA es un *superlocus* localizado en el brazo corto del cromosoma 6 y contiene un gran número de genes. Estos genes codifican las proteínas presentadoras de antígenos que se expresan en la superficie de la mayoría de las células del ser humano y constituyen una pieza fundamental en la capacidad de discernir entre lo propio y lo extraño. Los linfocitos B son células especializadas, cuya única función es la de generar anticuerpos. Mientras que los linfocitos T presentan diferentes perfiles fenotípicos y funcionales. En función de la expresión de las moléculas $CD4$ y $CD8$, se distinguen dos subpoblaciones diferentes: T $CD4^+$ y T $CD8^+$. Los linfocitos T $CD4^+$ no constituyen una población homogénea y de acuerdo a su perfil funcional se distinguen tres grupos de linfocitos: Th₁, Th₂ y T reguladores (Geffner 2008).

En condiciones normales, la respuesta frente a las proteínas de la dieta es de tolerancia oral. La tolerancia oral se define como la falta de respuesta inmunológica sistémica frente a determinados antígenos ingeridos, tras su administración posterior por vía sistémica (Chehade y Mayer 2005). Sin embargo, en la EC hay una pérdida de tolerancia frente al gluten y proteínas similares. La capacidad del sistema inmunológico del tracto digestivo para distinguir entre antígenos de la dieta y microorganismos patógenos podría explicarse porque éstos proporcionan un estímulo persistente, asocian otras señales de peligro, o invaden tejidos linfoides alejados de la mucosa. Se han descrito varios mecanismos responsables de la tolerancia oral: deleción (apoptosis), anergia clonal (inactivación funcional de las células efectoras), e inducción de los linfocitos T reguladores, que actúan mediante citosinas. Sin embargo, actualmente el modelo inmunopatogénico más aceptado establece que el gluten tiene un efecto doble mediado por la inmunidad innata (efecto tóxico directo del gluten sobre el epitelio) y la inmunidad adaptativa (a través de los linfocitos T $CD4^+$ de la lámina propia o tejido subyacente) (Brandtzaeg 2006).

Respuesta innata frente al gluten.

Algunos fragmentos del gluten, como p31-49 o 31-43 de la α -gliadina, inducen una respuesta inmunológica inmediata de tipo innato, no relacionada con los linfocitos T, ni con la presentación antigénica dependiente de moléculas HLA-DQ2/8. Aunque los mecanismos aún no están completamente dilucidados, en estudios realizados sobre modelos de cultivo *ex vivo* de muestras de biopsia de pacientes con la EC, se ha observado que la respuesta inmediata inducida por el péptido 31-49 se asocia a la expresión de la IL-15, la ciclooxigenasa (COX-2) y los marcadores de activación CD25 y CD83 por células mononucleares de la lámina propia (figura 2). La IL-15 activa a su vez al factor de transcripción NF- κ B en las células adyacentes, que aumenta la producción de IL-15, y la inducción de la enzima Óxido Nítrico Sintasa inducible (iNOS, por sus siglas en inglés), responsables de una situación de estrés oxidativo, y de la retroalimentación de la respuesta innata. La expresión de moléculas como MICA y/o HLA-E está aumentada en los enterocitos y la IL-15 desencadena fenómenos de citotoxicidad (apoptosis) sobre estas células, al inducir la expresión de moléculas NKG2D y NKG2C (ligandos de MICA y HLA-E respectivamente) en los linfocitos intraepiteliales. Finalmente, la IL-15 puede debilitar las uniones *tight-junctions* entre los enterocitos (Arranz et al 2012).

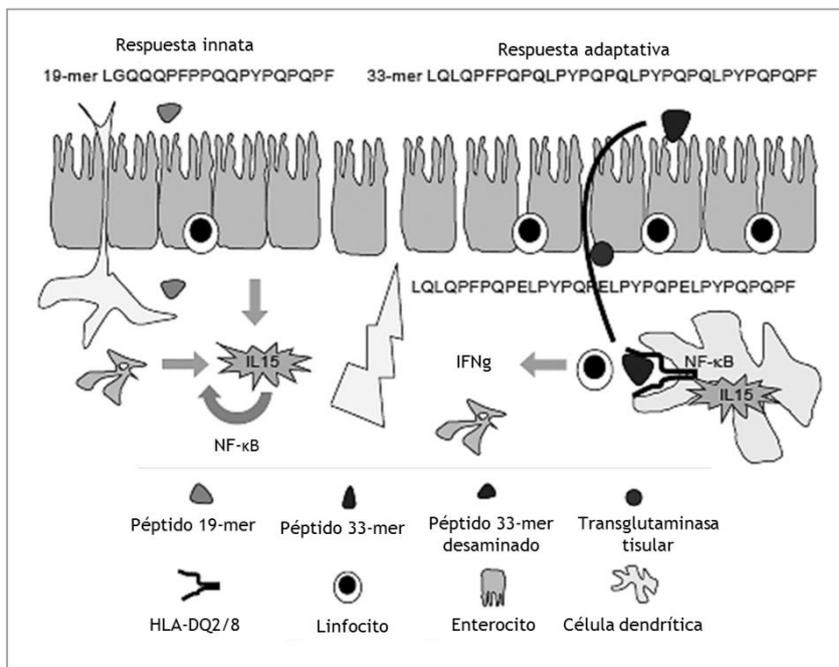


Figura 2 Respuesta innata y adaptativa frente al gluten. (Adaptado a partir de Arranz et al 2012).

Interacción IL-15 /IL-15 R α

Si bien los efectos de la IL-15 se consideran tradicionalmente asociados a la inmunidad innata, también presentan cierta asociación con la inducción de la inmunidad adaptativa. En la EC el efecto de la IL-15 puede actuar también como un claro nexo de unión entre ambos tipos de respuestas inmunológicas al ser un potente activador de las células dendríticas y, con ello, de los linfocitos T CD4⁺ específicos (Mattei et al. 2001). La IL-15 se convierte así en iniciador de la expansión clonal y de la respuesta inmunológica de tipo Th1 que se manifestará por linfocitosis intraepitelial, hiperplasia de las criptas y aplanamiento de las vellosidades.

Respuesta adaptativa frente al gluten.

El modelo inmunopatogénico de la EC integra varios elementos presentes en la mucosa del intestino delgado, como lo son la presencia de péptidos de gluten (tóxicos e inmunogénicos), el efecto de alguno de estos péptidos sobre el epitelio, la actividad del enzima TG2, la presencia de las CPA que expresan moléculas HLA-DQ, y de linfocitos T CD4⁺ reactivos al gluten (figura 2). Este mecanismo mediado por los linfocitos T se divide en tres etapas (Kagnoff 2007).

En una primera fase, un individuo ingiere gluten, el cual debido a su alto contenido de prolina es resistente en gran parte y se da una digestión incompleta, lo cual origina fragmentos residuales de gran tamaño que no se absorben fácilmente a través de los mecanismos normales. Estos fragmentos son transportados a través de la barrera epitelial como péptidos. Las principales teorías establecen que los péptidos de gluten podrían alcanzar la lámina propia donde tiene lugar la respuesta inmunológica adaptativa a través de varias rutas principales. Estas vías pueden ser la transcelular a través de los enterocitos, la ruta paracelular a través de las *tight-junctions* entre los enterocitos y la vía que implica el acceso directo a la lámina propia gracias a la captación directa realizada por las células dendríticas. Sin embargo, no están claras aún las razones por las cuales los péptidos inmunogénicos de gliadina ingresan desde la luz intestinal hasta la lámina propia en los primeros estadios de la EC. Algunos estudios sostienen que los péptidos pueden ser transportados durante un incremento de la permeabilidad intestinal secundaria o una infección vírica del intestino o por retrotranscitosis mediada por la inmunoglobulina A.

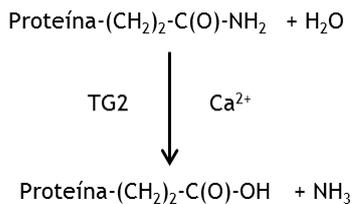


Figura 3 Acción catalítica de deaminación de la enzima transglutaminasa tisular (TG2).

Una vez que los péptidos han ingresado a la lámina propia constituyen los sustratos de la enzima transglutaminasa tisular (TG2). La TG2 es una enzima cuya principal función es catalizar la modificación de proteínas mediante transamidación o deaminación (figura 3). En la EC, la TG2 tiene un papel fundamental en el mecanismo patogénico mediante la modificación enzimática de los péptidos inmunodominantes de gliadina. El principal sustrato exógeno de la TG2 es la gliadina, que contiene aminoácidos de carga positiva. La TG2 induce la sustitución ordenada y específica de residuos de glutamina por otros de ácido glutámico con carga negativa, lo que favorece la interacción con otros aminoácidos básicos localizados en posiciones de anclaje de las moléculas HLA-DQ2 y DQ8, y aumenta su capacidad de estimular a los linfocitos T CD4⁺. En los pacientes con la EC en actividad, la TG2 se expresa en el borde en cepillo epitelial y en la zona subepitelial de la lámina propia. En la lesión celíaca en fase activa, se observa un aumento de las CPA, principalmente de las células dendríticas, que expresan marcadores de activación en su superficie. Los heterodímeros con fenotipo HLA-DQ2 y DQ8 presentes en las CPA se unen con fragmentos de gluten deaminados.

Una vez que se han formado los complejos entre los fragmentos de gluten deaminados y las moléculas HLA-DQ comienza la etapa de activación de las células T. Los linfocitos T CD4⁺ reconocen péptidos de gliadina en el contexto de las moléculas DQ2/DQ8. Las CPA juegan un papel central en la activación de los linfocitos T de memoria y reactivos al gluten que se acumulan en el intestino delgado de los pacientes con la EC, y que son responsables en última instancia de la lesión tisular. Las CPA pueden ser activadas también como consecuencia de la IL-15 liberada durante la respuesta innata inducida por el gluten. La activación de las células T de la mucosa es probable que sea más pronunciada en aquellos individuos que son homocigotos para HLA-DQ2 o en aquellos que son heterocigotos, de modo que poseen una dosis doble de la HLA-DQB1 * 02 alelo.

En una tercera fase, el reconocimiento de ciertos péptidos de gliadina por los linfocitos T CD4⁺ da lugar a una respuesta dominada por citocinas de perfil Th1, con

predominio de IFN γ y otras citocinas pro-inflamatorias (TNF α , IL18, entre otras) y un descenso proporcional de citocinas reguladoras o de función anti-inflamatoria (IL-10 y TGF β). Esto altera las funciones claves de la mucosa, incluyendo la permeabilidad intestinal, también puede resultar en la activación y liberación de enzimas que pueden dañar la mucosa, lo que conduce a una pérdida de la estructura vellosa y a la hipertrofia de las criptas.

Factores genéticos

Aunque el modelo de herencia de la EC es aún desconocido, hace tiempo que se sabe que la herencia participa en la predisposición a la enfermedad. La proporción del riesgo de padecer la EC que es atribuible a factores genéticos, frente a los ambientales es aproximadamente del 87 % (Greco et al. 2002). Estudios moleculares han evidenciado que los factores directamente implicados son los genes HLA de clase II que codifican para las moléculas HLA-DQ2 y HLA-DQ8. La asociación de HLA-DQ2 con la enfermedad es la más fuerte, por lo que alrededor del 90 % de los pacientes celíacos presentan al menos una copia del heterodímero HLA-DQ2.5 (formado por la combinación de los alelos DQA1*05 y DQB1*02, encargados de codificar las cadenas α y β del heterodímero, respectivamente). Por otro lado, un 20-30 % de la población no celíaca también es portadora de esta variante de riesgo, lo que demuestra que aun siendo muy importante, la molécula HLA-DQ2 es por sí sola insuficiente para desarrollar la enfermedad. La gran mayoría de los pacientes con la EC que carecen de HLA-DQ2 son portadores de la variante DQ8, presente en el haplotipo formado por los alelos DQA1*0301 y DQB1*0302. Una proporción muy pequeña de los pacientes son negativos tanto para DQ2 como para DQ8, pero se ha observado que en la mayoría de los casos, estos individuos presentan al menos uno de los dos alelos que codifican para la molécula DQ2, es decir, DQA1*05 o DQB1*02 (Karell et al. 2003, Vartdal y Thorsby 1992).

La fuerte asociación de los genes HLA de clase II con la EC se explica a través del rol que juegan los linfocitos T CD4⁺ en la patogenésis de la enfermedad. De hecho, existen células T CD4⁺ que reconocen los péptidos del gluten en la mucosa intestinal de pacientes celíacos, pero no en la de individuos sanos. Estas células T CD4⁺ presentes en el intestino de los celíacos, están normalmente caracterizadas por las moléculas HLA-DQ2 o -DQ8 (Ploski et al. 1993). Cuando individuos genéticamente susceptibles (que expresan las moléculas HLA-DQ2 o -DQ8) son expuestos a ciertos epítopes del gluten, estos epítopes son presentados por las células CPA, estimulando la proliferación de células T CD4⁺ gluten-específicas.

Factores ambientales

Entre los factores ambientales que tienen un papel fundamental en la EC se encuentran la exposición diaria al gluten, la microbiota del individuo (Forsberg et al. 2004), la incorporación temprana y tardía del gluten en la dieta de los niños (Ivarsson et al. 2000, 2003) y la falta de lactancia materna (Akobeng et al. 2006), entre otros.

Prevalencia de la enfermedad celíaca

La prevalencia de una enfermedad es definida como el número de casos presentes en una población en un momento dado. En el caso de la EC, en 1950 la prevalencia era estimada en 1 en 8000 en la población general y se diagnosticaba por síntomas gastrointestinales, estudios de absorción, y atrofia de las vellosidades del intestino delgado mediante una biopsia (Davidson y Fountain 1950). A partir de 1980, la serología aplicada a estudios poblacionales, permitió seleccionar individuos asintomáticos o silentes, a quienes se les realizaba la biopsia intestinal, confirmando la EC y revelando una prevalencia de la enfermedad más alta de la esperada. En Suecia,

en 1991 mediante estudios serológicos en donantes de sangre se obtuvo una prevalencia de 1:256 (Grodzinsky et al. 1992). A este estudio le siguieron otros de diferentes países, con metodología similar en poblaciones adultas.

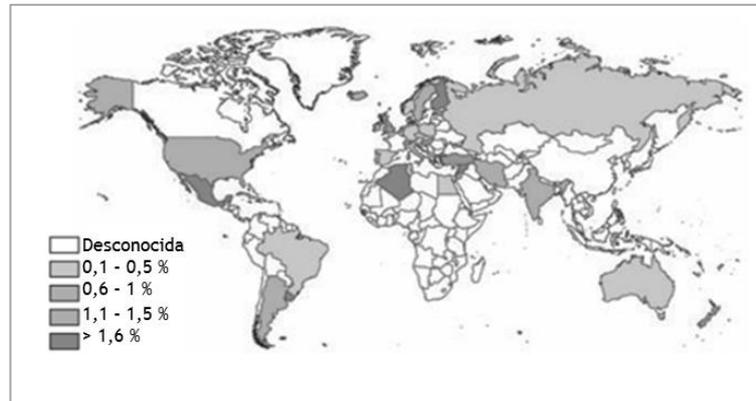


Figura 4 Prevalencia mundial de la EC. (Adaptado a partir de Abadie et al. 2011).

Un estudio más reciente estableció que a nivel mundial la prevalencia es de un 1 % (Lionetti y Catassi 2011), pero se han demostrado grandes variaciones entre los países (figura 4) (Mustalahti et al. 2010). Anteriormente se sostenía que la prevalencia en América era baja, lo cual no resultaba concordante con el hecho de que los pobladores de países como Argentina, Chile, Canadá y Uruguay comparten ancestros de países europeos donde la EC es frecuente. Datos actuales demuestran que la EC también puede estar presente entre individuos con ancestros indo-americano ya que poseen una base genética (HLA-DQ2) similar, como se observó en Brasil, Chile y Argentina (Pérez-Bravo et al. 1999, Silva et al. 2000, Herrera et al. 1994). En América Latina, Brasil posee una prevalencia de la EC que va desde 1:681 en Brasilia hasta 1:273 en San Pablo (Gandolfi et al. 2000) y Méjico de 1:200 (Mendez-Sanchez et al. 2006).

En Argentina se han realizado varios estudios que permiten describir el estado de la EC en el país. Gomez et al. (2001) reportaron una prevalencia del 0,6 % (1:167) en una población adulta joven, mediante un estudio que se realizó durante el período 1998-2000 en exámenes prematrimoniales. Durante el periodo 2010-2011 se llevó a cabo un estudio sobre 175 niños y se observó una prevalencia del 1,7 % (Maidana et al. 2014). López et al. (2013) realizaron un estudio durante el año 2013 sobre una población de 1755 individuos (niños y adultos), e informaron una prevalencia del 8,38 %. Mora et al. (2009) realizaron el primer estudio multicéntrico poblacional de prevalencia de la EC en pacientes pediátricos en Argentina. La prevalencia hallada fue de 1,26 % (1:79) para casos diagnosticados por histopatología compatible y de 1,61 % (1:61) para diagnósticos por serología. Se encontró una prevalencia significativamente mayor del sexo femenino sobre el masculino. Por otro lado, este estudio permitió evaluar la existencia de diferencias regionales dentro del país (figura 5). El estudio fue representativo de las regiones más densamente pobladas del centro y norte del país. Salta y Córdoba fueron las regiones con mayor prevalencia, seguidas del Conurbano Bonaerense y Santa Fe.

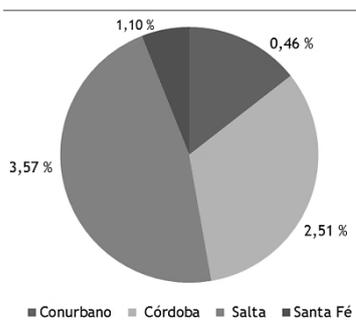


Figura 5 Prevalencia en Argentina de la EC. (Adaptado a partir de Mora et al. 2009).

Función estructural de la red de gluten

Las proteínas que forman parte de la composición de los granos de trigo se pueden dividir en dos grupos, las proteínas capaces de formar el gluten y aquellas que no lo forman. Las primeras son proteínas de almacenamiento y representan aproximadamente el 75-80 % del total de las proteínas. Por otro lado, las proteínas que no son capaces de formar gluten representan entre un 20-25 % del contenido

total de las proteínas, y la mayoría posee actividad enzimática (Pomeranz 1988). Las proteínas de trigo se clasifican según su solubilidad en cuatro fracciones: albúminas, proteínas solubles en agua; globulinas, solubles en soluciones salinas diluidas; gliadinas, solubles en alcohol; y gluteninas, solubles en soluciones ácidas o básicas diluidas (Osborne 1907). Chen y Bushuk (1970) revelaron que sólo una parte de las gluteninas son solubles en ácido acético diluido, y así diferenciaron dos fracciones proteicas: una soluble y una insoluble. Posteriormente, Orth y Bushuk (1972) encontraron una correlación positiva entre la cantidad de gluteninas insolubles en ácido acético y el volumen de pan, por lo que ésta fracción se transformó en la clave para explicar diferencias en la fuerza de la masa y en la calidad panadera (Khan y Bushuk 1979). El uso de detergentes (Graveland et al. 1980) y solventes orgánicos permitió una mejor separación, a partir de lo cual se concluyó que la insolubilidad de las proteínas estaba determinada por el tamaño y el alto grado de polimerización de los agregados proteicos.

Inicialmente, Finney y Barmore (1948) observaron una correlación positiva entre el contenido de proteínas de la harina de trigo y el volumen de pan. Sin embargo, posteriormente se observó que el volumen de pan dependía mayormente de la calidad de las proteínas de la harina más que de la cantidad propiamente. Por lo tanto, la calidad proteica se refiere no sólo al tipo de proteínas identificadas según Osborne, sino también a la influencia de cada fracción en la funcionalidad de la masa, y consecuentemente, en las características de la red de gluten y la calidad del pan. En base a estos hechos, comúnmente se clasifica a las proteínas de la harina de trigo en proteínas que no forman gluten y proteínas formadoras de gluten

Las **proteínas no formadoras de gluten** son solubles en soluciones salinas diluidas y por lo tanto corresponden a las albúminas y globulinas del fraccionamiento de Osborne. Son proteínas monoméricas, metabólicamente activas o estructurales que se ubican en las capas más externas del grano de trigo. Su función en la panificación no está clara aún (Veraverbeke y Delcour 2002).

Las **proteínas formadoras de gluten** son denominadas también proteínas de almacenamiento (Kasarda et al. 1976), constituyen la mayor parte del total de las proteínas del trigo y sirven como fuente de aminoácidos durante la germinación de la semilla (Larroque et al. 2000). Se encuentran en el endospermo del grano de trigo maduro donde forman una matriz continua alrededor de los gránulos de almidón. Las proteínas del gluten son insolubles en agua o en soluciones salinas diluidas y pueden ser divididas en dos grupos de acuerdo a su funcionalidad: las gliadinas monoméricas y las gluteninas poliméricas (extraíbles o no extraíbles). La composición de aminoácidos de las gliadinas y de las gluteninas es similar, se caracterizan por tener altas concentraciones de glutamina (un tercio o más del residuo total de aminoácidos) y de prolina (una séptima parte o más del residuo total de aminoácidos). Las gliadinas constituyen un tercio de las proteínas de la harina y son clasificadas en α -, β -, γ - y ω -gliadinas (Shewry et al. 1986). Estas proteínas poseen una masa molecular entre 30000-80000 y están formadas por un dominio no repetitivo rico en estructura secundaria α -hélice y por un dominio repetitivo heterogéneo rico en estructura β -turn (Tatham y Shewry 1985). Las α - y γ -gliadinas son ricas en residuos de prolina y glutamina, y un dominio C-terminal no repetitivo que posee residuos de cisteínas (Shewry y Tatham 1990). Las γ -gliadinas poseen ocho residuos de cisteínas que se encuentran localizados en el dominio C-terminal y forman cuatro enlaces disulfuro intramoleculares, por lo que no son capaces de formar nuevos enlaces covalentes con otras proteínas del gluten. Las ω -gliadinas no contienen residuos de cisteína, por lo que están limitadas para formar interacciones covalentes (Tatham 1995). Las α -gliadinas poseen seis residuos de cisteínas ubicados de igual forma que en las γ -gliadinas y forman tres enlaces disulfuro intramolecularmente. Estos enlaces disulfuro

son importantes para retener el plegado de la estructura de las gliadinas que determina la naturaleza de las interacciones no covalentes con la red de gluteninas (Wrigley et al. 1998). Algunos investigadores proponen que las gliadinas son las responsables de la cohesividad de las masas (Hoseney 1994), aunque otros sugieren que controlan el potencial de volumen de pan (Khatkar et al. 2002).

Las gluteninas se encuentran formando agregados proteicos unidos por puentes disulfuro y fuerzas no covalentes intermoleculares. Su masa molecular varía desde 50000 a más de 10 millones (Wieser, 2006). Luego de la reducción de los puentes disulfuro las subunidades de gluteninas resultantes pueden ser divididas en dos tipos: las subunidades de alta masa molecular (HMW-GS, por sus siglas en inglés) y las subunidades de baja masa molecular (LMW-GS, por sus siglas en inglés) (Shewry et al. 1992). Las HMW-GS con masas moleculares entre 95000-136000, y las LMW-GS con masas moleculares entre 42000-51000 y 31500-35500 (Payne y Corfield 1979). Las subunidades de gluten de baja masa molecular (LMW-GS) son un grupo complejo de proteínas que poseen la habilidad de formar enlaces disulfuro que permiten su incorporación dentro de los polímeros de gluteninas. La mayoría de las LMW-GS contienen entre siete y ocho residuos de cisteínas (Wieser 2003, Grosch y Wieser 1999), seis residuos están en una posición homologa a las gliadinas, y por lo tanto tienden a formar puentes disulfuro intramoleculares. Los residuos de cisteínas adicionales no son capaces de formar puentes disulfuro intramoleculares, probablemente por impedimento estérico, por lo que forman puentes disulfuro intermoleculares formando agregados proteicos entre ellas y con las HMW-GS (Pogna et al. 1994). Aunque HMW-GS son el grupo principal de proteínas del gluten que determinan las características panaderas de la masa, las LMW-GS también cumplen un rol importante. En general, las LMW-GS se relacionan con la resistencia y la extensibilidad de la masa (Cornish et al. 2001, Andrews et al. 1994, Metakovskii et al. 1990) e incluso algunas formas alélicas causan mayores efectos sobre las propiedades de la masa que las HMW-GS (Gupta et al. 1994, 1989, Payne et al. 1987).

Las subunidades de gluteninas de alta masa molecular (HMW-GS) presentan fuertes similitudes estructurales entre ellas, pero también diferencias características. Una de las diferencias es el comportamiento en la polimerización y se relaciona con el número de grupos sulfhidrilo. En base a esta diferenciación, HMW-GS son clasificadas en dos subgrupos: subunidades tipo-x y tipo-y. El dominio N-terminal de las subunidades tipo-x contienen cuatro residuos de cisteínas y el dominio N-terminal de las subunidades tipo-y contienen cinco residuos de cisteínas (Tatham 1995). Los estudios muestran a las subunidades de gluteninas de alto peso molecular, como moléculas alargadas que poseen una estructura β -espiral en la región central repetitiva (figura 6). Mientras que los dominios N- y C-terminal poseen una estructura similar a las proteínas globulares, presentado α -hélices y estructura desordenada. En los dominios terminales se encuentran la mayoría de los residuos de cisteínas que proveen los sitios para la formación de puentes disulfuro intermoleculares.

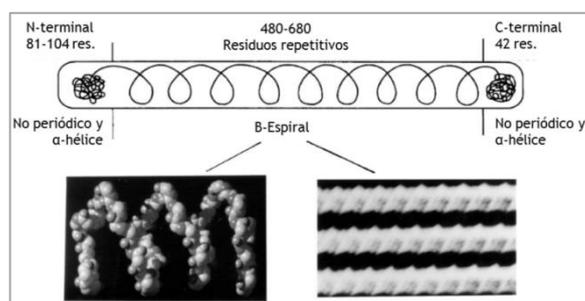


Figura 6 Modelo estructural de una subunidad de glutenina de alto peso molecular. (Adaptado a partir de Shewry et al. 2001).

Parte de las gluteninas poliméricas pueden ser separadas como un gel, el cual se denomina macropolímero de gluteninas (GMP). El GMP está compuesto de agregados proteicos de gran tamaño formados por gluteninas de alto y bajo peso molecular (HMW-GS y LMW-GS) (Don et al. 2003). Weegels et al. (1997, 1996) analizaron esta fracción en detalle, y presentaron firme evidencia de una alta correlación positiva entre la cantidad de GMP de la harina y el volumen de pan.

El gluten es una red tridimensional de proteínas entrecruzadas, con una estructura continua y compacta, la cual se mantiene mediante interacciones covalentes, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. Las proteínas que integran esta red se encuentran localizadas en el endospermo de la harina en forma de cuerpos proteicos. Para que la red de gluten pueda consolidarse es necesario que estos cuerpos proteicos se hinchen e hidraten debilitando así las uniones que los mantienen inicialmente adheridos (Vernière y Feillet 1999).

Estructuralmente la red de gluten contiene subunidades de glutenina de alta masa molecular presentes en forma de polímeros. La importancia de tales polímeros en la viscoelasticidad del gluten ha sido evaluada durante muchos años, aunque su tamaño, complejidad y baja solubilidad limitan su estudio. La importancia de los puentes disulfuro en estabilizar estos polímeros ha sido extensamente demostrada. Hay evidencia de la formación de estos enlaces intermoleculares entre HMW-gluteninas, y de estas con LMW-GS (Kasarda 1999, Shewry y Thatham 1997). Los enlaces disulfuro son entonces considerados esenciales para la viscoelasticidad del gluten. La composición de aminoácidos de las proteínas del gluten muestra que aproximadamente la mitad de los constituyentes son glutamina y prolina, por lo que se supone que hay gran cantidad de puentes de hidrógeno en el sistema. Otro aporte importante son las interacciones hidrofóbicas, ya que aproximadamente el 35 % de los aminoácidos poseen cadenas laterales de naturaleza hidrofóbica (Hoseney 1994). Las gliadinas, contribuyen a la viscosidad del gluten, interactúan principalmente con los polímeros de gluteninas mediante interacciones no covalentes, y las gluteninas, además participan con una gran cantidad de interacciones del tipo puente de hidrógeno (figura 7). Todas las interacciones que se establecen en este complejo sistema son muy importantes ya que contribuyen a la viscoelasticidad de la masa (Belton 1999, Jeffrey y Saenger 1994, Ewart 1989).

Una vez formada, la red de gluten de naturaleza viscoelástica, tiene un rol principal en el desarrollo de la estructura de productos panificados fermentados. En el caso del pan las características de la red de gluten influyen en los distintos estadios de producción. La formación de la masa comienza con el mezclado de los ingredientes y posterior amasado para distribuir el agua entre los polímeros presentes en el sistema de manera tal de lograr su hidratación. Cuando la masa es desarrollada bajo condiciones óptimas, las proteínas insolubles en agua de la harina forman una red viscoelástica que posee la capacidad de retener aire y contener a los gránulos de almidón y otros ingredientes, como el salvado (figura 8.a). El óptimo desarrollo de la red de gluten durante el amasado es vital para la formación de la estructura de la miga.

Las enzimas naturalmente presentes en la harina hidrolizan los gránulos de almidón disponible o dañado y generan azúcares. Las levaduras incorporadas en la formulación fermentan los azúcares y generan gases, siendo los principales productos de la fermentación el CO₂ y el alcohol etílico. Ambas sustancias se disuelven en la fase acuosa de la masa por lo que su pH disminuye. Cuando esta fase se encuentra saturada de dióxido de carbono, se produce su liberación hacia las celdas de gas creadas durante el proceso de amasado y, consecuentemente, su expansión y el aumento de volumen de la pieza (figura 8.b). En la etapa de la cocción, a medida que la temperatura de la pieza de masa aumenta, hasta temperaturas menores a 100 °C en

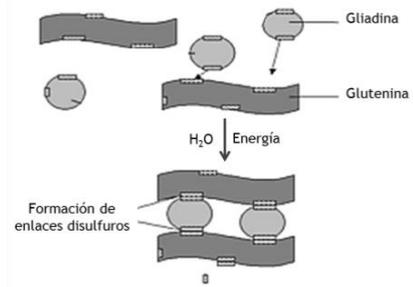


Figura 7 Formación de la estructura de la red de gluten.

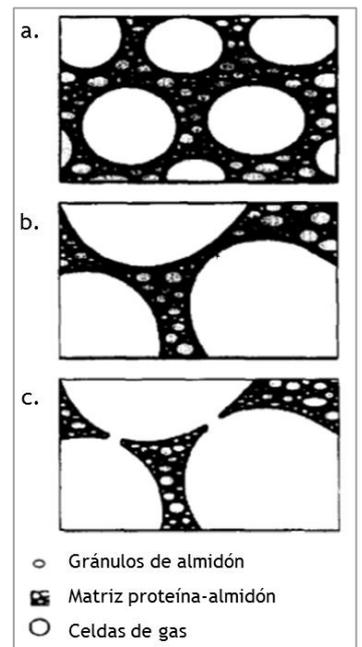


Figura 8 Transformación estructural de la masa durante el proceso de elaboración de pan. **a.** Final del amasado. **b.** Final de la fermentación. **c.** Final del horneado. (Adaptado a partir de Gan et al. 1995).

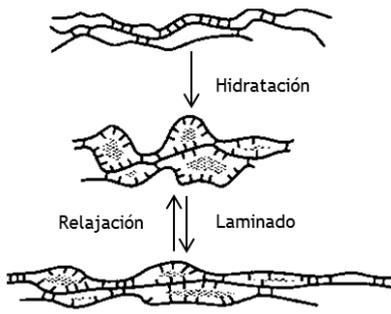


Figura 9 Efecto del proceso de producción en masas hojaldradas

el interior, y a temperaturas superiores en la superficie; la masa se expande hasta un 50 % en la primer etapa del horneado debido a un aumento en la producción de dióxido de carbono (hasta que las células de levaduras son inactivadas) y un aumento en la vaporización de otras sustancias como etanol y mezclas de etanol-agua. A medida que la matriz interna se cocina, la estructura de la masa cambia a una estructura tipo esponja con celdas de gas interconectadas (figura 8.c). La viscosidad incrementa rápidamente por arriba de 60 °C debido a la gelatinización del almidón y la desnaturalización de las proteínas del gluten, produciéndose así la fijación de la estructura. En las etapas posteriores del horneado se producen las reacciones de oscurecimiento de la corteza (Hoseney 1994).

En el caso de **productos hojaldrados**, la red de gluten juega un rol fundamental a la hora de otorgar ciertas características reológicas a la masa, las cuales determinan su capacidad para formar capas y permanecer separadas de las capas de grasa para luego del horneado obtener un producto con una estructura de láminas discretas. La bibliografía reporta la existencia de diferentes variantes en la formulación de este tipo de productos que determinan sus características. Por ejemplo los productos elaborados a partir de masas danesas (*Danish pastry*) incluyen en su formulación ingredientes como materia grasa (15-20 %), azúcar (18 %), huevos (18 %), sal (1,5-2,5 %), leche (6 %), levadura (7-10 %), agua (60 %) y materia grasa para realizar el hojaldrado (20-30 %). Por otro lado, los panificados tipo *puff pastry* no incluyen en su formulación levadura y azúcar, utilizan una mayor cantidad de sal (10 %) y requieren cantidades similares de margarina o manteca, huevos y agua (Matzs 1999).

La **formación de la masa** inicia con el mezclado de los ingredientes y posterior amasado para lograr la hidratación de los polímeros presentes en el sistema. A diferencia de la producción de pan, en la elaboración de hojaldrados el tiempo de mezclado de los ingredientes y amasado de la masa es menor. Esto se debe a que se espera que el mayor desarrollo de la red de gluten ocurra durante las subsecuentes etapas de laminado de la masa (Cauvain y Young 2006). Una vez que se ha formado la masa se incorpora la grasa en forma de capas y se procede a aplicar alguna de las metodologías de **cierre**. Los métodos Scotch (Harte 2003), Blitz, Francés (Bent 1997) e Inglés (McGill 1975) son comúnmente empleados para masas tipo *puff pastry* y danesas. Actualmente también se utilizan variantes de estas técnicas.

Luego se lleva a cabo el proceso de **laminado** mediante una laminadora o sobadora. Este paso tiene como objetivo reducir el espesor de la pasta antes de realizar más pliegues para aumentar el número de láminas. Inicialmente se busca aumentar el número de láminas. Sin embargo, luego de alcanzar un valor máximo, la cantidad de capas disminuye a pesar de seguir realizando los pasos de laminación. La pérdida de altura del producto con el aumento de la laminación se produce debido a la ruptura de la integridad de las capas de masa y grasa al permitir el escape de vapor durante el horneado. Durante el proceso de laminado, la estructura de la red de gluten tiende a acomodarse de manera alineada en dirección de la laminación (figura 9). Si esto por diversas razones no tiene lugar, la pieza de masa experimenta un encogimiento a 90 ° de la dirección del último paso de laminado. Para evitar este efecto se alternan tiempos de descanso y se reorienta la masa a 90 ° entre los pasos de laminado. En los productos en los cuales se requiere la formación de la estructura de la red de gluten, la relajación que tiene lugar durante los periodos de descanso resulta beneficiosa para la calidad tecnológica del producto final. Las muestras de harina con altos contenidos de proteínas forman redes de gluten con propiedades elásticas que contribuyen al encogimiento de la masa después del laminado. Una de las formas de evitar esta situación es permitiendo el descanso de la masa entre los pasos de reducción del espesor. En general cuanto más tenaz es la masa mayor es la necesidad del sistema de experimentar un tiempo de descanso y la longitud del mismo. En el caso de masas

cortas y masas de algunos tipos de bizcochos son necesarios tiempos cortos de relajación antes del corte de las piezas. Por otro lado, hay que considerar el efecto de la laminación sobre el sistema completo de capas de masa y grasa. La presión que se ejerce causa una mayor extensión de uno de los componentes en relación al otro, a menos que las características reológicas de la masa y la materia grasa sean idénticas, lo cual es muy difícil de conseguir. Durante el laminado se produce la reducción del tamaño de las celdas de gas y la formación de varios núcleos para la evolución del vapor generado por la subdivisión de los espacios en donde se encuentra el aire entrampado. Este proceso promueve la textura final del producto. La bibliografía reporta que el producto panificado debe presentar capas de cierto espesor, por ejemplo en el caso de productos tipo *puff pastry* el espesor debe ser aproximadamente de 0,25 mm. Para obtener capas de masa con un determinado espesor y la expresión de las láminas en la pieza de masa final antes de ingresar al horno se deben mantener ciertas condiciones de procesamiento. La red de gluten debe estar desarrollada hasta el punto tal que se extienda adecuadamente durante los pasos de reducción. Por lo tanto, se debe considerar el hecho de que durante la laminación la red continúa formándose y entonces resulta necesario detener en una etapa temprana el desarrollo que tiene lugar durante el amasado. Por otro lado, la materia grasa empleada en el hojaldrado debe ser gradualmente extendida a lo largo de la masa para no alterar la forma de la pieza (Matz 1999).

Durante la **cocción** tiene lugar el crecimiento de la pieza de masa. En este tipo de productos se espera que el crecimiento en dirección vertical sea mayor al que ocurre en dirección horizontal de manera tal de obtener un producto final de gran altura. El grado de expansión de la masa se relaciona con sus propiedades reológicas, las cuales dependen del grado de hidratación y desarrollo de la red de gluten. Debido a la necesidad que presenta la estructura laminada de expandirse, la red de gluten debe presentar un grado de extensibilidad particular. Si la masa es demasiado viscosa o demasiado elástica, la expansión del sistema se ve restringida (Cauvain y Young 2006). El equilibrio entre las propiedades reológicas de la masa resulta crucial para lograr la expansión deseada.

Las diferencias en la formulación de los panificados hojaldrados promueven mecanismos diferentes de crecimiento del sistema laminado durante el horneado. En masas laminadas sin levadura el crecimiento vertical del sistema se debe al vapor de agua generado cuando, durante el horneado, el agua contenida en las capas de masa se evapora y es atrapada en las capas de grasa en fusión; además de la presión del aire (figura 10). En el caso de las masas danesas, la presencia de la levadura afecta la estructura de las láminas de masa ya que la masa se presenta más blanda y porosa (Cauvain y Young 2001).

Como resultado del proceso de producción, en el caso de masas sin levadura se obtiene un producto de estructura abierta y crujiente y de capas escamosas. Mientras que las masas con levadura y altos contenidos de azúcar generan productos con una estructura interna laminada pero con gran cantidad de poros y de textura suave.

Alimentos libres de gluten

Actualmente el cumplimiento estricto de una dieta sin gluten (DSG) es el único tratamiento que conduce, en pocos meses, a la recuperación rápida y completa de la arquitectura normal (figura 11) y la función de la mucosa del intestino delgado, así como a la remisión de los síntomas y a la normalización de las pruebas serológicas (Cosnes et al. 2008, Zarkadas et al. 2023). Las restricciones de la DSG tienen una gran influencia en el estilo de vida de los pacientes celíacos ya que interfieren fuertemente en las actividades cotidianas y la vida social. Algunos autores han establecido las áreas

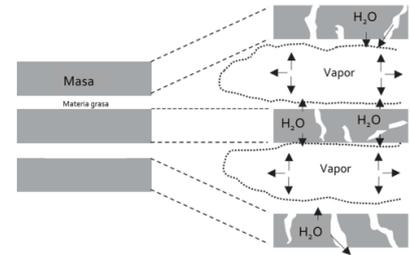


Figura 10 Mecanismo de expansión vertical de masa laminada sin levadura. (Adaptado a partir de Cauvain y Young 2001).

que se ven afectadas por el mantenimiento de la DSG. Entre ellas se pueden mencionar el área emocional y de relaciones interpersonales y las actividades de la vida diaria de los pacientes celíacos en diferentes ámbitos, como el trabajo, durante las compras, en los viajes y las comidas que se realizan afuera y dentro del hogar (Lee y Newman 2005, Sverker et al. 2005).

La necesidad de las personas con la EC de disponer de alimentos aptos para el consumo, seguros, ricos y baratos fue reportada por Cueto-Rúa et al. (2013). Por otro lado, hay otro sector de la población que sin poseer restricciones medicas sobre el consumo de alimentos con gluten se somete a una DSG como parte de un plan de dieta saludable. Esta tendencia a nivel doméstico ha alcanzado al 15 % de los consumidores en Estados Unidos de América. Por lo que se proyecta que el mercado de productos libres de gluten (LG) crezca un 10,2 % anual hasta el año 2018 (Markets and Markets 2015). Esta situación y el incremento del número de enfermos celíacos diagnosticados plantean un desafío para la industria alimenticia y la comunidad científica. Encontrar la combinación de materias primas y procesos de producción que permitan obtener alimentos LG con la misma calidad tecnológica y nutricional que los productos con gluten resulta prioritario para atender a la demanda de los consumidores de este tipo de alimentos.

El *Codex Alimentarius* define a los alimentos LG como aquellos que están constituidos o elaborados únicamente con uno o más ingredientes que no contienen trigo (es decir, ninguna de las especies de *Triticum*, como el trigo duro, la espelta y el kamut), centeno, cebada, avena o sus variedades híbridas, y cuyo contenido de gluten no sobrepase los 20 mg/kg en total, medido en los alimentos tal como se venden o distribuyen al consumidor; o alimentos que estén constituidos por estos ingredientes, pero que hayan sido procesados de forma tal para eliminar el gluten, y donde el contenido de gluten no sobrepase los 20 mg/kg en total (*Codex Alimentarius* 2008).

En el caso de los productos elaborados con harina de trigo, la harina, por disposición de la Ley 25 630, se encuentra enriquecida con hierro, ácido fólico, niacina, tiamina y riboflavina. Mientras que los productos elaborados a partir de harinas LG por lo general no están fortificados. Por lo tanto, el *Codex Alimentarius* también establece que los productos LG que sustituyan a alimentos básicos importantes deberían suministrar aproximadamente la misma cantidad de vitaminas y minerales que los alimentos originales a los que sustituyen.

Los productos alimenticios que más se ven afectados cuando deben ser elaborados con ingredientes LG son los panificados que necesitan desarrollar la red de gluten para exhibir buenas características tecnológicas y sensoriales. Entre ellos se puede mencionar a los productos leudados en general, como el pan, pizzas, facturas, hojaldres y galletas tipo María.

Estructura de productos panificados libres de gluten

La harina de trigo es la única matriz que puede formar una red de gluten responsable de muchas de las características de los productos panificados, como la naturaleza viscosa y elástica necesaria para el procesamiento de la masa. La obtención de panificados LG de las mismas características que los productos con harina de trigo es un desafío y requiere realizar una mezcla de almidones, hidrocoloides, fibras e ingredientes lácteos para que, en conjunto, otorguen la funcionalidad necesaria. Estas materias primas tienen una mayor capacidad de absorción de agua en relación a la harina de trigo, por lo que el contenido de agua de las masas LG es generalmente alto. Esto significa que la tecnología y la metodología empleadas a la hora de obtener productos LG son distintas que las utilizadas en el proceso de panificación convencional. Las amasadoras son, en general, reemplazadas por batidoras y se

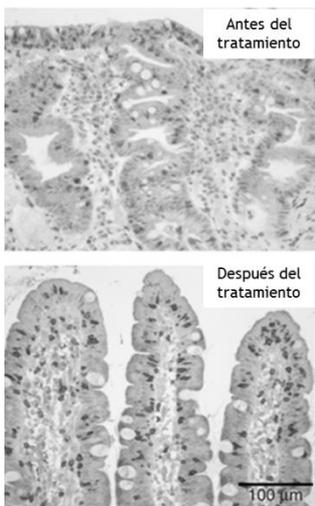


Figura 11 Secciones de mucosa del duodeno. **a.** Mucosa antes del tratamiento. **b.** Mucosa después del tratamiento con una DSG. (Adaptado a partir de Brottveit et al. 2013).

utilizan tiempos de fermentación más extensos que en las masas con harina de trigo. Luego las piezas son horneadas por tiempos relativamente más largos, debido a la presencia de altas proporciones de agua. Estructuralmente las masas elaboradas con almidones, harinas y aditivos LG son muy diferentes a la masa de harina de trigo; consecuentemente las características y la calidad tecnológica y sensorial de los panificados difieren en gran medida.

En el caso de productos como el pan se pueden encontrar en el mercado diversos panes LG; sin embargo, éstos suelen ser de una calidad pobre (figura 12). Arendt et al. (2002) encontraron que la mayoría de los productos LG son de calidad inferior al ser comparados con los mismos productos a base de trigo, además de presentar en general una estructura densa y seca, con un volumen bajo y una alta dureza de la miga (Gujral et al. 2003b). Recientemente, en numerosos estudios se han investigado las propiedades de harinas de distintos cereales sin gluten (Gujral et al. 2003b, Schober et al. 2005), derivados lácteos (Gallagher et al. 2003 a, b), proteínas, hidrocoloides (Moore et al. 2004, Lazaridou et al. 2007) y enzimas para mejorar el volumen, la textura de la miga y la calidad global y la aceptabilidad de los panes LG.

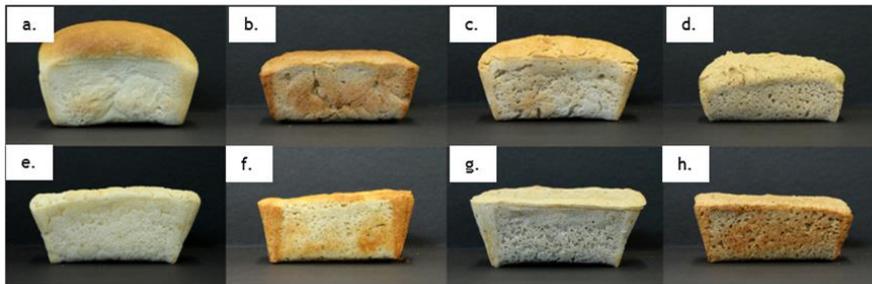


Figura 12 Apariencia de panes elaborados a partir de harinas de diferentes cereales y pseudo-cereales. a. Trigo. b. Centeno. c. Cebada. d. Avena. e. Arroz. f. Maíz. g. Trigo sarraceno. h. Sorgo. (Adaptado a partir de Koehler et al. 2014).

Harinas y almidones libres de gluten

Los componentes principales de las harinas LG empleadas en panificación son el almidón, las proteínas y los lípidos. En los cereales el almidón se acumula en forma de gránulos, los cuales se desarrollan en organelas de doble membrana llamadas amiloplastos. Un amiloplasto puede contener uno o varios gránulos de almidón, dependiendo de la especie de plantas o mutante genética. Cuando sólo un gránulo se produce en un amiloplasto, como lo es en el caso del endospermo de trigo, se denominan gránulos simples. Sin embargo, cuando dos o más gránulos se producen en un amiloplasto y estos forman las partes de un gránulo se denominan gránulos compuestos, y un ejemplo de este tipo es el arroz. Los gránulos en el caso de los compuestos están separados por una estrecha capa de estroma (Shannon et al. 2009).

El almidón es un biopolímero constituido esencialmente por dos fracciones poliméricas de glucosa, amilosa y amilopectina (Jobling 2004). La amilosa, que comprende alrededor del 20-30 % del almidón, es un polímero esencialmente lineal en el que los residuos de glucosa están unidos por enlaces α -(1-4), con escasos puntos de ramificación formados por enlaces α -(1-6) (Shibanuma et al. 1994). Las cadenas de amilosa pueden formar hélices simples o dobles (Takeda et al. 1989) y poseen un grado de polimerización (GP) entre 500-6000 unidades de glucosa (Shibanuma et al. 1994).

La amilopectina es una de las moléculas más grandes de la naturaleza con una masa molecular que varía desde $50-500 \times 10^6$, y a diferencia de la amilosa es un polímero altamente ramificado. Posee una cadena central formada por 3×10^5 a 3×10^6 unidades de glucosa unidas por enlaces α -(1-4), y ramificaciones formadas por glucosas unidas por enlaces α -(1-6) que aparecen cada 20-25 unidades (Manners 1989, Gilliard y Bowler 1987) (figura 13).

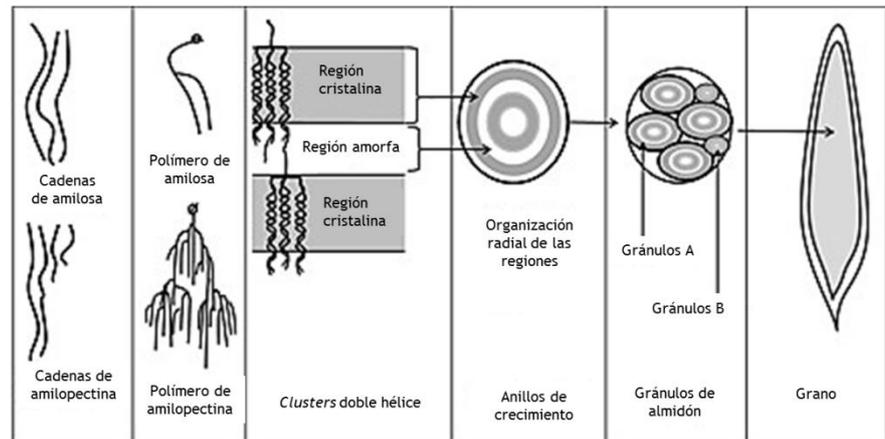


Figura 13 Representación de la estructura del almidón en un grano de cereal. (Adaptado a partir de Gous et al. 2015).

Las cadenas de amilopectina pueden clasificarse como cadenas externas no ramificadas (A) o cadenas internas ramificadas (B) (French 1984). La estructura de la amilopectina se representa comúnmente por un modelo de *cluster*, en el que las cadenas A de GP 12-16, que pueden formar doble hélices, están organizadas en *clusters* (Thompson 2000). Los *clusters* comprenden el 80-90 % de las cadenas y están unidos a las cadenas B (que conforman el restante 10-20 %) (Hizukuri 1986).

La amilosa y la amilopectina se encuentran formando gránulos que se caracterizan por ser semicristalinos e insolubles en agua (Copeland et al. 2009). Los gránulos contienen agua y pequeñas cantidades de lípidos y proteínas, y la proporción de estos componentes depende del origen botánico del almidón (Hoover 2001). Los gránulos de almidón nativos presentan una estructura semicristalina con un grado de cristalinidad de 20 a 40 % (Hizukuri 1986), la cual es atribuida principalmente a la estructura de la amilopectina. La organización de los gránulos de almidón es radial, de manera tal que se encuentra formado por anillos de crecimiento amorfos alternados con anillos de crecimiento semicristalinos con un espesor radial de 120-400 nm (Buléon et al. 1998). La amilosa y las regiones de ramificación de la amilopectina forman las regiones amorfas, mientras que, las capas semicristalinas están constituidas por cadenas externas lineales de amilopectina, las cuales conforman doble hélices cristalinas (Perry y Donald 2000, Jenkins et al. 1993).

Las propiedades que exhiben los almidones al ser calentados en presencia de agua y sometidos a fuerzas de cizalla, y luego enfriados guardan relación con su potencial uso en diferentes matrices alimenticias.

Las transformaciones que sufren los gránulos de almidón nativos bajo determinadas condiciones de temperatura y humedad se las conoce como gelatinización (Atwell et al. 1988). En función de las observaciones experimentales realizadas se han propuesto varios modelos para describir el proceso de gelatinización; sin embargo, a pesar de que en la actualidad existen diferentes enfoques, el primer modelo propuesto por Donovan (1979) ha sido y continúa siendo el más aceptado por la comunidad científica. El modelo formulado propone que el proceso de gelatinización se produce

en dos etapas, en donde inicialmente las regiones amorfas de los gránulos comienzan a absorber agua e hincharse, para finalmente producir la disrupción de la organización radial cristalina. Según este modelo, la hidratación de las regiones amorfas facilita la movilidad molecular y produce tensiones de ruptura que son transmitidas a través de las moléculas desde las regiones amorfas hasta las cristalinas, lo que provoca la disociación de las dobles hélices de las cadenas de amilopectina y la ruptura irreversible de la estructura cristalina (Tester y Debon 2000).

La gelatinización es un proceso que depende de la cantidad de agua disponible, siendo necesario un nivel mínimo para que se produzca este fenómeno. En condiciones limitantes de agua (menores a ~60 % p/p de agua para mezclas almidón/agua) el proceso de gelatinización requiere de mayor temperatura que en condiciones de exceso de agua, ya que la energía se utiliza para fundir a las regiones cristalinas que no alcanzaron a ser desorganizadas por efecto de la hidratación de las regiones amorfas (Biliaderis et al. 1980, Donovan 1979). Paralelamente a la absorción de agua y al hinchamiento de los gránulos que ocurre durante el calentamiento en presencia de un exceso de agua, las moléculas de amilosa comienzan a migrar hacia la solución. Como consecuencia de estos procesos, la viscosidad incrementa hasta alcanzar un valor máximo, en donde el número de gránulos hinchados e intactos es el mayor que puede alcanzarse bajo las condiciones de trabajo (Hoseney et al. 1986). Si el proceso de calentamiento continúa, se produce una reducción de la viscosidad, debido a que los gránulos tienden a romperse parcial o totalmente y las moléculas de almidón se dispersan en la fase acuosa.

Luego de que el fenómeno de gelatinización tiene lugar y los gránulos de almidón pierden completamente su estructura cristalina, el almidón mantiene aún una estructura granular diferente a la nativa. Esta estructura granular remanente sin orden de los polisacáridos se conoce como gránulos fantasma. Estos son la porción no solubilizada de gránulos gelatinizados, los cuales retienen su carácter particulado después de la pérdida del contenido granular y poseen características microscópicas dependiendo del origen botánico y genético del almidón, sin embargo, no presentan la organización estructural de los polímeros propia de los gránulos nativos (Obanni y BeMiller 1996a, b; Prentice et al. 1992, Stark et al. 1983). La dispersión de los fragmentos granulares de almidón y las moléculas dispersas derivan en una suspensión viscosa de almidón, conocida como pasta de almidón. Las propiedades de las pastas dependen de numerosos factores, como el volumen y la rigidez de los gránulos, las propiedades reológicas de la fase continua (formada principalmente por las moléculas de amilosa liberadas del gránulo) y las interacciones entre esta fase y la fase dispersa).

Cuando una suspensión de almidón gelatinizada es enfriada, la viscosidad del sistema incrementa debido a las interacciones intermoleculares entre amilosa y amilopectina, aunque también entre gránulos y amilosa y entre gránulos. Este proceso que va desde el estado soluble o disperso a otro insoluble, no hinchado y microcristalino se conoce como retrogradación (Waigh et al. 2000, BeMiller y Whistler 1996, Biliaderis et al. 1986). Cuando la concentración de almidón es aproximadamente del 6 % se forma un gel, que consiste en gránulos gelatinizados enriquecidos en amilopectina (gránulos fantasmas) alojados en una matriz continua de amilosa (Goesaert et al. 2005).

Durante el proceso de gelificación, inicialmente se establecen puntos de unión entre las moléculas de amilosa (solubilizadas durante la gelatinización) y se desarrolla una red continua. Luego de algunas horas, las dobles hélices forman una estructura semi cristalina muy estable. La recristalización de las cadenas laterales cortas de amilopectina es un proceso mucho más lento (varios días o semanas) y ocurre en los gránulos gelatinizados (Miles et al. 1985). La retrogradación del almidón es influenciada por diferentes condiciones y componentes, como el pH y el contenido

acuoso, así como también, por la presencia de lípidos, proteínas, azúcares y ácidos (Eliasson y Gudmundsson 1996). La retrogradación de amilosa en alimentos procesados es considerada importante debido a su influencia sobre propiedades relacionadas con la adhesividad, la capacidad de absorber agua y la digestibilidad, mientras que, la retrogradación de amilopectina es un proceso más importante en el envejecimiento de productos ricos en almidón, como los panificados (Copeland et al. 2009).

Las proteínas de los cereales se han clasificado en cuatro grupos de acuerdo a su solubilidad. Las albúminas y globulinas están concentrados en las células de la aleurona, en el germen y el salvado, mientras que su concentración es relativamente baja en el endosperma. Las prolaminas y glutelinas son las proteínas de reserva de los cereales. Se encuentran limitadas al endosperma, y su presencia es casi nula en el pericarpio o el germen. Nutricionalmente, las prolaminas son pobres en lisina, metionina y triptófano; mientras que las glutelinas presentan mayor variabilidad en la composición aminoacídica.

En los últimos años, se han publicado numerosos estudios que muestran los resultados de la utilización de diferentes harinas y almidones LG, entre ellos se han estudiado la harina de arroz, ya sea refinada o integral; la harina y/o almidón de maíz, las harinas de sorgo y mijo, el almidón de papa, la harina de granos andinos y legumbres.

La **harina de arroz** se obtiene por molienda del grano, el cual puede ser corto, medio o largo, según la variedad; y céreo (pegajoso o glutinoso) o no céreo. El proceso de molienda incluye el descascarillado, la eliminación del salvado y finalmente la separación de los granos partidos y dañados (Rosell y Gómez 2006). Seguidamente los granos partidos son separados y molidos hasta obtener harina mediante tres métodos diferentes (Yeh 2004). La molienda húmeda consiste en remojar los granos en agua y tras el escurrido moler los granos en presencia de agua para reducir la cantidad de almidón dañado. Este procedimiento permite obtener almidones nativos y modificados, dextrinas y una amplia gama de derivados de éstos. La molienda semi seca también incluye el remojo, escurrido y molienda, pero en este caso en ausencia de agua. Las aplicaciones del producto resultante son similares a las del obtenido por molienda húmeda. La molienda seca consiste en la trituración y reducción de tamaño de los granos partidos. Esta harina se usa para alimentos infantiles, productos extrudidos y diversos productos de panificación. Las harinas de arroz tienen la misma composición química que los granos de donde proceden. Sin embargo, ésta es dependiente del origen botánico del grano y de si la harina proviene del grano descascarillado y pulido o no. Por tanto las propiedades funcionales de las harinas de arroz dependen de la variedad, condiciones medioambientales y métodos de molienda. Sin embargo, como el resto de los cereales, el arroz es rico en hidratos de carbono complejos, es fuente de proteínas y minerales, y no contiene colesterol. Los hidratos de carbono son los constituyentes más abundantes en el arroz, con un contenido aproximado de almidón del 80 % (14 % humedad).

Los gránulos de almidón de arroz poseen una forma poliédrica, se encuentran entre los gránulos con menor tamaño (3-8 mm) y presentan gran resistencia a procesos con altas temperaturas. En general, las variedades de grano largo tienen mayor contenido de amilosa y temperatura de gelatinización, además de mayor tendencia a retrogradar o recristalizar que las variedades de grano corto o medio. Por el contrario, harinas provenientes de arroces cerosos que contienen poca amilosa (menos de 0,56 %) gelatinizan a temperaturas más bajas y presentan menor retrogradación, y por eso son resistentes a la sinéresis durante el almacenamiento y la congelación (Juliano 1984). Si se utilizan harinas procedentes de variedades con diferente contenido de amilosa (bajo, medio y alto amilosa) se podría ampliar el espectro de uso de estas

harinas, proporcionando así alternativas a la industria de alimentos y especialmente a la de nuevos productos. Por otro lado, el método de molienda y el tipo de molino utilizado determinará el tamaño de partícula de la harina de arroz y también la cantidad de almidón dañado (Nishita y Bean 1982)

La proteína es el segundo constituyente más abundante en el arroz, con valores situados entre 6,3-7,9 % (g de N x 5,95). El arroz es uno de los cereales más pobres en proteínas (algunas variedades mejoradas pueden sin embargo, contener 14 g en 100 g). La extracción de Osborne muestra que las proteínas del endosperma del arroz están constituidas por aproximadamente 3,8-8,8 % de albúminas, 9,6-10,8 % de globulinas, 2,6-3,3 % de prolaminas y 66-78 % de glutelinas (que reciben el nombre de orizeninas) (Cagampang et al. 1966). La relación entre albúminas:globulinas:prolaminas:glutelinas es distinta al resto de los cereales, siendo mayoritarias las glutelinas en detrimento de las prolaminas (Hamaker 1994). Las albúminas de arroz poseen un amplio rango de peso molecular (Juliano 1972), aunque la fracción mayoritaria se encuentra entre 18-20 kDa (Houston y Mohammed 1970). Las globulinas consisten en α -, β - y δ - globulinas, con pesos moleculares de 25,5, 15, 200 kDa y más, respectivamente (Morita y Yoshida 1968). Las prolaminas están constituidas por subunidades peptídicas de peso molecular de 10, 13 y 16 kDa (Ogawa et al. 1987). El péptido de 13 kDa es fácilmente solubilizado en soluciones alcohólicas, mientras que los péptidos de 10 y 16 kDa, con mayor contenido de puentes disulfuro, requieren de un agente reductor para su solubilización en soluciones alcohólicas (Ogawa et al. 1987, Hibino et al. 1989). Las glutelinas nativas son extremadamente insolubles en agua (Juliano 1985, Hamada 1996). Además, son de alto peso molecular, y muy heterogéneas (Juliano 1985). Esta fracción es soluble en soluciones ácidas (pH por debajo de 3) o básicas (pH por encima de 10) (Shih 2004). Están compuestas por dos unidades polipeptídicas que reciben el nombre de α -glutelinas (ácidas) y β -glutelinas (básicas), con pesos moleculares de 30-39 y 19-25 kDa, respectivamente (Juliano 1985, Kagawa et al. 1988, Kishimoto et al. 1999, Shih 2004). Las glutelinas de arroz polimerizan mediante puentes disulfuro e interacciones hidrofóbicas para formar complejos macromoleculares de gran tamaño (Utsumi 1992). Esta formación de estructuras muy ordenadas explicaría la falta de funcionalidad de estas proteínas (Katsube-Tanaka et al. 2004).

Un aspecto importante de la inclusión de productos de arroz, como la harina, en la dieta alimentaria, es que el almidón de arroz presenta respuestas metabólicas de glicemia e insulinemia diferentes al resto de los cereales, debido a la distinta proporción de amilosa:amilopectina. Así los productos con mayor contenido de amilosa presentan una menor digestibilidad del almidón y, consecuentemente, menores respuestas glicémicas e insulinémicas. Las harinas de arroz, tanto crudas como pre-gelatinizadas, presentan un amplísimo margen de utilización en productos como pan, bizcochos y bizcochuelos. Sin embargo, la sustitución de la harina de trigo por harina de arroz para la elaboración de productos horneados hace necesario modificar los parámetros de los procesos de elaboración y el uso de agentes que ayuden al desarrollo de la masa. Varios autores demostraron que la variedad de arroz juega un papel importante en la calidad de los panes (de la Hera et al. 2013, Rodríguez y Baragaño-Mosqueda 1974). Bean et al. (1983) obtuvieron bizcochos de hojuela de harina de arroz. Los productos resultantes usando harina de arroz procedente de variedades de grano corto o medio, y por tanto de bajo contenido de amilosa, fueron de mejor calidad que los procedentes de grano largo, que fueron más secos y con una textura arenosa. La calidad de los bizcochuelos de arroz puede mejorarse añadiendo distintas proteínas como leche en polvo desnatada o proteínas de huevo (Mohamed y otros 1995, Mohamed y Hamid 1998). Las galletas tipo *cookies*, ricas en grasa y azúcar, también se han podido obtener sustituyendo harina de trigo por harina de arroz. Przybyla y Luh (1997) elaboraron galletas con harina de arroz, las cuales

mostraron una mejor extensión durante el horneado y obtuvieron una mejor aceptación sensorial.

El **almidón de mandioca** se obtiene del procesamiento de la planta de *Manihot esculenta*, herbácea anual tropical leñosa de la familia *Euphorbiaceae*, también llamada yuca, cassava, tapioca, cassada o mandioca. Es una planta tropical con un sistema fibroso de raíces que se desarrollan radialmente alrededor de la base de la planta como raíces tuberosas (Adetan et al. 2003). Los tubérculos son extraídos y sometidos a un proceso mediante el cual se obtiene el almidón. Existen diferentes metodologías, como las vías húmeda y seca (Alarcón y Dufour 1989, Cobana y Antezana 2007). Los componentes mayoritarios presentes en los tubérculos y por consiguiente en la harina de mandioca son los hidratos de carbono (35 %), seguidos de fibra cruda (5 %) y proteínas (1 %) (FAO 1998).

Los gránulos del almidón de mandioca no son uniformes en tamaño y forma, presentan una forma redonda con terminales truncados, un núcleo bien definido y su tamaño varía entre 4 y 35 μm con un promedio de 20 μm . Los patrones de difracción de rayos X de los gránulos de almidón nativo de mandioca son de tipo intermedio (tipo C), entre los patrones característicos de los almidones de los cereales (tipo A) y los almidones de frutas y tubérculos (tipo B). El nivel de cristalización en el almidón de mandioca es de alrededor de 38 %. La cristalinidad del gránulo se debe esencialmente a la amilopectina (Richard et al. 1991).

En general el almidón de los tubérculos y las raíces presenta un fuerte crecimiento de viscosidad durante el calentamiento, mucho mayor que el de los cereales. Los gránulos de almidón de mandioca, papa y maíz ceroso presentan picos de viscosidad más altos que los de maíz y trigo. Esto es debido a que los almidones de mandioca, papa y maíz ceroso tienen mayor capacidad de absorción de agua, mayor velocidad de hidratación y se desintegran más rápidamente. El almidón de mandioca gelatiniza a la misma temperatura que el almidón de maíz y que el almidón de maíz ceroso, a temperaturas relativamente bajas (62-73 $^{\circ}\text{C}$); el pico máximo es alcanzado rápidamente, lo que implica que es un almidón fácil de cocinar y requiere menor consumo de energía durante su cocción. Además, tiene una tendencia baja a la retrogradación y produce un gel de mayor claridad y estabilidad en comparación con el de otros almidones nativos (Whistler 1984). Su temperatura de gelatinización (63 $^{\circ}\text{C}$) es similar a la del almidón de papa, pero está por debajo de las temperaturas de gelatinización de los cereales (74-81 $^{\circ}\text{C}$). Aunque la viscosidad de la pasta es inicialmente alta, esta decae bruscamente con agitación continua por encima de 90 $^{\circ}\text{C}$ y con un subsecuente enfriamiento no hay formación de gel. Este comportamiento del almidón de mandioca lo hace tecnológicamente conveniente como sustrato para procesos hidrolíticos, pero inapropiado como sustituto de los almidones de cereales en tecnologías que requieren retrogradación. Las propiedades de claridad y baja retrogradación del almidón de mandioca pueden ser utilizadas en muchos productos alimenticios.

Existe un alto potencial para el uso comercial y lucrativo de los almidones y las harinas elaborados de raíces y tubérculos por lo que se han realizado numerosos estudios sobre las propiedades funcionales (Pérez et al. 1999) y el efecto de modificaciones físicas y químicas del almidón en la calidad de los productos elaborados. Pérez et al. (2007b, 2001) elaboraron harinas de mandioca con diferentes grados de gelatinización y dextrinizadas (hidrólisis enzimática) mediante el uso de diferentes tratamientos térmicos. También estudiaron el efecto de la adición de aditivos como el estearoil-2-lactil lactato de sodio y cloruro de sodio sobre sus propiedades. A las harinas obtenidas se le evaluaron sus características químicas, físicas y funcionales para sugerirlas como ingredientes opcionales en la manufactura de diferentes productos. Por otro lado, Abraham et al. (1984), Gerard et al. (1994), Rattanachon et al. (2004)

evaluaron el proceso de elaboración y optimización de la harina de mandioca. En cuanto a la elaboración de productos, Martínez (1997) sustituyó harina de trigo por almidón pre gelatinizado de mandioca en la elaboración, a escala piloto, de galletas de soda a niveles de 3 y 5 %. Andrade (2007) desarrolló una mezcla para pudín utilizando almidón de mandioca de variedades dulces del banco de germoplasmas de la Universidad Central de Venezuela. También se ha ensayado la posibilidad de la sustitución parcial de harinas de mandioca en la elaboración de pastas. En este sentido Pérez (2007a) elaboró pastas con harinas compuestas trigo-mandioca, con adición de jugo de remolacha. Se logró la sustitución hasta de un 20 % de la harina de trigo por la harina de mandioca, obteniéndose una pasta con buena respuesta a la prueba de cocción y de textura agradable, que fue aceptada por el panel evaluador. Además, el color de la pasta obtenida fue evaluado como más agradable al compararlo con pastas similares encontradas en el mercado. Cueto (2007) estudió la sustitución de harina de trigo por harina de mandioca en la formulación de bizcochuelo. Se observó que, incluso a altas proporciones de sustitución, el producto tuvo una buena aceptación por parte del panel evaluador.

La **harina de soja** se obtiene a partir de la torta residual en el proceso de extracción de aceite, la cual es sometida a un proceso de desolventización-tostado y posterior secado, enfriamiento, reducción del tamaño de partícula y tamizado. Existen distintos productos de harinas de soja, las denominadas harinas y sémolas (*grits*) con alto contenido de materia grasa (*full fat*) y harinas y sémolas (*grits*) desgrasadas. Las primeras contienen alrededor de 40 % de proteínas y se obtienen por molienda de cotiledones descascarados; las segundas poseen entre 52-54 % de proteínas y son preparados a partir del producto de la extracción con solventes de escamas (*flakes*) provenientes de granos de soja descascarados (Puppo et al. 2007).

En base a su solubilidad, las proteínas de soja, han sido clasificadas en albúminas solubles en agua y globulinas solubles en soluciones salinas. Aproximadamente el 80-90 % del total de proteínas pertenece al grupo de las globulinas. Koshiyama (1969), realizó una caracterización de las proteínas de soja por medio de ultracentrifugación analítica. El estudio reveló la presencia de 4 fracciones con coeficientes de sedimentación de 2S, 7S, 11S y 15S, las cuales no son homogéneas y contienen una mezcla de proteínas. Las dos fracciones más abundantes son la 7S (β -conglucina) y la 11S (glicina), que suman el 70 % del total de proteínas, por lo que dominan el comportamiento del aislado. Ambas, β -conglucina y glicina, son proteínas complejas, con múltiples subunidades. La globulina 7S es una proteína trimérica (141 kDa) compuesta por las subunidades α (57 kDa), α' (58 kDa) y β (42 kDa) asociadas por interacciones hidrofóbicas (Thanh y Shibasaki 1977). La fracción 11S consiste en dos anillos hexagonales, y cada uno contiene tres subunidades asociadas por interacciones hidrofóbicas que consisten en pares de polipéptidos ácidos y básicos unidos por enlaces disulfuro (Moreira y et al. 1979). La glicina y la β -conglucina tienen una temperatura de desnaturalización de 90 y 72 °C, respectivamente. Para proceder a la extracción de estas fracciones proteicas, se solubilizan en soluciones acuosas a un pH aproximado de 8 y se precipitan en soluciones ácidas, cercanas al pI de las proteínas (~4,5) (Kinsella 1979).

La harina de soja ha sido reconocida desde hace muchos años como un excelente ingrediente para fortificar los productos a base de cereales, tales como el pan, las galletitas y la pasta. La incorporación de derivados de soja en los productos de panificación produce modificaciones en el proceso de elaboración y la calidad de los productos. Esto es debido a las características y la funcionalidad de sus componentes que afectan las propiedades sensoriales de los alimentos, como apariencia, color, sabor, olor, aroma y textura, las cuales son atributos determinantes de la aceptación por parte de los consumidores. Sin embargo, las harinas de soja se emplean en

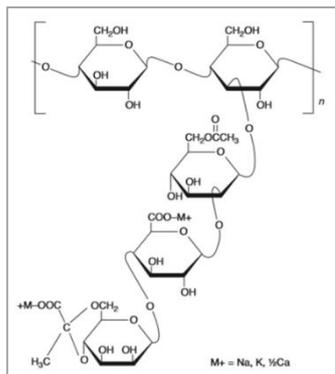


Figura 14 Estructura primaria de la goma xántica. (Adaptado a partir de Sworn 2011).

panificación tanto para enriquecer las propiedades nutritivas de los productos (Mecham et al. 1976, Bean et al. 1977, Guy 1984), como para aprovechar los efectos beneficiosos de sus enzimas y fosfolípidos (Pomeranz et al. 1969, Chung et al. 1981, Lai et al. 1989)

Si bien se ha estudiado el efecto de diferentes materias primas en las propiedades de las masas, la estructura de los panificados y la calidad tecnológica y sensorial de los productos, muchos autores han demostrado que se obtienen mejores resultados combinando diferentes materias primas de manera tal de potenciar su funcionalidad (Schober et al. 2003, 2005, 2007; Alvarez-Jubete et al. 2010).

Aditivos

La incorporación de aditivos en la formulación de panificados LG ha sido reportada como una alternativa para mejorar las propiedades de manejo de las masas y la calidad del producto final. En general, en la panificación con harina de trigo se utilizan aditivos que actúan sobre la red de gluten. Sin embargo, en la producción de productos LG la estrategia es diferente y se buscan aditivos que actúen sobre la fracción almidonosa, que por lo general es la mayoritaria; en caso de estar presente, en la fracción proteica no glutéinica y que tengan efectos sobre la consistencia de la masa. En los panificados LG se ha reportado la utilización de aditivos como hidrocoloides, emulsionantes y enzimas, entre otros.

Los **hidrocoloides** comprenden un número de moléculas altamente hidrofílicas. Químicamente, pueden ser polisacáridos como la goma xántica, los galactomananos, los derivados del almidón, entre otros; o proteínas, como la gelatina. Proveen numerosas propiedades funcionales que los tornan adecuados para diferentes aplicaciones en la industria alimenticia (Rosell et al. 2007). En la industria panadera, además de ser utilizados como reemplazantes del gluten, los hidrocoloides han sido empleados para mejorar la textura del pan, disminuir la velocidad de retrogradación de la amilopectina, aumentar la retención de agua y mantener la calidad general del producto durante más tiempo (Rojas et al. 1999). Acs et al. (1997) probaron el uso de diferentes hidrocoloides como sustitutos del gluten en pan elaborado a partir de almidón de maíz. Los autores evaluaron el efecto de las gomas xántica, guar, garrofín y tragacanto sobre el volumen y la textura de estos panes. Todos los hidrocoloides aumentaron significativamente el volumen y disminuyeron la dureza de los panes, obteniendo los mejores resultados con la incorporación de la goma xántica; mientras que Gan et al (2001) encontraron que la hidroxipropilmetil celulosa y la carboximetil celulosa funcionan mejor que la goma guar como reemplazantes parciales del gluten en panes hechos a partir de harina de trigo y harina de arroz (50:50).

Todos los hidrocoloides interactúan con el agua, reduciendo su difusión. En general, los hidrocoloides neutros muestran una menor solubilidad, mientras que los polielectrolitos son altamente solubles en agua, aunque la cinética de hidratación depende de varios factores; las gomas xántica y guar y la carboximetilcelulosa son solubles en agua fría; mientras que los carragenanos, la goma garrofín y muchos alginatos requieren de agua caliente para su completa hidratación (Anton y Artfield 2008). El agua puede ser retenida directamente por la formación de puentes de hidrógeno, o puede ser contenida en los espacios que se forman inter o intramolecularmente. Numerosos estudios han reportado las interacciones entre los hidrocoloides y las proteínas de un sistema, ambos en solución acuosa y en la superficie de una proteína adsorbida en una emulsión (Dickinson 2003). Se ha establecido que en solución, una mezcla de proteínas a hidrocoloides puede presentar miscibilidad, incompatibilidad termodinámica o una coacervación compleja. Mientras que, en una interface, en donde la proteína esta adsorbida, pueden ocurrir

interacciones asociativas debido a enlaces puente hidrogeno o interacciones electrostáticas resultando en una capa doble estabilizadora en la superficie de la gota de aceite (Dickinson 2011); mientras que el polisacárido adicionado se encuentre en una concentración suficiente, sino de otra manera tiene lugar la floculación.

La goma xántica es un metabolito secundario producido durante la fermentación aeróbica de carbohidratos simples por parte de *Xanthomonas* spp. Se trata de un polisacárido formado por una estructura primaria de unidades repetidas, constituidas por dos glucosas, dos manosas y un ácido glucurónico (figura 14). Unidos a las manosas se encuentran ácido pirúvico y grupos acetilos, que le otorgan a la molécula un carácter aniónico (García-Ochoa et al. 2000). La estructura secundaria de esta macromolécula es una hélice formada por cinco unidades repetitivas, con cadenas laterales plegadas contra la cadena central. Este tipo de estructura se puede asimilar a la de un rodillo rígido. Análisis de difracción de rayos X indican que la goma se presenta como una sola hélice mientras que estudios quirópticos y de microscopía electrónica sugieren que se trata de una doble hélice o incluso de una superhélice de orden mayor. Cuando la goma esta en solución acuosa presenta una conformación helicoidal, que le otorga a la molécula una estructura más rígida. Se ha demostrado que esta característica influye el comportamiento de sus soluciones, incluyendo altas viscosidades y pseudoplasticidad (Millane y Wang 1990). Las cadenas laterales protegen a la cadena central de glucanos de manera tal que se torna relativamente estable a ácidos, álcalis y enzimas (particularmente celulasa). Algunos autores han evaluado la existencia de interacciones entre la goma xántica y diferentes proteínas. Hua et al. (2003) observaron la formación de geles de proteína de soja y goma xántica. Estos autores informaron que la fracción proteica se comportaba como la fase soporte aun a concentraciones de goma xántica mayores a 1 %. Carp et al. (1999) también estudiaron las propiedades de emulsión y solubilidad de proteínas de soja en interacción con goma xántica. Crockett et al. 2011 reportaron que una solución de goma xántica al ser calentada adquiere una conformación desenrollada y por lo tanto el número de enlaces iónicos con las proteínas aumenta, lo cual se expresa físicamente en un incremento del módulo elástico del sistema. En cuanto a la interacción de la goma xántica con el almidón, la goma xántica no afecta significativamente a la gelatinización, pero puede inhibir la retrogradación, haciendo que las soluciones de almidón sean más estables. Aunque alguno autores han observado cambios en la temperatura de inicio de la gelatinización cuando la goma xántica está presente en el sistema (Rojas et al. 1999). La goma xántica es también eficaz en la mejora de la estabilidad de almidones en el proceso de congelado-descongelado mediante el control de la sinéresis (Aroclus et al. 2009).

Entre los derivados de celulosa, la hidroxipropilmetil celulosa (HPMC) constituye otra de las opciones empleadas en la panificación LG. La HPMC se obtiene al tratar la celulosa alcalina con óxido de propileno y cloruro de metilo. Mediante este tratamiento se incorporan grupos éter de hidroxipropilo a la estructura de la celulosa (figura 15), lo cual genera cambios en la estructura de la molécula y en sus propiedades. La presencia de unos pocos grupos éter diseminados a lo largo de las cadenas mejora la solubilidad en agua de la celulosa, al disminuir la cantidad de puentes de hidrógeno internos. De aquí que cuando se calienta una solución acuosa las moléculas de agua de la solvatación del polímero se disocian de la cadena, y la hidratación disminuye lo suficiente para que se formen asociaciones intermoleculares y se produzca la gelificación. Al reducir la temperatura se aumenta de nuevo la solubilidad, de manera que el gel es reversible (Sarkar 1979). Debido a la presencia de los grupos éter, estas cadenas son algo tensoactivas, de modo que se adsorben en las interfases. Esto ayuda a estabilizar las emulsiones y las espumas. La HPMC ha sido descrita por varios autores como un buen agente estructurante que, si bien no forma una red tridimensional, otorga coherencia al conjunto de elementos presentes y por lo

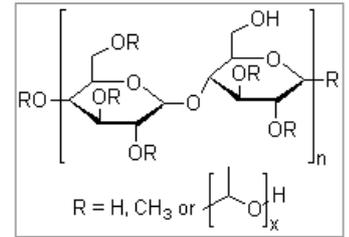


Figura 15 Estructura primaria de la HPMC

tanto en productos como el pan promueve una mejor capacidad de retención de gas en la masa. Mariotti et al. (2013) evaluaron la incorporación de HPMC en combinación trigo sarraceno en panes LG y observaron una mejora en la ternura de la miga y una reducción en la cinética de retrogradación. Sin embargo, otros autores han reportado efectos contradictorios al emplear HPMC. Hager y Arendt (2013) encontraron que el HPMC tenía un efecto lineal positivo en el volumen de panes de maíz y teff y un efecto lineal negativo sobre el mismo parámetro en panes con harina de arroz.

El *psyllium* es una planta del género *Plantago ovata* Forsk (Craeyveld et al. 2009), también conocida como plantago india, Ispaghula y Spagel (Guo et al. 2009). La cáscara de la semilla de *psyllium* es una fuente bien conocida para la producción de hidrocoloides de *psyllium* (Craeyveld et al. 2009) y se utiliza ampliamente en las industrias farmacéutica y alimenticia (Singh 2007, Yu et al. 2003). El *psyllium* constituye un gel y actúa como mejorador de la consistencia y la estabilidad de los productos (Bemiller y Whister 1996). Es un polisacárido no almidonoso complejo que se compone de una estructura ramificada con una cadena principal que contiene enlaces (1-4) y (1-3), y cadenas laterales que están unidas a la cadena principal a través de enlaces O-3 y/o O-2. La cadena principal de este polisacárido se compone de residuos de xilopiranosos. Y sus cadenas laterales están formadas por arabinofuranosa y residuos de xilopiranosos o cadenas laterales cortas que consisten únicamente en moléculas de estos monosacáridos (Craeyveld et al. 2009, Guo et al. 2008, Singh 2007) (figura 16).

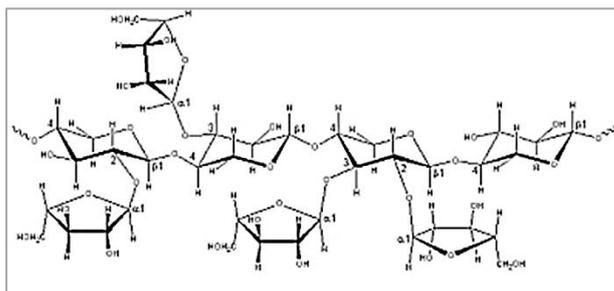


Figura 16 Estructura del *psyllium*.

Recientemente algunos autores han reportado estudios sobre la incorporación de *psyllium* en panificados LG. Mariotti et al. (2009) investigaron el efecto del *psyllium*, en combinación con almidón de maíz, harina de amaranto y aislado de arveja, en las propiedades reológicas y en la ultraestructura de masas LG. Estos autores demostraron como el *psyllium* mejora en general las propiedades físicas de las masas, debido a la estructura tipo film que se forma durante el amasado y como esto influye en la calidad tecnológica y nutricional de los panes. Cappa et al (2013) reportaron que la incorporación de *psyllium* en masas LG mejora la maquinabilidad y ocupa un rol fundamental en el desarrollo del producto, además de retrasar el envejecimiento de los panes.

La elección del hidrocoloide a utilizar debe ser estar basada en la función que se espera que el hidrocoloide realice en la microestructura del alimento. La funcionalidad de un hidrocoloide está determinada por la forma en que interacciona con los otros ingredientes de la formulación y las características del propio polímero; relacionadas con su estructura, la cual determina sus propiedades de viscosidad y su poder gelificante.

Por otro lado, en los productos LG también se emplean **emulsionantes** como el estearoil lactilato de sodio (SSL, por sus siglas en inglés) y los ácidos grasos del ácido

diacetil tartárico (DATEM, por sus siglas en inglés). Las emulsiones son sistemas en los que una fase, dispersa, se suspende como pequeñas gotas en una segunda fase, continua. Las sustancias que promueven la estabilidad de las emulsiones son conocidas como emulsionantes y funcionan al disminuir la tensión superficial generada en la interfase. Su capacidad emulsionante está dada por la estructura del emulsionante, la proporción de parte hidrofílica y lipofílica de la molécula, es decir el balance hidrofílico-lipofílico (HBL). Los emulsionantes han sido ampliamente utilizados en la industria de panificación cumpliendo funciones principales como el acomplejamiento del almidón, el refuerzo del gluten en sistemas con harina de trigo, la aireación y la reducción de grasa necesaria. La interacción del emulsionante con la fracción proteica promueve la estabilización de la masa mediante neutralización de las cargas positivas superficiales de las proteínas presentes en el sistema. Cuando el emulsionante se acompleja con el almidón durante el calentamiento produce la estabilización del gránulo retardando la penetración del agua. La formación del complejo amilosa-emulsionante no ocurre hasta la temperatura de gelatinización. Esta interacción reduce la formación del gel de amilosa y por lo tanto interfiere con la retrogradación de la amilopectina (Gray y BeMiller 2003). Mediante el agregado de los emulsionantes se logra que la masa tolere mejor el trabajo realizado sobre ella durante el batido y la fermentación (Goesaert et al. 2005), y que mejore la estructura de la miga, obteniéndose un alveolado más fino y uniforme (Stampfli y Nersten 1995). Los emulsionantes también ayudan a retener el dióxido de carbono incorporado durante el batido, y disminuyen su liberación durante el horneado (Daniels y Fisher 1976). Algunos autores ya han evaluado el efecto de la utilización de emulsionantes en la estructura y calidad de panificados LG (Onyango et al. 2009, Sciarini et al. 2012).

El DATEM es un emulsionante iónico que forma dispersiones en agua fría o caliente y posee un HBL aproximado de 9,2. El SSL es un emulsionante aniónico que también forma dispersiones en agua fría o caliente con un HBL cercano a 21. Ambos poseen muy buenas capacidad para formar interacciones hidrofóbicas con proteínas e interactuar con el almidón.

En la industria panadera, la adición de **enzimas** se utiliza comúnmente para modificar la reología de la masa, la retención de gas y la textura de la miga en la fabricación de pan (Williams y Pullen 1998), para modificar la reología de la masa en la fabricación de productos tipo *puff pastry* y galletas (Manley 2000), para promover la suavidad en bizcochuelos (Sahi y Guy 2005) y para incrementar el crecimiento vertical en *croissants* (Gerrard et al. 2000).

Algunos autores han evaluado la incorporación de glucosa oxidasa (GOX) en panes LG elaborados con harina de arroz (Gujral y Rosell 2004a) y una mezcla de harina de arroz, soja y almidón de mandioca (Sciarini et al. 2012), y reportaron un mejoramiento de la calidad. La glucosa oxidasa (EC 1.1.3.4), es una flavoproteína de masa molecular entre 130-175 kDa. Esta enzima es producida por un amplio rango de especies fúngicas, especialmente los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, de los cuales *A. niger* es el más comúnmente utilizado. La GOX cataliza la oxidación de β -D-glucosa a D-gluconolactona y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) utilizando oxígeno molecular como aceptor de electrones (Pluschkell et al. 1996, Hatzinikolaou et al. 1996). Esta reacción puede ser dividida en dos pasos, uno reductor y otro oxidativo. En la etapa reductora, la enzima GOX cataliza la oxidación de β -D-glucosa a D-gluconolactona, la cual es hidrolizada a ácido glucónico por un mecanismo no enzimático. Seguidamente, el nucleótido FAD (flavina adenina) es llevado a su forma reducida ($FADH_2$) (Witt et al. 2000). En la etapa oxidativa, la enzima GOX reducida es reoxidada por el oxígeno con la producción de H_2O_2 . El mecanismo por el cual la glucosa oxidasa mejora la calidad de productos como el pan es aún controvertido. Diversos autores (Primo-Martin et al. 2003, Rosell et al. 2003, Gujral y Rosell 2004a) postularon que el H_2O_2 producido por

la catálisis de la enzima causa la oxidación de los grupos sulfhidrilo libres de las proteínas del gluten. Vemulapalli y Hosene (1998) encontraron que los grupos sulfhidrilo libres de las proteínas solubles de trigo disminuían en presencia de glucosa oxidasa; mientras que Gujral y Rosell (2004a) observaron el mismo efecto en las proteínas de arroz.

Recientemente algunos autores han evaluado la incorporación de la enzima ciclodextrinaglicosil transferasa (CGTase) en productos panificados. Esta enzima (EC 2.4.1.19) es producida por un rango de especies del género *Bacillus*. La CGTase cataliza cuatro reacciones diferentes: ciclización, acoplamiento, desproporción e hidrólisis (Ohnishi et al. 1997). La CGTase utiliza el almidón como sustrato provocando la ruptura de los enlaces glicosídicos α -1,4. Además mediante reacciones de ciclización genera α -, β - y γ -ciclodextrinas que contienen seis, siete u ocho unidades de glucosa, respectivamente. Las ciclodextrinas tienen una superficie externa de naturaleza polar responsable de la solubilidad acuosa y un núcleo interno hidrofóbico con capacidad de formar complejos con una amplia variedad de moléculas hidrofóbicas. Algunos autores han estudiado la formación de complejos entre las ciclodextrinas y las proteínas de harina de arroz en panes libres de gluten (Gujral et al. 2003a). Por otro lado, también hay estudios sobre el efecto de la actividad hidrolítica de la CGTase sobre el almidón, el cual podría retardar la retrogradación de almidones como el de la harina de arroz que, presenta mayor predisposición a retrogradar que el almidón de la harina de trigo (Gujral et al. 2003b, Lee et al. 2002).

Los productos libres de gluten disponibles en el mercado son de una calidad muy inferior a los de trigo, tal es el caso de los panes que poseen poco volumen, presentan una miga seca y frágil y se endurecen rápidamente durante el almacenamiento debido a una mayor cantidad de almidón en la formulación (Arendt et al. 2002). La falta de diversidad de estos productos y su elevado costo, impulsan a buscar diferentes alternativas para la obtención de panificados de calidad que sean capaces de atender a la demanda nutricional de un importante sector de la población.

En Córdoba los bizcochos laminados salados elaborados con harina de trigo, conocidos como "criollitos", se encuentran entre los productos panificados regionales más consumidos (Giannoni, 2012). Sin embargo, no se han encontrado estudios sobre la formulación de panificados hojaldrados LG. En cuanto a masas laminadas, la bibliografía informa sobre un único estudio realizado por Lorenzo et al. (2008) acerca de masa LG para empanadas y tarta. Sin embargo, la conformación estructural del producto horneado estudiado por estos autores no es de naturaleza laminada u hojaldrada y por consiguiente los requerimientos en la conformación de la masa son diferentes, al igual que los parámetros de calidad para evaluar al producto final. De manera tal que, el estudio de las propiedades de masas laminadas que permitan obtener productos horneados LG de estructura hojaldrada aportará una serie de conocimientos que posibilitarían la disponibilidad en el mercado de un tipo de producto panificado altamente consumido por el resto de la población.

Objetivo general

Estudiar el efecto de diferentes ingredientes y aditivos en el proceso de elaboración y en la calidad tecnológica de productos panificados libres de gluten laminados salados.

Objetivos específicos

- Estudiar las relaciones entre las características de harinas de diferentes tipos de trigo, masas laminadas y productos panificados
- Establecer relaciones entre las propiedades estructurales de diferentes materias grasas y la calidad sensorial y tecnológica de panificados laminados de harina de trigo
- Evaluar el efecto de diferentes aditivos sobre la calidad tecnológica de panificados laminados salados elaborados con harinas libres de gluten
- Establecer relaciones entre las propiedades reológicas, la fracción proteica y la distribución de agua en la masa y la calidad tecnológica de panificados con aditivos
- Evaluar el efecto combinado de diferentes aditivos sobre las características y la calidad de los productos laminados libres de gluten para optimizar la formulación
- Determinar el efecto de la congelación y precocción de masas sobre la calidad tecnológica de los productos panificados laminados libres de gluten

Sección I Panificados laminados de harina de trigo

Capítulo 1

Relación entre las características de harinas de diferentes tipos de trigo y las propiedades de masas y panificados laminados

Los panificados obtenidos a partir de masas laminadas sin levadura (*puff pastry*) y masas dulces danesas (*Danish pastry*) están entre los productos horneados más comunes que implican en su preparación la intercalación de capas delgadas de masa y grasa (O'Brien 2004). En estos productos la expansión del sistema durante el horneado depende en gran medida de la capacidad de las capas de masa para permanecer separadas y discretas de las capas de grasa; aunque otros factores también contribuyen a la elevación del producto. La aptitud de una harina para obtener panificados a partir de masas laminadas sin levadura o masas dulces danesas ha sido discutida por varios autores.

Cauvain y Young (2001) y Matzs (1999) sostuvieron que la utilización de una harina que permitiera obtener una masa muy tenaz del tipo *puff pastry* causaría un excesivo encogimiento del producto laminado. Las masas elaboradas con harina de trigos fuertes requieren tiempos de descanso más largos que las masas de harina de trigos blandos, de manera tal que el sistema presente las características reológicas adecuadas que le permitan soportar el laminado y formar láminas. Matzs (1999) encontró que la calidad de la masa danesa mejoraba con el reemplazo de 15-20 % de harina de trigo fuerte por harina de trigo blando. Davies et al. (1987) estudiaron la estructura y la funcionalidad de las proteínas en masa laminada sin levadura antes y durante el horneado. Estos autores encontraron que una harina de buena calidad permitía formar delgadas láminas de masa (30 μm), mientras que una harina de menor calidad formaba capas de masa pegajosas y poco definidas. En 1989, Zabik y Tipton evaluaron la influencia de la cantidad y calidad del gluten de masas tipo *puff pastry* de harina de trigos blandos sobre las características texturales. Los autores encontraron correlaciones positivas entre la cantidad del gluten y la apariencia escamosa de la corteza; mientras que la formación de ampollas y la fuerza de quiebre de la corteza disminuyeron a medida que la cantidad de gluten decreció. Hay (1993) encontró que la altura específica de panificados laminados tipo *puff pastry* aumentaba con el incremento del contenido de proteínas. De la misma manera, el volumen específico de los panificados presentó correlaciones positivas con el contenido de proteínas y las proteínas de alto y bajo peso molecular. Geittner (1978) utilizó el extensógrafo de Brabender para determinar la calidad de masas tipo *puff pastry* y estableció un rango para el área bajo la curva de medición que estos sistemas debían presentar. Hay (1993) identificó algunas propiedades de la masa (energía absorbida por la masa al ser estirada hasta su ruptura y absorción de agua) como los mejores predictores de la altura y el volumen específico de los panificados.

A pesar de que se han llevado a cabo estudios para establecer parámetros de calidad de harinas que permitan predecir la calidad de panificados laminados tipo *puff* y *Danish pastry*, no se han encontrado investigaciones que aborden sistemas panificados laminados salados con levadura. Los sistemas laminados con levadura poseen características en común con los productos tipo *puff* y *Danish pastry*. Sin embargo, la presencia simultánea de levadura y sal durante la fermentación promueve el desarrollo de compuestos ácidos (ácido láctico, acético y butírico) que disminuyen el pH de la masa y provocan cambios en la red de gluten y como consecuencia en la consistencia del sistema. El establecimiento de relaciones entre la calidad de harina y las propiedades de la masa laminada con levadura que permitan obtener un panificado de buena calidad no ha sido ampliamente abordado por la comunidad científica.

1.1 MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon muestras de trigo de la cosecha argentina del año 2011 provistas por la Estación Experimental Marcos Juárez del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina. Se utilizaron tres cultivares experimentales de trigo blando (*Triticum aestivum* (L) Thell. ssp. *compactum* (Host) MacKey) y seis cultivares de trigo pan (*Triticum aestivum* (L) Thell. ssp. *aestivum*) (Tabla 1.1) para la elaboración de panificados laminados.

Tabla 1.1 Cultivares de trigo empleados

Trigo	Cultivar	Muestra
Blando	JTB 2	Sw1
	JTB 10	Sw2
	JTB 31	Sw3
Pan	Baguette Premium 11	Hw4
	Klein Proteo	Hw5
	BIOINTA 3004	Hw6
	Klein Tauro	Hw7
	Klein Yarara	Hw8
	BIOINTA 1005	Hw9

Las muestras de trigo fueron acondicionadas a 14,5 % de humedad y molidas en un molino de laboratorio Bühler SA MLU 202 (Bühler SA, Buenos Aires, Argentina). Se utilizó grasa bovina refinada comercial (La Cordobesa para hojaldre, Argentina) en la formulación de la masa y en el hojaldrado (temperatura de fusión: $46,94 \pm 0,08$ °C, contenido de sólidos grasos a 10, 15, 20, 25,30 y 40 °C: 54,0; 51,4; 46,2; 38,9; 31,4 y 17,8 %, respectivamente).

1.1.1 Caracterización físico-química de las muestras de harina

Porcentaje de humedad (Método 44-15.02, AACC, 2000)

El contenido de humedad se determinó sobre $2,00 \pm 0,01$ g de harina. Se calentó la muestra durante 2 h a 130 °C en estufa isotérmica de calentamiento eléctrico. El porcentaje de humedad se calculó por diferencia de peso medido antes y después del calentamiento de la muestra y se expresó como porcentaje de agua perdida.

Contenido de cenizas (Método 08-01.01, AACC, 2000)

La determinación del contenido de cenizas se realizó a partir de 2 g de harina. La harina fue calentada en mufla hasta 600 °C y se pesó la muestra antes y después del calentamiento.

Porcentaje de proteínas (Método 46-10.01, AACC, 2000)

El contenido de nitrógeno de las muestras se determinó de acuerdo al micro método de Kjeldahl modificado para ácido bórico. Se realizó la mineralización de la muestra (0,1 g) con H₂SO₄ a 400 °C en un bloque de digestión MB-6, Raypa (R. Espinar SL, España). Se realizó luego la destilación del amonio resultante sobre ácido bórico en un destilador UDK 126, Velp Scientifica (Velp Scientifica SRL, Italia) y se tituló con ácido clorhídrico. El contenido porcentual de proteínas totales se calculó como %N x 5,7, donde %N es el porcentaje de nitrógeno determinado por titulación y 5,7 el factor que se utiliza para proteínas de cereales; este factor depende del contenido de aminoácidos aminados de las proteínas.

Gluten húmedo (Método 38-10.01, AACC, 2000)

El contenido de gluten húmedo se determinó a partir de una masa elaborada con 10 g de harina y 6 ml de agua. La masa se sometió a un lavado manual durante 12 min en donde se separaron los componentes solubles en agua, como almidón, pentosanos y proteínas solubles. El gluten obtenido se expresó como porcentaje de la muestra.

Macropolímero de Gluteninas (GMP)

El GMP fue obtenido de acuerdo a Don et al. (2003). Se suspendió (1:20) una muestra de harina en 1,5 ml de una solución de SDS 1,5 % p/v. Las suspensiones se agitaron por 1 h a temperatura ambiente y se centrifugaron por 30 min a 80000 x g a 20 °C. El precipitado resultante estuvo compuesto por una capa de gel de proteínas insolubles, denominado GMP, depositada sobre el almidón. El contenido total de proteínas del precipitado fue determinado por el método de Kjeldahl (N x 5,7) (Método 46-10.01, AACC, 2000) y expresado como porcentaje de proteínas del GMP (g proteína GMP/100 g de harina).

Perfil de Capacidad de Retención de Solventes (Solvent Retention Capacity) (SRC) (Método 56-11.02, AACC, 2000)

Cuatro porciones individuales de 5,0 g de muestra fueron hidratadas por separado con 25 g de los siguientes solventes: agua destilada, ácido láctico 5 % (p/p), sacarosa 50 % (p/p) y carbonato de sodio 5 % (p/p). Luego de agitación con posterior centrifugación para descartar el sobrenadante, se obtuvo la masa de cada porción hidratada y se calculó el porcentaje de SRC para cada solvente (Ecuación 1.1).

$$\%SRC = \left[\left(\frac{PG}{PH} \right) * \left(\frac{86}{100 - \%H} \right) - 1 \right] * 100$$

PG: Peso del precipitado
PH: Peso de la harina
%H: Porcentaje de humedad

Índice de Sedimentación en Dodecil Sulfato de Sodio (Método 56-70.01, AACC, 2000) (IS-SDS)

El IS-SDS se determinó a partir de 1,0 g de harina. La muestra se humectó con una solución de azul de coomassie 0,001 % (p/v) y una solución de SDS-ácido láctico (2 % - 1:8 v/v ácido láctico), luego fue sometida a sucesivos periodos de agitación y reposo. El volumen de la muestra hidratada se registró en cm³.

Los ensayos que comprendieron la caracterización físico-química de las harinas se realizaron por duplicado.

Propiedades viscosimétricas de las harinas (Método 76.21.01, AACC, 2000)

Las propiedades de viscosidad se determinaron a través de un Viscoanizador Rápido (RVA) (Newport Scientific Pty Ltd., Australia). Para la determinación una dispersión de harina en agua fue calentada, enfriada y sometida a agitación constante (fuerza de corte) bajo condiciones controladas. Durante este ensayo se evaluaron los cambios de viscosidad del sistema en función del tiempo y la temperatura, lo que permitió estudiar el proceso de gelatinización y gelificación del almidón.

Para las determinaciones se utilizó el método general de pasting standard Newport Scientific Method 1 (STD1). Las suspensiones de 3,5 g de harina (humedad conocida) y 25±0,1 ml de agua (0,88 fracción de volumen de agua) se calentaron a 50 °C, mientras se agitó a 160 rpm durante 10 s para la dispersión completa de la harina. La suspensiones se mantuvieron a 50 °C durante 1 min, y posteriormente se calentaron hasta 95 °C a una velocidad de calentamiento de 9,4 °C/min y una velocidad de agitación de 960 rpm. El sistema se mantuvo a 95 °C durante 2,5 minutos, y finalmente se enfrió a 50 °C a una velocidad de enfriamiento de 11,8 °C/min. El pico de viscosidad (PV), la viscosidad media (VM), viscosidad final (VF), *breackdown* (PV – VM)

Ecuación 1.1 Cálculo del porcentaje de SRC

y *setback* (VF – VM) se determinaron a partir de las curvas de perfil de viscosidad. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.1.2 Elaboración de panificados laminados salados

Los panificados laminados salados se elaboraron utilizando la formulación detallada en la tabla 1.2. La cantidad de agua incorporada fue determinada experimentalmente de acuerdo a las condiciones de trabajo y en base a pruebas previas sobre la consistencia deseable de la masa luego del amasado.

Los ingredientes fueron mezclados durante 3 minutos en una amasadora MPZ (Pedro Zambom e hijos, Córdoba, Argentina). La levadura y la sal se disolvieron previamente y se agregaron por separado, los demás ingrediente se incorporaron sólidos. La temperatura del agua se calculó para obtener masa al final del amasado con una temperatura de 21 ± 1 °C. La masa resultante fue extendida en forma rectangular y la mitad se cubrió con 33,3 % de materia grasa. Luego la parte libre del rectángulo de masa se dobló sobre la porción con materia grasa (Figura 1.1.a) y se cerraron los bordes para evitar pérdidas. La masa obtenida fue laminada en una sobadora MA-AR (ACRILIC Tissot, Argentina) con dos rodillos de 50,0 x 12,7 cm. Se redujo el espesor de la masa a 60 mm en seis pasos sucesivos de laminado para no producir daños en la estructura de la misma. Sobre la masa resultante se realizó un procedimiento de "vuelta simple", se marcaron tres partes, se encimó una sobre la otra (Figura 1.1.b) y se cerraron los bordes. La masa se dejó en reposo durante 20 minutos a una temperatura ambiente de 20 ± 1 °C. Luego el espesor de la masa fue ajustado a 50 mm en siete pasos sucesivos de laminado y se realizó nuevamente una vuelta simple. Seguidamente la masa reposó durante 20 minutos y después su espesor fue ajustado a 50 mm. Se realizó una última vuelta simple y el espesor de la masa se ajustó mediante rodillo a 150 mm. Los sucesivos laminados se realizaron en ambas direcciones para que la estructura se fortaleciera de manera homogénea y para evitar crecimiento irregular del producto en alguna de las dos direcciones. Finalmente se cortaron los bordes externos de la masa y se realizaron perforaciones circulares (diámetro= 2 mm) cada 1,6 cm a lo largo de la masa para impedir que las capas se separen durante el horneado (Figura 1.2).

Se cortaron piezas de masa (5 cm x 5 cm) y se las colocó a fermentar en una cámara de fermentación Pauna-Cst (Argentina) a 35 °C y 80% de humedad relativa hasta que las piezas doblaron su altura. Las masas laminadas fueron horneadas a 175 °C y durante 27 minutos en un horno a convección Beta 107 IPA (Pauna, Córdoba, Argentina). Tres productos por cada muestra de harina fueron elaborados y el procedimiento se realizó por duplicado.

Tabla 1.2 Formulación de panificados laminados con harina de trigo

Ingrediente	Porcentaje
Harina de trigo	100
Materia grasa	20
Levadura prensada	2,8
Sal	2,5
Azúcar	1,4
Agua	50

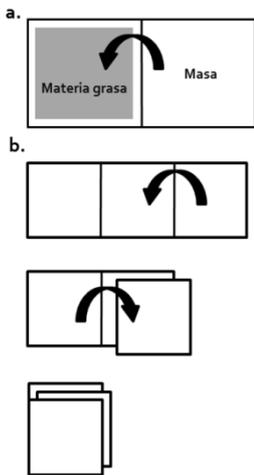


Figura 1.1 Procedimiento de "vuelta simple"

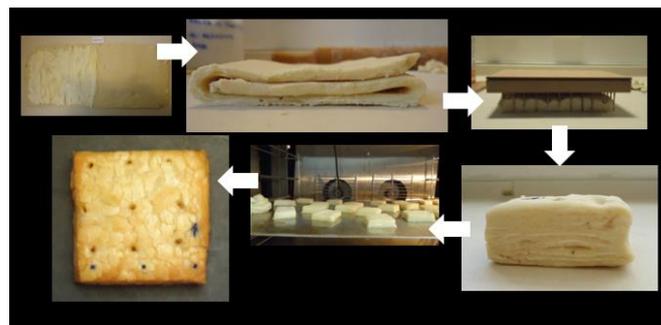


Figura 1.2 Proceso de elaboración de panificados laminados con harina de trigo

1.1.3 Caracterización estructural de las piezas de masa

Ensayo de relajación del esfuerzo

En el ensayo de relajación se aplica una deformación de manera constante durante un tiempo y se evalúa la respuesta del sistema en términos del esfuerzo ($\sigma(t)$) que el material debe realizar para mantener la deformación.

La evaluación del esfuerzo en función del tiempo se realizó mediante un texturómetro Instron 3342 (Norwood, MA, EUA), sobre piezas de masa cilíndricas laminadas no fermentadas preparadas como se describió anteriormente. Las muestras fueron comprimidas con una sonda cilíndrica (diámetro= 25 mm), a una velocidad de 0,5 mm/s hasta un 30 % de la altura inicial de la pieza, la compresión se mantuvo durante 2 minutos. Durante la relajación de la muestra se registró el $\sigma(t)$ en una curva que se interpretó en términos de un modelo comprendido por un elemento de Maxwell y un resorte en paralelo (ecuación 1.2) (Steffe 1996). En este modelo σ es el esfuerzo (respuesta del sistema), E_1 es el módulo elástico, ε_0 es el módulo elástico en el equilibrio y t_τ es el tiempo de relajación definido por la ecuación 1.3.

Los parámetros del modelo empleado se obtuvieron por ajuste de los datos experimentales mediante el software SIGMAPLOT 10 (Systat Software, Inc., Alemania). Se evaluaron tres piezas de masa por cada muestra de harina y cada prueba se realizó por duplicado.

Resistencia de la masa a la deformación

La resistencia de la masa a la deformación se determinó mediante un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, MA, EUA) y se realizó sobre piezas de masas laminadas no fermentadas preparadas como se describió previamente. Las muestras se sometieron a un test de compresión mediante una sonda cilíndrica (diámetro= 25 mm) bajo las siguientes condiciones: celda de compresión de 5 kg; velocidad del cabezal 1 mm/s; deformación máxima 40 %. Mediante el software BluehillR 2.27 (Instron, EUA) se obtuvieron las curvas de carga de compresión en función de la deformación por compresión y la resistencia a la deformación se definió como el valor máximo obtenido. Se evaluaron tres piezas de masa por cada muestra de harina y cada prueba se realizó por duplicado.

1.1.4 Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados

Cambio conformacional

El cambio conformacional que experimentó la pieza de masa durante el proceso de elaboración se evaluó a través de las dimensiones de la masa (altura, ancho y largo), al inicio y finalización de la fermentación y sobre el producto final luego de 1 h de horneado. Se calcularon las relaciones de altura y ancho con los valores de estas dimensiones de las piezas de masas no fermentadas en relación a los valores de los productos horneados.

Factor de forma (FF)

El factor de forma de los productos panificados se calculó según la ecuación 1.4.

Volumen específico (VE)

$$\sigma(t) = E_1 e^{\left(\frac{-t}{t_\tau}\right)} + \varepsilon_0$$

Ecuación 1.2 Modelo de relajación del esfuerzo de tres elementos

$$t_\tau = \frac{\eta}{E_1}$$

Ecuación 1.3 Tiempo de relajación en el ensayo de relajación del esfuerzo

$$FF = \frac{\text{altura}}{\frac{\text{ancho} + \text{largo}}{2}}$$

Ecuación 1.4 Cálculo del factor de forma

El volumen específico de los panificados se determinó por desplazamiento de semillas de colza luego de 1 h de horneado. El VE se calculó dividiendo el volumen de cada pieza por su peso y se expresó como g/cm^3 .

Los ensayos sobre las dimensiones de los panificados se realizaron por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra de harina.

Color de la corteza (Método 14-22.01, AACC, 2000)

El color de la corteza se determinó mediante un espectrofotómetro CM-700d/600d KONICA MINOLTA (Ramsey, EUA). La determinación provee un valor específico de color basado en la cantidad de luz reflejada fuera de la superficie del producto o transmitida a través del mismo. Las mediciones se realizaron utilizando 8 mm de apertura y con un iluminador D65. Como medida objetiva del color se utilizó el sistema Cie-Lab (C.I.E., 1986), que define cada color a partir de tres coordenadas denominadas L^* , a^* y b^* . Estas magnitudes son adimensionales y se definen en función del tipo de estímulo y del blanco de referencia para tratar de simular a los observadores reales (Joshi y Brimelou 2002). El valor L^* recibe el nombre de luminosidad, el valor a^* es una medida de la intensidad de color rojo y el valor b^* es una medida de la intensidad de color amarillo.

El espectrofotómetro fue calibrado antes de cada ensayo con un plato estándar blanco, se realizaron mediciones en tres puntos de la corteza de los panificados (en el extremo superior izquierdo, en el centro y en el extremo inferior derecho). La evaluación del color de la corteza de los panificados se realizó por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra de harina.

Firmeza de la corteza y la estructura interna

La firmeza se determinó mediante un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, MA, EUA). La evaluación de la firmeza de la corteza del panificado se realizó directamente sobre el producto y en el caso de la firmeza de la estructura interna se tomó una porción longitudinal de 20 mm de espesor. En ambos casos los ensayos se realizaron luego de 1 h de horneado. Las muestras se sometieron a un test de compresión mediante una sonda cilíndrica (diámetro= 25 mm) bajo las siguientes condiciones: celda de compresión de 500 N; velocidad del cabezal 1 mm/s; deformación máxima 40 %. Mediante el software BluehillR 2.27 (Instron, EUA) se obtuvieron las curvas de carga de compresión vs deformación por compresión, a partir de las cuales se calculó el máximo de la curva interpretado como la resistencia que opone el sistema evaluado a la deformación aplicada. Las determinaciones de firmeza de la corteza y la estructura interna se realizaron por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra de harina.

Análisis textural de imágenes

Las técnicas de procesamiento de imágenes permiten caracterizar cuantitativamente características físicas y propiedades de textura de imágenes digitales. La textura es un atributo representando por el arreglo espacial en niveles de grises de los píxeles de un objeto o región de interés (ROI) de una imagen. Se relaciona con el patrón de repetición de la variación local de niveles de grises de los píxeles de la ROI. De manera tal que, los píxeles de las imágenes de la figura 1.3 poseen una misma distribución de intensidades de los niveles de grises (50 % blancos y 50 % negros); pero presentan texturas diferentes.



Figura 1.3 Textura de imágenes

Adquisición de la imagen: se realizaron cortes transversales de los panificados y se tomaron imágenes de con un escáner fotográfico (HP Scanjet G3010, Palo Alto CA,

EUA). El análisis de textura de la imagen se llevó a cabo con el programa Image J (National Institutes of Health, EUA).

Pre procesamiento de la imagen: el pre procesamiento se realizó para mejorar las características de la imagen, sin modificar las dimensiones de la imagen original. Como parte de esta etapa, se ajustó la escala de la imagen a la unidad cm, se seleccionó una ROI que fue de diferentes dimensiones según la muestra analizada y se transformó la imagen de color RGB a una imagen en escala de grises (figura 1.4.a y b.). Se realizaron operaciones entre píxeles vecinos, aplicando ciertos filtros de suavizado y enfatizado, como la substracción del fondo para compensar los defectos de iluminación (400 pixels, *light background*) (figura 1.4.c) y el mejoramiento del contraste (saturación de pixels: 0,5 %) (figura 1.4.d); con el fin de aumentar la diferencia entre la intensidad de los niveles. La imagen fue normalizada.

Segmentación de la imagen: se identificaron regiones de interés dentro de la ROI de la imagen con el fin de separarlas del fondo. La segmentación realizada se basó en el establecimiento de umbrales o *thresholding*, la cual consiste en segmentar objetos sólidos que poseen un contraste diferente del fondo. Se utilizó el método de Otsu (1979) para la segmentación (niveles: 0-143) (figura 1.4.e). Se ajustó un umbral de manera tal que todos los niveles de grises menores que el valor de umbral fijado se convirtieron en negro quedando seleccionadas las regiones de aire entre las capas o láminas. Mientras que los niveles de grises mayores al umbral fijado se convirtieron en blanco y representaron las capas/láminas. Seguidamente se realizó la binarización y se obtuvo una imagen representada únicamente por dos colores, negro y blanco (figura 1.5.f).

Medición cuantitativa de la textura de la imagen: la medición de la textura se llevó a cabo utilizando dos metodologías.

- Algoritmo de Matriz de Co-Ocurrencia en Escala de Grises (GLCM): se basa en la idea de que una imagen puede ser analizada a través del número de píxeles que la forman en dirección horizontal N_x y en dirección vertical N_y . Además cada uno de estos píxeles tiene un valor en tono de gris que es cuantificado hasta N_g niveles. Por lo tanto, considerando lo anterior, una imagen puede ser representada como una función, la cual asigna diversos tonos de grises para cada pixel o conjunto de píxeles y a partir de esta información se puede caracterizar la textura de una imagen. El algoritmo de GLCM se aplicó a la imagen en escala de grises pre procesada y se obtuvieron los parámetros relacionados con la textura, como el contraste, la homogeneidad y la entropía (Arzate-Vázquez et al. 2012).

- Dimensión fractal (DF): este parámetro determina el grado de irregularidad de un objeto en múltiples escalas y en que medida un objeto fractal (fragmento irregular o formas fragmentadas de objetos) difiere de un objeto euclidiano como un punto ($DF=0$), una línea ($DF=1$), una superficie ($DF=2$) o un sólido ($DF=3$). La DF es un descriptor numérico de la morfología de un objeto con estructura compleja e irregular. La miga de productos panificados como el pan puede describirse a través de medidas convencionales como la longitud y el área. Sin embargo, la conformación irregular y la geometría compleja de las capas y espacios vacíos de conformación alargada en los panificados laminados pueden ser descritas de manera más representativa por la dimensión fractal; la cual se expresa en términos de rugosidad morfológica, tortuosidad o complejidad topográfica. El cálculo de la DF se realizó sobre la imagen pre procesada y segmentada como se describió previamente y se aplicó el método de conteo de cajas (Quevedo et al. 2002).

El análisis textural de imágenes se realizó por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra de harina.

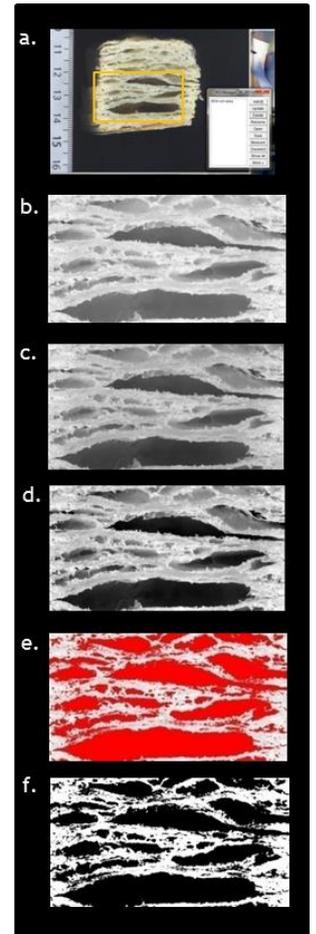


Figura 1.4 Análisis de imagen de panificados laminados

1.1.5 Análisis Estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó mediante el programa INFOSTAT (Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina). Las determinaciones experimentales fueron comparadas mediante un Análisis de la Varianza (ANAVA), el cual descompone la variabilidad total en la muestra (suma de cuadrados total de las observaciones) en componentes (sumas de cuadrados) asociados cada uno a una fuente de variación reconocida (Nelder 1994, Searle 1971, 1987). El análisis permite realizar una prueba de comparaciones múltiples entre las medias de las respuestas de cada tratamiento. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) (2002) y la relación entre las respuestas medidas se determinó mediante el coeficiente de regresión de Pearson con un p-valor $\leq 0,05$. Se realizó un Análisis de la Varianza Multivariado (MANOVA), que permite, cuando se estudian p variables para cada nivel de uno o más factores de diseño, realizar inferencias simultáneas sobre los efectos de los factores del modelo de análisis. Se analizaron diferencias globales entre las muestras considerando más de una variable. Para contrastar las hipótesis multivariadas se utilizó el estadístico de Hotelling con un nivel de significancia de 0,05.

1.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.2.1 Caracterización físico-química de las muestras de harina

La clasificación de los trigos resulta fundamental para satisfacer la demanda de la industria y de la exportación, de manera tal de proveer un producto de idénticas características en forma consistente y homogénea en el tiempo y de una calidad específica según el destino final (Cuniberti y Menella 2004). La definición de la calidad de los trigos y sus harinas es un elemento clave para garantizar la obtención del producto panificado esperado. Sin embargo, pese a la cantidad de trabajos destinados a su determinación, es un concepto que en el caso de harinas destinadas a la obtención de panificados laminados ha sido poco estudiado.

Los valores asociados a los componentes presentes en las muestras de harina se observan en la tabla 1.3. Las muestras presentaron un contenido de humedad entre 12,4 y 13,6 %, el cual se encuentra por debajo del valor máximo recomendado por el Código Alimentario Argentino (14,7 %) (CAA, 2014). El contenido de cenizas de las harinas fue bajo, las muestras presentaron valores inferiores a 0,58 %. La cantidad y calidad de las proteínas presentes en una harina son importantes y guardan relación con su funcionalidad para producir un panificado con ciertas características (Hoseney 1994). Las harinas de trigos blandos presentaron un contenido de proteínas menor al 11 %. Del mismo modo, las muestras de trigos pan HW₄ y Hw₆ obtuvieron valores de proteínas menores al 11 %. Mientras que el porcentaje de proteínas del resto de las harinas de trigo pan fue mayor. Sliwinsky et al. (2004) utilizaron harinas de cultivos europeos y canadienses con un contenido de proteínas que varió entre un 10,3 y 13,5 % para estudiar y relacionar las diferencias en la habilidad panadera de muestras de harina con las propiedades reológicas de masas tipo *puff pastry*.

En general las harinas presentaron altos valores de gluten húmedo. Cabe aclarar que el contenido de gluten determinado por lavado manual ha sido reportado por otros autores (Cesevičienė y Butkutė 2012) como mayor a los valores obtenidos a través del Glutomatic (AACC 38-12.02). Las harinas de trigos blandos Sw₁ y Sw₂ tuvieron los porcentajes de gluten húmedo más bajos, menores a 31 %. Por otro lado, las muestras de trigos pan Hw₄, Hw₆, Hw₈ y Hw₉ presentaron valores de gluten húmedo intermedios y las harinas Sw₃, Hw₅ y Hw₇ tuvieron valores mayores a 37 %. Los

valores de gluten húmedo de las muestras de trigos blandos fueron similares a los resultados informados por Moiraghi (2013) para harina de trigos blandos argentinos (17,9-43,6 %) y por Pasha et al. (2009) para harina de trigos blandos cosechados en primavera (8,1-43,1 %). Kulkarni et al. (1987) trabajaron con harinas de trigos *Hard Red Spring* y obtuvieron valores de gluten húmedo similares (31,0-41,9 %) a los obtenidos en las harinas de trigos pan.

El macropolímero de gluteninas es un gel insoluble en SDS, compuesto de agregados proteicos de alto y bajo peso molecular (HMW y LMW, respectivamente), constituido principalmente por unidades de gluteninas (Don et al. 2003). La determinación del contenido de GMP es importante debido a la relación existente entre algunas de las subunidades de glutenina y ciertos parámetros de calidad del pan y propiedades de la masa. Weegels et al. (1997, 1996) observaron una fuerte relación lineal entre el volumen de pan y el contenido de GMP. La muestra SW2 presentó el menor contenido de GMP, seguida de las harinas de trigos blandos Sw1 y Sw3. El porcentaje de GMP de las harinas de trigos pan fue superior al 3 % y mayor que los valores obtenidos para las harinas de trigos blandos, la muestra HW5 fue la que presentó el mayor contenido. Don et al. (2006) y Steffolani et al. (2007) informaron valores similares de GMP para muestras de harina de trigos pan (0,5-3,6 y 2,0-3,3 %, respectivamente).

Tabla 1.3 Composición de las muestras de harina

Muestra	Humedad (%)	Cenizas (%)	Proteínas (%)	Gluten húmedo (%)	GMP (%)
Sw1	(12,54±0,02) ^a	(0,48±0,01) ^a	(9,2±0,1) ^a	(26,5±0,4) ^a	(2,5±0,4) ^b
Sw2	(12,8±0,1) ^a	(0,52±0,01) ^b	(9,2±0,4) ^a	(30,2±0,5) ^b	(1,4±0,4) ^a
Sw3	(12,7±0,5) ^a	(0,48±0,00) ^a	(10,6±0,3) ^b	(37,2±0,5) ^d	(2,5±0,1) ^b
Hw4	(13,6±0,1) ^b	(0,49±0,01) ^a	(10,3±0,2) ^b	(33,6±0,6) ^c	(3,4±0,5) ^c
Hw5	(13,0±0,2) ^a	(0,51±0,00) ^b	(14,8±0,4) ^d	(47,3±0,5) ^f	(4,5±0,5) ^d
Hw6	(12,4±0,4) ^b	(0,61±0,01) ^d	(10,36±0,07) ^b	(31,1±0,2) ^b	(3,3±0,1) ^c
Hw7	(13,2±0,2) ^a	(0,580±0,001) ^c	(13,2±0,0) ^c	(41,12±0,04) ^e	(3,8±0,2) ^c
Hw8	(13,4±0,1) ^b	(0,50±0,01) ^a	(11,1±0,1) ^b	(31,4±0,9) ^b	(3,8±0,0) ^c
Hw9	(13,1±0,1) ^a	(0,56±0,02) ^c	(11,3±0,3) ^b	(34,3±0,2) ^c	(3,5±0,5) ^c

GMP: Macropolímero de gluteninas. Valores calculados en base húmeda del 14 %. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

La tabla 1.4 muestra los valores de las pruebas de predicción utilizadas para obtener información acerca de la capacidad de las harinas en estudio para producir un panificado de determinadas características. En otros productos panificados las asociaciones entre estas pruebas y la composición de las harinas han sido ampliamente estudiadas y permiten obtener una descripción de los componentes de las muestras y como estos influyen en las características del producto. En harinas utilizadas para la elaboración de pan se han encontrado correlaciones positivas entre el SRC agua y el contenido de almidón dañado y pentosanos solubles de las harinas (de la Horra et al. 2012) y entre el SRC láctico (Xiao et al. 2006) y el volumen de pan. Sapirstein y Suchy (1999) observaron una correlación positiva entre el IS-SDS y el volumen de pan. En el caso de galletitas, se han encontrado correlaciones negativas entre el SRC sacarosa, carbonato de sodio y agua y el factor galletita (Moiraghi et al. 2011). Sin embargo, no hay estudios previos en donde se hayan establecido relaciones entre las pruebas de predicción y los parámetros de calidad de panificados laminados.

El perfil de SRC evalúa la capacidad de una harina para retener cuatro solventes diferentes (agua, sacarosa 50 %, carbonato de sodio 5 % y ácido láctico 5 %) (Guttieri et al. 2002). El ensayo se basa en el principio de solvatación de las harinas, en donde tiene lugar la hidratación específica, según el solvente utilizado, de alguno de los polímeros presentes en el sistema seco de harina. Se relaciona con la termodinámica de la interacción polímero-solvente ya que cada fracción polimérica de la harina se solvata en diferente grado con su respectivo solvente. El SRC guarda relación con las propiedades funcionales de la harina, es decir cualquier propiedad físico-química de los polímeros presentes en el sistema que afecta y modifica algunas características del producto y que contribuye a la calidad final del mismo. Brinda información sobre el grado de desarrollo de la red polimérica y la compatibilidad con el solvente. Esta información se usa para predecir la contribución funcional de cada polímero presente en la harina.

Tabla 1.4 Pruebas de predicción

Muestra	SRC (%)				IS-SDS (mL)
	Ácido Láctico	Sacarosa	Carbonato de sodio	Agua	
Sw1	(115,0±2,0) ^d	(83,3±0,6) ^c	(76,4±3,1) ^a	(53,8±0,4) ^a	(14,0±0,0) ^c
Sw2	(77,37±0,5) ^a	(73,6±0,1) ^b	(69,6±0,4) ^a	(51,3±1,4) ^a	(10,0±0,7) ^a
Sw3	(91,2±3,3) ^b	(58,9±2,6) ^a	(71,9±1,3) ^a	(52,4±1,4) ^a	(11,7±0,3) ^b
Hw4	(124,6±0,9) ^e	(90,5±0,3) ^d	(83,0±1,8) ^b	(67,4±0,5) ^c	(17,0±0,0) ^d
Hw5	(154,2±3,8) ^g	(92,9±4,1) ^d	(86,4±1,0) ^b	(67,4±1,1) ^c	(18,2±0,3) ^e
Hw6	(92,1±1,5) ^b	(94,5±1,8) ^d	(87,1±2,5) ^b	(66,3±1,9) ^c	(13,5±0,0) ^c
Hw7	(115,2±2,1) ^d	(96,3±0,2) ^d	(87,8±1,8) ^b	(69,30±0,03) ^c	(18,0±0,0) ^e
Hw8	(145,2±0,6) ^f	(92,1±0,2) ^d	(82,53±0,07) ^b	(63,1±0,9) ^b	(19,0±0,0) ^f
Hw9	(108,6±0,5) ^c	(90,7±0,3) ^d	(85,1±4,5) ^b	(66,4±1,2) ^c	(17,5±0,0) ^d

SRC: perfil de capacidad de retención de solventes, IS-SDS: índice de sedimentación en dodecil sulfato de sodio. Valores calculados en base húmeda del 14 %. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

El SRC láctico guarda relación con las gluteninas debido a que esta fracción de proteínas tiende a desplegarse e interaccionar cuando el pH del medio es ligeramente ácido. Las condiciones generadas durante la hidratación con la solución de ácido láctico simulan el cambio de pH producido en la fermentación. A mayor contenido de gluteninas mayor grado de hinchamiento experimenta el sistema y por lo tanto la retención de la solución de ácido láctico aumenta. De manera tal que, el SRC láctico constituye un indicador de la fuerza relativa del gluten. En general las muestras de harina de trigos pan presentaron valores de SRC láctico mayores al 115 %, excepto las muestras HW6 y HW9; mientras que las harinas de trigos blandos obtuvieron porcentajes menores. Moiraghi et al. (2005) informó valores similares de SRC láctico para harinas de trigos pan de cultivares argentinos (99,9-121,0 %). Los altos valores de SRC láctico y contenidos de GMP de las muestras de trigos pan (excepto las muestras HW6 y HW9) nos permite asociarlas con harinas capaces de generar una red de gluteninas con una fuerza relativamente grande y por lo tanto de buena calidad (Gaines 2000). Las muestras HW6 y HW9 presentaron los porcentajes de SRC láctico y GMP más bajos dentro del grupo de las harinas de trigos pan, este comportamiento puede asociarse con harinas que tienen una menor capacidad para formar una red de proteínas de buena calidad.

El alto valor de SRC láctico de la muestra Sw1 dentro del grupo de las harinas de trigos blandos puede deberse a un sistema proteico de buena calidad con un contenido relativamente alto de GMP, aunque con baja cantidad de proteínas y gluten. La harina Sw3 presento un valor de SRC láctico intermedio, con un contenido relativamente alto

de GMP y gluten para una harina de trigo blando y bajo contenido de proteínas. Esto se puede asociar con una harina de bajo contenido proteico pero con capacidad de formar una red proteica de buena calidad. Por otro lado, la muestra Sw2 presentó el menor valor de SRC láctico y bajos contenidos de GMP, proteínas y gluten húmedo. Por lo que el comportamiento de esta muestra sugiere la presencia en la masa de una red proteica de baja calidad.

Cuando se hidrata una muestra de harina con una solución de sacarosa se produce el hinchamiento de la red de arabinosilanos debido a la afinidad entre la cadena principal de xilosa y sacarosa. El SRC sacarosa se relaciona principalmente con el contenido de pentosanos y con las características de las gliadinas (Gaines 2000). Las muestras de harina de trigos pan presentaron valores de SRC sacarosa mayores a 90 %, mientras que las harinas de trigos blandos obtuvieron menores porcentajes. Esto indica que las harinas de trigos pan poseen un mayor contenido de gliadinas y pentosanos que las harinas de trigos blandos. Colombo et al. (2008) y Xiao et al. (2006) informaron valores de SRC sacarosa mayores a 95,11 % para harina de trigos pan argentinos y trigos duros cosechados en invierno en Estados Unidos de América (*Hard Red Winter*), respectivamente.

Durante el proceso de molienda de los granos de trigo, se fracciona y se tritura el endospermo y por lo tanto se lesionan físicamente algunos gránulos de almidón, produciendo lo que se denomina como almidón dañado (Manley 1989). La intensidad del daño depende de la fuerza con que se realiza la molienda y de la dureza del grano (Hoseney 1994). La determinación del nivel de almidón lesionado es importante ya que aporta una idea significativa de la capacidad de hidratación de una harina. El almidón dañado absorbe entre un 200 y 430 % de su peso en agua (Drapron y Godon 1987), mientras que los gránulos sanos absorben entre 39 y 87 %. Sin embargo, un cierto nivel de almidón dañado es necesario, ya que se presenta más susceptible al ataque de las amilasas y por lo tanto promueve la presencia de glúcidos de bajo peso molecular. Estos afectan la capacidad de absorción de agua y contribuyen con el poder de gasificación de la masa, la textura de la miga y el color de la corteza. Mientras que un alto porcentaje de almidón lesionado incrementa la cantidad de agua necesaria para la consistencia óptima de la masa (Manley 1989). Cuando una muestra de harina es hidratada con una solución de carbonato de sodio el pH del medio aumenta hasta 12 y resulta mayor a la fuerza de disociación (pKa) de los grupos hidroxilos presentes en el almidón. Bajo estas condiciones el almidón dañado puede ser fácilmente solvatado por la solución de carbonato de sodio presentando un exagerado hinchamiento. El SRC carbonato permite distinguir entre el almidón dañado y el nativo. Las muestras de trigos blandos presentaron menores valores de SRC carbonato que las harinas de trigos pan, lo que indica que estas últimas tuvieron un mayor contenido de almidón dañado.

El agua es el solvente de referencia en el SRC ya que posee la capacidad de hidratar, en diferentes grados, los componentes poliméricos presentes en la harina. El SRC agua se relaciona con la presencia de almidón dañado, proteínas totales, gluten y pentosanos solubles. Las harinas de trigos pan obtuvieron mayores valores de SRC agua que las muestras de trigos blandos. Los valores de SRC agua para las muestras de trigos blandos fueron similares a los informados por Moiraghi et al. (2011) para trigos blandos argentinos. Los resultados obtenidos coinciden con lo observado por Xiao et al. (2006), por lo que indican una mayor capacidad de las harinas de trigos pan para retener agua.

El índice de sedimentación en SDS determina la capacidad de hidratación y expansión de las proteínas en un medio ligeramente ácido mediante la medición del volumen de sedimentación de una suspensión de harina. El SDS se adiciona con el objetivo de desnaturar las proteínas a través de la ruptura de las uniones no covalentes. El SDS

se une a las proteínas por interacciones entre los grupos sulfato y las cadenas de aminoácidos con cargas positivas y entre las regiones hidrofóbicas. La unión entre el SDS y las proteínas le otorga al sistema carga negativa proporcional al peso molecular de las proteínas. Estas partículas coloidales cargadas negativamente se repelen. Al adicionar ácido láctico las cargas negativas se neutralizan y las partículas coloidales se asocian formando flóculos que sedimentan. El IS-SDS se utiliza como indicador de la calidad panadera de las harinas. Este índice está asociado con la calidad y cantidad de las proteínas del gluten y la capacidad del mismo para formar una red de buenas características y en consecuencia desarrollar un producto esponjoso. Las harinas de trigos pan presentaron mayores valores para el IS-SDS que las muestras de trigos blandos. Esto se asocia con una mayor capacidad de formar una red de proteínas con características que le permitan retener el gas durante la fermentación. Colombo et al. (2008) informaron valores similares para el IS-SDS (11,75-19,25 %) en harinas de trigos pan argentinos. La muestra Hw6 presentó el menor volumen de sedimentación entre las harinas de trigos pan lo cual puede relacionarse a su bajo contenido de proteínas totales y a la mala calidad de la red de gluteninas. Los valores de IS-SDS para las muestras de trigos blandos siguieron la misma tendencia que los porcentajes de SRC láctico. La muestra Sw1 obtuvo el mayor volumen de sedimentación, seguida de Sw3 y Sw2.

Se observaron diferencias en la composición y calidad de las harinas obtenidas de diferentes tipos de trigos. Las harinas de trigos pan, excepto Hw6 y Hw9, se caracterizaron por una buena calidad proteica con mayores contenidos de proteínas, gluten húmedo y GMP que las harinas de trigos blandos y mayor capacidad para formar una red de gluten con buenas propiedades mecánicas. La totalidad de las muestras de harina de trigo pan presentó mayores cantidades de componentes hidrofílicos capaces de retener agua que las harinas de trigos blandos.

El análisis del comportamiento del almidón durante el proceso de calentamiento/enfriamiento permite evaluar los cambios de viscosidad que sufre una suspensión de harina en agua al ser sometida a una fuerza de cizalla controlada y bajo condiciones variables de velocidad de corte y temperatura. Los cambios que sufre la muestra se relacionan con la gelatinización y la retrogradación del almidón y muchos autores han informado el efecto de esos cambios en las propiedades de expansión de las masas panarias durante el horneado y sobre las características de los panificados durante el almacenamiento.

Los valores de los parámetros obtenidos a partir del perfil de viscosidad de las harinas se observan en la tabla 1.5. Las muestras de trigos pan presentaron valores de temperatura de *pasting* menores a las harinas de trigos blandos. Al inicio del ensayo se produce un incremento gradual de la temperatura durante el cual el gránulo de almidón comienza a absorber agua y se hincha. Para alcanzar el máximo hinchamiento, las fracciones almidonosas de las harinas de trigos pan requirieron menor temperatura que las muestras de harinas de trigos blandos. Moiraghi (2013) reportó temperaturas de *pasting* similares para harinas de trigos blandos argentinos cosechados en 2006 y 2007 (valor promedio= 86,56 °C y 84,19 °C, respectivamente).

Cuando un número suficiente de gránulos de almidón se hincha por la absorción de agua y el aumento de temperatura se produce un aumento de la viscosidad, dando lugar a la viscosidad de pico. Luego de alcanzar la viscosidad máxima, la resistencia que opone el sistema a la deformación disminuye levemente debido a la ruptura de algunos gránulos y a que las moléculas, principalmente de amilosa, liberadas al medio durante la gelatinización se orientan en sentido del flujo. La viscosidad en este punto es denominada viscosidad media. El ensayo continúa con el enfriamiento del sistema, lo cual produce un aumento de la viscosidad alcanzando la viscosidad final. Las bajas temperaturas favorecen el proceso irreversible de retrogradación del almidón durante

el cual se establecen enlaces intermoleculares entre las cadenas de amilosa y amilopectina, amilosa y gránulo de almidón y entre los gránulos. A medida que se establecen estas interacciones el agua es desplazada y se promueve el cambio de un estado soluble a uno insoluble, que no presenta hinchamiento y posee características microcristalinas. La diferencia entre la viscosidad máxima y la viscosidad media, llamada *breakdown*, es una medida de la facilidad con que los gránulos hinchados pueden ser desintegrados por acción de las fuerzas de corte y la temperatura. La tendencia de las cadenas de amilosa para reordenarse y retrogradar durante el enfriamiento del sistema se cuantifica a través del *setback*.

Tabla 1.5 Parámetros del perfil de viscosidad de las muestras de harina

Muestra	TP (°C)	VP (cP)	VM (cP)	VF (cP)	BD (cP)	SB (cP)
Sw1	86,4 ^b	2869,0 ^d	1677,0 ^c	3421,0 ^d	86,4 ^b	1744,0 ^c
Sw2	86,0 ^b	3004,5 ^d	1809,0 ^d	3625,0 ^e	86,0 ^b	1816,0 ^d
Sw3	86,8 ^b	2558,5 ^c	1728,5 ^c	3654,5 ^e	86,8 ^b	1926,0 ^e
Hw4	66,1 ^a	3320,0 ^e	2051,0 ^e	3916,0 ^f	66,1 ^a	1865,0 ^d
Hw5	66,1 ^a	2707,0 ^c	1907,0 ^d	3647,0 ^e	66,1 ^a	1740,0 ^c
Hw6	66,9 ^a	2169,5 ^a	984,0 ^a	2361,0 ^a	66,9 ^a	1377,0 ^a
Hw7	66,5 ^a	2597,0 ^c	1623,5 ^c	3251,0 ^c	66,5 ^a	1627,5 ^b
Hw8	67,4 ^a	3216,0 ^e	2006,5 ^e	3877,5 ^f	67,4 ^a	1871,0 ^d
Hw9	67,3 ^a	2343,5 ^b	1287,0 ^b	2947,5 ^b	67,3 ^a	1660,5 ^b

TP: temperatura de *pasting*, VP: viscosidad de pico, VM: viscosidad media, VF: viscosidad final, BD: *breakdown*, SB: *setback*. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Las harinas de trigos blandos Sw1 y Sw2 presentaron altos valores de viscosidad de pico, viscosidad final, *breakdown* y *setback*. Estas muestras mostraron una gran capacidad de ligar agua a medida que aumentó la temperatura y por lo tanto los gránulos de almidón presentaron un elevado grado de hinchamiento. Mientras la temperatura se mantuvo constante los gránulos presentaron una gran facilidad para desintegrarse por la acción de las fuerzas de cizalla. Cuando la temperatura disminuyó mostraron una gran resistencia final a la fuerza de cizalla, lo cual puede relacionarse con un gran reordenamiento de las cadenas de amilosa. Por otro lado, las harinas de trigos pan Hw4 y Hw8 mostraron altos valores de viscosidad de pico, viscosidad final y *setback* y bajos valores de *breakdown*. El comportamiento de estas muestras se caracterizó por una gran capacidad de ligar agua. Sin embargo, los gránulos de almidón hinchados presentaron gran resistencia a ser desintegrados por las fuerzas de cizalla. Durante el enfriamiento las cadenas de amilosa tendieron a reordenarse y retrogradar en gran manera. Las harinas de trigos pan Hw6 y Hw9 presentaron bajos valores de viscosidad de pico, viscosidad final, *breakdown* y *setback*. Estas harinas mostraron una bajo nivel de hinchamiento de los gránulos de almidón y baja sensibilidad a la ruptura por las fuerzas de corte. Cuando disminuyó la temperatura, las cadenas de amilosa presentaron poca tendencia a reordenarse y retrogradar.

Las tendencias observadas en los parámetros del perfil de viscosidad de las muestras deben analizarse en función de los componentes presentes en las harinas. Muchos autores han demostrado que hay fuertes correlaciones entre las propiedades de *pasting* de las harinas y la actividad de α -amilasas y el contenido de almidón dañado, pentosanos y amilosa (Sasaki et al. 2000, León et al. 2006). Las muestras presentaron correlaciones negativas entre la temperatura de *pasting* y los SRC sacarosa, carbonato y agua ($r = -0,86$, $r = -0,91$ y $r = -0,97$, $p \leq 0,05$). Esta relación es opuesta a la tendencia observada por Sasaki et al. (2000), quienes informaron que al aumentar el contenido de pentosanos capaces de absorber agua, la capacidad de los gránulos de almidón para hincharse disminuye y se requiere una temperatura de *pasting* mayor. En menor medida otros componentes, como la fracción proteica, influyen en el perfil de

viscosidad de la suspensión de harina (Fitzgerald et al. 2003). Se encontraron correlaciones negativas y significativas entre la temperatura de *pasting* y el contenido de proteínas, GMP y gluten húmedo de las harinas ($r=-0,56$, $r=-0,83$ y $r=-0,49$; $p\leq 0,05$). Singh et al. (2011) reportó una correlación negativa entre el contenido de proteínas y la temperatura de *pasting* de harinas de cultivos de la India. El *breakdown* presentó una correlación negativa con el contenido de proteínas y gluten húmedo ($r=-0,73$ y $r=-0,75$; $p\leq 0,05$). Esta relación puede deberse a una cierta estabilidad del sistema debido a la influencia de las proteínas desnaturalizadas, las cuales refuerzan la estructura de la matriz conformada por el gel de amilosa y los gránulos hinchados que contienen amilopectina; e inhiben el comportamiento tixotrópico del almidón (Singh et al. 2011).

1.2.2 Propiedades estructurales de las piezas de masa laminadas

Durante la formación de una masa ocurren ciertos procesos físicos que se relacionan principalmente con las características de los componentes presentes y las condiciones del medio. Uno de los procesos que tiene lugar es la hidratación de la harina, luego con la incorporación de energía durante el amasado, se promueve la formación de la red de gluten. Esta red tridimensional de proteínas posee embebidos en su matriz otros componentes no proteicos como gránulos de almidón y arabinosanos. En formulaciones de alto contenido graso se cuenta además con un plastificante adicional, la materia grasa. Conjuntamente el agua y la materia grasa participan de procesos de solvatación y lubricación de las interfaces entre los componentes. Durante el amasado se generan interacciones entre las proteínas y entre las proteínas y el agua que otorgan al sistema propiedades viscoelásticas. Estas se expresan luego en la capacidad de la masa para soportar ciertos procesos y se relacionan con su habilidad para generar productos panificados con determinadas características estructurales.

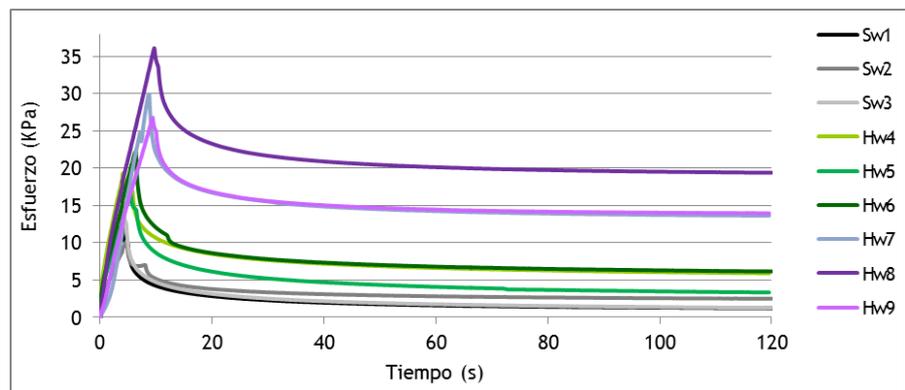


Figura 1.5 Perfil de relajación de las masas laminadas elaboradas con harina de diferentes tipos de trigo

Las curvas de esfuerzo en función del tiempo para masas laminadas elaboradas con harinas de diferentes tipos de trigo se observan en la figura 1.5. Los perfiles de relajación de las muestras mostraron el comportamiento viscoelástico típico de masas de harina de trigo. Se distinguen dos regiones principales, la parte inicial que presenta una gran pendiente (deformación) y la segunda porción con una menor pendiente que tiende al equilibrio (relajación), dando cuenta de la contribución de ambas componentes elástica y viscosa. Entre estas dos zonas se observa una región que da cuenta de un comportamiento intermedio. Las masas de harinas de trigos pan Hw8, Hw9 y Hw7 necesitaron un mayor esfuerzo para alcanzar la misma deformación que las demás masas laminadas de harina de trigos pan y trigos blandos. A su vez las

masas elaboradas con Hw6, Hw4 y Hw5 requirieron un mayor esfuerzo que las muestras de trigos blandos para lograr la misma deformación. Esto indica que las masas de harinas de trigos pan Hw8, Hw9 y Hw7 fueron sistemas laminados que ante una deformación presentaron la mayor consistencia, seguidas de las masas de Hw6, Hw4 y Hw5. Las masas elaboradas con harinas de trigos blandos fueron los sistemas con menor consistencia ante una deformación aplicada. Li et al. (2003) y Safari-Ardi et al. (1998) evaluaron masas de harinas de cultivares de trigos ingleses y australianos, respectivamente; y observaron un comportamiento similar para masas de trigo panadero y trigo blando.

Los parámetros obtenidos mediante el ajuste de las curvas de relajación de las muestras se observan en la tabla 1.6. Las masas elaboradas con Hw9, Hw8 y Hw7 presentaron los mayores valores de módulo elástico, lo cual puede asociarse con sistemas más rígidos (Peleg 1987). La masa elaborada con Sw1 fue el sistema con menor rigidez ante la deformación aplicada, mientras que el resto de las muestras presentaron un comportamiento intermedio. Se observaron diferencias en la respuesta de las muestras una vez retirada la deformación, se obtuvieron tiempos de relajación y módulos elásticos en el equilibrio significativamente diferentes. El tiempo de relajación es considerado característico de cada sistema y un parámetro estructural ya que se asocia con la rigidez de un sistema y permite diferenciarlo de otro (Rao et al. 2001). Las masas de harinas de trigos pan y la muestra Sw3 presentaron tiempos de relajación mayores que las masas de Sw1 y Sw2. Esto indica que las masas harinas de trigos pan y de Sw3 tardaron más tiempo en relajarse, lo cual puede permitir asociarlas con masas más estructuradas y con un mayor comportamiento de sólido viscoelástico (Steffe 1996).

Tabla 1.6 Parámetros del ajuste del modelo de relajación para masas laminadas

Muestra	E_1 (kPa)	t_r (s)	ϵ_0	η (kPa.s)
Sw1	(9,3±1,8) ^a	(7,1±0,5) ^a	(5,4±0,8) ^a	(97,1±5,9) ^a
Sw2	(17,4±2,1) ^b	(7,1±0,3) ^a	(6,8±1,0) ^a	(94,1±8,8) ^a
Sw3	(18,7±2,4) ^b	(9,1±0,2) ^b	(5,9±0,3) ^a	(133,4±10,6) ^b
Hw4	(20,4±2,7) ^b	(9,2±0,7) ^b	(14,7±2,5) ^b	(148,6±11,1) ^c
Hw5	(19,2±0,4) ^b	(10,3±0,6) ^c	(11,5±0,8) ^b	(203,3±12,1) ^c
Hw6	(21,7±0,2) ^b	(9,0±0,8) ^b	(14,43±0,03) ^b	(179,3±10,6) ^c
Hw7	(25,5±2,7) ^c	(8,7±0,7) ^b	(36,4±2,7) ^c	(201,6±1,2) ^c
Hw8	(26,9±2,4) ^c	(8,4±0,5) ^b	(44,1±0,3) ^c	(197,5±21,1) ^c
Hw9	(25,4±4,0) ^c	(8,32±0,03) ^b	(37,5±2,4) ^c	(194,6±12,0) ^c

E_1 = módulo elástico, ϵ_0 = módulo elástico en el equilibrio, t_r = tiempo de relajación, η = viscosidad. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Luego de transcurrido un tiempo considerable el sistema se relaja por completo y alcanza un estado de equilibrio que puede cuantificarse en términos de la magnitud del módulo elástico en equilibrio (ϵ_0). Las muestras evaluadas presentaron valores de ϵ_0 distintos de cero, lo cual indica la presencia de la componente elástica en el proceso de relajación de las masas. Las masas Hw9, Hw8 y Hw7 presentaron mayores valores del módulo elástico de relajación, seguidas de las muestras Hw6, Hw4 y Hw5. Las masas de harinas de trigos blandos mostraron los menores valores de ϵ_0 . Esta tendencia indica que las masas de trigos blandos fueron los sistemas más desestructurados luego de la deformación y relajación. Por otro lado, las masas de trigos pan presentaron una mayor recuperación, lo cual indica que la estructuración del sistema fue tal que le permitió a la masa tolerar mejor la deformación. Las masas de harinas de trigos pan presentaron mayor resistencia a fluir, mientras que las masas de harinas de trigos blandos obtuvieron menores valores de viscosidad.

Las masas laminadas elaboradas con harinas de trigos pan presentaron en general mayor resistencia a la deformación que las masas laminadas de trigos blandos (figura 1.6). Las muestras Hw9, Hw7, Hw8 y Hw7 obtuvieron valores de resistencia frente a la deformación aplicados mayores a 15 N, mientras que las muestras de trigos blandos presentaron valores menores a 10 N. Se encontró una correlación positiva y significativa ($r= 0,72$; $p\leq 0,05$) entre la viscosidad de las masas y la resistencia a la deformación. Esto indica que las masas que tuvieron mayor resistencia a fluir durante la relajación presentaron una estructura estratificada en láminas más resistente a la deformación.

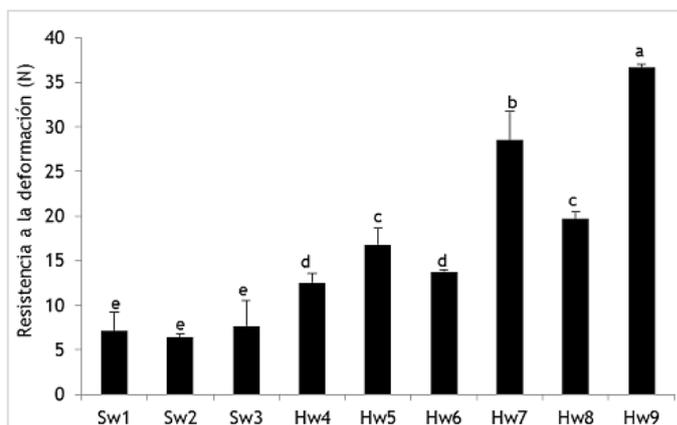


Figura 1.6 Resistencia a la deformación de masas laminadas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p\leq 0,05$).

1.2.3 Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados

Algunos autores han reportado la utilización de ciertos parámetros de calidad en productos de tipo *puff pastry*, como la determinación de los cambios de tamaño que sufre la pieza de masa durante el horneado (encogimiento, crecimiento vertical) y el volumen específico del producto después del horneado (Renzetti et al. 2016, Wickramarachchi et al. 2015, Sliwinski et al. 2004, Hay 1993). En términos generales la bibliografía describe que un producto tipo *puff pastry* es de buena calidad si experimenta un crecimiento vertical considerable durante el horneado, presenta láminas en su interior y posee un gran volumen específico.

Sin embargo, la mayoría de los autores que trabajan en este tipo de sistemas realizan la evaluación de la estructura interna de manera cualitativa y no llevan a cabo un análisis sistemático de los resultados de manera que permitan un abordaje estadístico de los mismos. Por otro lado, la falta de correlaciones entre los parámetros de calidad de productos *puff pastry*, como los modelos predictivos del volumen específico a partir de los componentes proteicos de una harina, pone en evidencia que los criterios utilizados para definir la calidad del pan no son válidos en el contexto de panificados laminados (Hay 1993). En el caso de productos laminados salados cuya producción involucra un leudado con levaduras no se han encontrado trabajos que establezcan parámetros para describir la calidad de este tipo de productos. En este contexto se determinaron una serie de parámetros de calidad de productos laminados salados de manera tal de encontrar la mayor cantidad de correlaciones posibles entre las características de las harinas empleadas y el producto final que permitan predecir la calidad del panificado.

La evaluación de la habilidad de las muestras de harina de diferentes tipos de trigo para producir panificados laminados se realizó mediante la elaboración de los

productos (figura 1.7) y la valoración de su calidad tecnológica. La vista lateral y superior de los panificados permite apreciar diferencias en el aspecto entre los panificados elaborados con harinas de diferentes tipos de trigo. La vista superior de las muestras con trigos blandos revela como los panificados parecen haber crecido lateralmente hacia los costados perdiendo la forma otorgada inicialmente al producto durante la elaboración. Por otro lado, las imágenes de la vista superior de los panificados de harinas de trigos pan demuestran como las muestras no modificaron en gran medida su forma original, ya que en la mayoría de los casos no se observó que el producto se haya expandido en dirección vertical. La vista lateral de los panificados de harinas de trigo pan muestra una estructura estratificada en láminas, en donde se aprecian capas alineadas horizontalmente. Mientras que en los productos de trigos blandos se observa una estructura discontinua, en donde las capas están fusionadas formando un estrato grueso y poco uniforme.

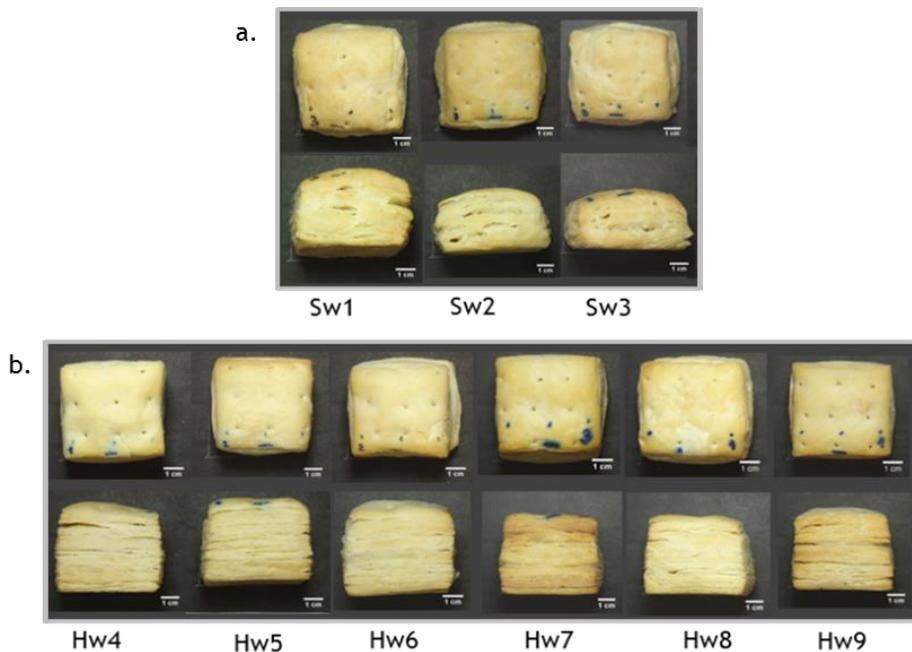


Figura 1.7 Panificados laminados salados de harina de trigo. a. Productos con harinas de trigos blandos. b. Productos con harinas de trigos pan

El cambio conformacional que experimentó la pieza de masa durante el proceso de elaboración se evaluó a través de las dimensiones de la pieza de masa (altura, ancho y largo), al inicio y finalización de la fermentación y sobre el producto final luego de 1 h de horneado. La figura 1.8 muestra los valores de altura de los panificados a diferentes tiempos del proceso de producción. Al inicio de la fermentación las piezas de masa laminadas de trigos pan presentaron valores de altura levemente mayores a las muestras de trigos blandos, excepto Hw4. Esto indica que si bien las piezas fueron tratadas de igual manera, es decir el espesor de la masa se ajustó mediante rodillo a 1,5 cm, sus propiedades de elasticidad fueron diferentes. Por lo tanto, la estructura laminada de las muestras de trigos blandos soportó en menor medida el laminado y presentó una altura final levemente menor a 1,5 cm. Al finalizar el período de fermentación las muestras de trigos pan fueron más altas que las piezas de trigos blandos.

Con el objetivo de evaluar la magnitud del crecimiento en dirección vertical de las piezas desde el inicio de la fermentación hasta la finalización del horneado se determinó la relación de altura. Las piezas Hw4 y Hw5 mostraron valores de relación

de altura significativamente mayores al resto de las muestras (tabla 1.7), es decir, que fueron las muestras que más crecieron durante el proceso de producción. Sin embargo, al finalizar el horneado los productos con harinas de trigos pan fueron más altos que los de harinas de trigos blandos (figura 1.8). El mayor crecimiento en dirección vertical observado en las piezas con HW₄ y HW₅ fue consecuente con la menor consistencia y resistencia a la deformación de estas masas dentro del grupo de muestras elaboradas con harinas de trigos pan. Estas características reológicas le otorgaron al sistema menor resistencia para fluir frente a la presión ejercida por el dióxido de carbono generado en la fermentación y el vapor de agua durante el horneado; y por lo tanto crecieron verticalmente en mayor medida. Por otro lado, las masas de trigos blandos fueron las menos consistentes y sus productos mostraron los menores valores de relación de altura. Esto revela que no experimentaron un gran crecimiento, debido probablemente a una estructura débil y con menor capacidad de generar laminas que contengan a los gases responsables de la expansión vertical. Por lo tanto, es necesario encontrar un equilibrio en las propiedades reológicas de la masa, que permitan obtener una estructura fortalecida con capacidad de resistir el proceso de laminado y hojaldrado y expandirse verticalmente durante el horneado.

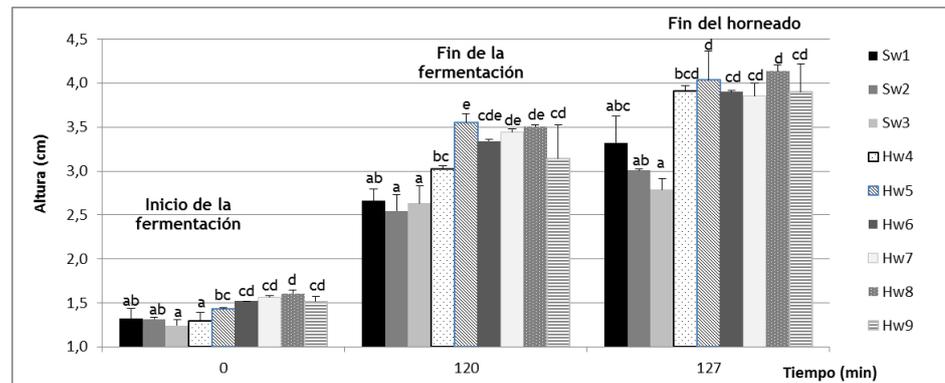


Figura 1.8 Crecimiento vertical de los panificados laminados salados de harina de trigo

En cuanto a la magnitud de la expansión lateral de las piezas desde el inicio de la fermentación hasta la finalización del horneado, los productos con harinas de trigos blandos presentaron mayores valores para la relación de ancho que las piezas de trigos pan (tabla 1.7). Esto indica que durante el proceso de producción las estructuras de las piezas elaboradas con harinas de trigos pan fueron las que se expandieron lateralmente en menor medida. El factor de forma es un parámetro de calidad cuya magnitud está determinada por las tres dimensiones que caracterizan al producto horneado y se relaciona con su simetría. Los panificados de harinas de trigos pan presentaron mayores valores del factor de forma que las muestras de trigos blandos (tabla 1.7). Esto indica que las piezas elaboradas con harinas de trigos pan presentan al finalizar el horneado una mayor altura, o menor ancho y largo que los productos de trigos blandos.

No se observaron diferencias significativas en los valores de volumen específico de los panificados, únicamente la muestra Hw6 presentó un valor significativamente mayor al resto (tabla 1.7). Si bien en el caso de productos del tipo *puff pastry* algunos autores sostienen que una buena calidad tecnológica está asociada a altos valores de volumen específico, en productos laminados salados que han experimentado una fermentación con levadura el volumen específico no permite diferenciar la calidad de las piezas. Por lo que es necesario considerar simultáneamente varios parámetros relacionados a la conformación estructural de los productos para poder describir su calidad. Las

cortezas de los productos elaborados con harinas de trigos pan mostraron valores de L^* mayores a las muestras con harinas de trigos blandos, excepto Hw6 (tabla 1.7). Esto indica que los panificados de harinas de trigos pan presentaron cortezas más claras. Las muestras presentaron valores positivos para el parámetro a^* , Sw2 fue la que mostro mayor intensidad del color rojo, mientras que el resto de las muestras no se diferenciaron entre sí. Los valores del parámetro b^* fueron positivos y no se observaron diferencias significativas en la intensidad del color amarillo entre las cortezas de las muestras.

Tabla 1.7 Parámetros de calidad tecnológica de panificados laminados salados

Muestra	Rh	Ra	FF	VE (g/cm ³)	L^*	a^*	b^*
Sw1	(2,3±0,3) ^a	(1,11±0,02) ^b	(0,6±0,1) ^a	(3,7±0,2) ^a	(74,50±0,1) ^a	(3,8±0,2) ^a	(29,5±0,9) ^a
Sw2	(2,3±0,1) ^a	(1,15±0,07) ^b	(0,54±0,04) ^a	(3,2±0,1) ^a	(74,3±0,4) ^a	(6,5±0,2) ^b	(34,0±0,5) ^a
Sw3	(2,3±0,2) ^a	(1,14±0,04) ^b	(0,52±0,06) ^a	(2,7±0,1) ^a	(73±1) ^a	(4±1) ^a	(32±2) ^a
Hw4	(2,8±0,3) ^b	(1,02±0,03) ^a	(0,7±0,1) ^b	(3,4±0,3) ^a	(76,1±0,2) ^b	(2,7±0,1) ^a	(30±1) ^a
Hw5	(2,80±0,05) ^b	(1,02±0,03) ^a	(0,81±0,02) ^b	(3,12±0,08) ^a	(76,3±0,2) ^b	(3,09±0,01) ^a	(32±1) ^a
Hw6	(2,6±0,2) ^a	(1,05±0,01) ^a	(0,77±0,02) ^b	(4,0±0,8) ^b	(72,6±0,6) ^a	(3,4±0,3) ^a	(31±2) ^a
Hw7	(2,4±0,3) ^a	(1,00±0,02) ^a	(0,75±0,08) ^b	(3,48±0,08) ^a	(75,1±0,1) ^b	(3,6±0,2) ^a	(32±2) ^a
Hw8	(2,57±0,01) ^a	(1,1±0,0) ^a	(0,8±0,0) ^b	(3,62±0,01) ^a	(76±1) ^b	(4±2) ^a	(33±2) ^a
Hw9	(2,5±0,2) ^a	(1,01±0,01) ^a	(0,77±0,06) ^b	(3,3±0,3) ^a	(75,60±0,04) ^b	(4,36±0,04) ^a	(32±1) ^a

Rh: relación de altura, Ra: relación de ancho, FF: factor de forma, VE: volumen específico, L^* y a^* : parámetros de color. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

El fortalecimiento de la estructura de la masa de productos como el pan dificulta la expansión durante el horneado, mientras que en masas laminadas el refuerzo de la estructura tiene el efecto contrario. La conformación estructural en dos dimensiones de la masa laminada facilita el crecimiento en dirección vertical en relación a la masa de pan, en donde el sistema deber ser consolidado en tres dimensiones (Gujral et al. 2000). Cabe aclarar que la expansión vertical de la estructura laminada está influenciada por diversos factores. El fortalecimiento excesivo de la masa, la presencia de pocas láminas, la interrupción de su continuidad y su distribución heterogénea a lo largo de la estructura tienen un efecto negativo.

Algunos autores han observado que la calidad tecnológica de las masas laminadas tipo *puff pastry* está fuertemente asociada con la formación de una estructura homogénea de capas alternadas de masa y materia grasa (Renzetti et al. 2016). El progresivo laminado de la masa promovió un aumento gradual de su elasticidad y consistencia, debido a un efecto estructural dependiente del tipo de materia grasa empleada. Estos autores obtuvieron que los sistemas que más crecieron durante el horneado generaron productos de mayor altura y volumen y menor firmeza. De la misma forma, Simovic et al. (2009) al evaluar el efecto de la utilización de diferentes materias grasas en panificados *puff pastry*, asociaron bajos valores de firmeza con productos de buena calidad tecnológica.

Sin embargo, en este trabajo en donde se evaluó el efecto de ciertos cambios sobre la estructura de las capas de masa y concomitantemente sobre el producto, asociados a las características de las harinas no se observó la misma tendencia. Los productos de harinas de trigo pan presentaron valores de firmeza de la estructura interna mayores a 9 N mientras que las muestras de trigos blandos mostraron valores menores (figura 1.9). Esto indica que la estructura laminada de los panificados de trigos pan fue más firme. La muestra Hw7 presentó la estructura más firme obteniendo el mayor valor de este parámetro textural para productos de tipo *puff pastry* con un 35 % de materia grasa y 15 min de reposo. Los productos elaborados con harinas de trigos blandos y la

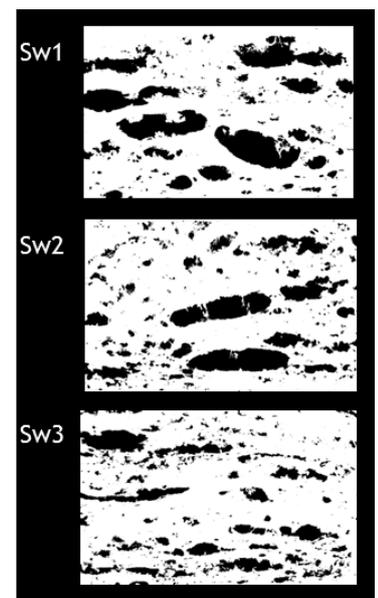


Figura 1.10 Imágenes binarizadas de la estructura interna de panificados laminados de harinas de trigos blandos

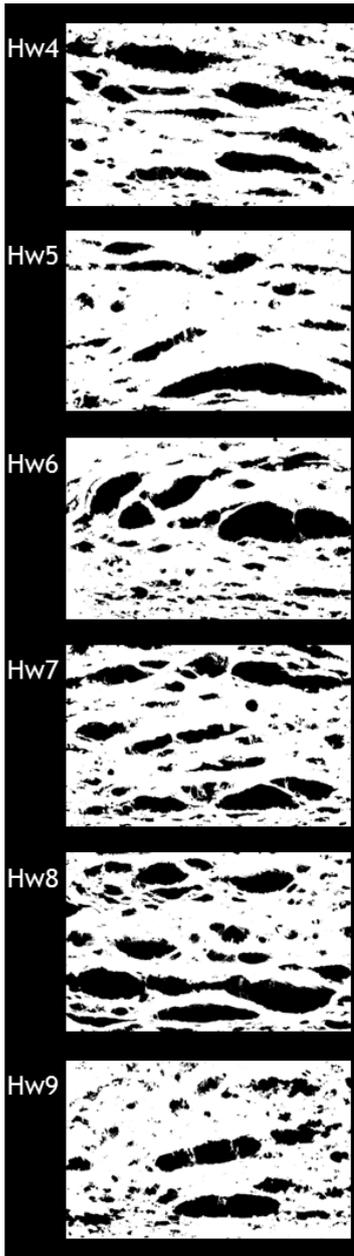


Figura 1.11 Imágenes binarizadas de la estructura interna de panificados laminados de harinas de trigos pan

muestra de trigo pan Hw6 obtuvieron valores de firmeza de la corteza menores a 25 N; mientras que las muestras de trigos pan mostraron valores superiores a 25 N (figura 1.9). Esto indica que los productos de trigos blandos presentaron estructuras más blandas que los panificados de harinas de trigos pan.

En productos como el pan se busca que el panificado presente una firmeza baja ya que es indicativo de una miga tierna y esponjosa. En productos laminados salados con fermentación se espera que la estructura laminada presente características de firmeza tales que le permita al sistema soportar las condiciones de elaboración y experimentar un crecimiento vertical manteniendo la simetría y sin demasiada expansión lateral. Hay (1993) evaluó el efecto de las características de diferentes harinas en la calidad tecnológica de productos tipo *puff pastry* e informó sobre la necesidad de masas con propiedades reológicas combinadas, como una gran extensibilidad y una moderada alta resistencia a la extensión para obtener panificados altos y de mayor volumen. Sin embargo, estos autores no evaluaron el efecto del fortalecimiento de la masa sobre las propiedades de textura del producto. Los resultados obtenidos en este capítulo indican que el fortalecimiento de la estructura de la masa laminada genera productos de mayor altura, que crecen verticalmente en mayor medida y son más firmes; como es el caso de las muestras elaboradas con harinas de trigo pan en relación a las de trigos blandos. Sin embargo, cabe aclarar que el refuerzo de la masa por encima de un cierto nivel dificulta la expansión vertical. Por otro lado, la resistencia que opone una estructura conformada por múltiples láminas ante una fuerza normal, como la que se aplica para medir firmeza, parece ser mayor que la que ofrece una estructura alveolada, como la de un pan.

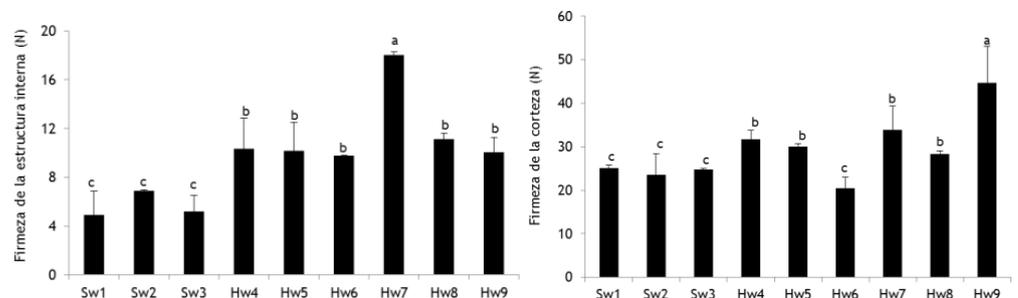


Figura 1.9 Firmeza de la estructura interna y de la corteza de los panificados laminados. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

El efecto de la utilización de harinas de diferentes tipos de trigo sobre la conformación de la estructura interna de los panificados se evaluó mediante un análisis textural de imágenes. A partir de este ensayo se obtuvieron parámetros que permiten caracterizar la estructura interna en términos de textura (tabla 1.8). Las muestras elaboradas con harinas de trigos blandos presentaron estructuras internas con alveolos distribuidos de manera irregular, en donde las muestras Sw1 y Sw2 mostraron alveolos de mayor tamaño que Sw3 (figura 1.10). Por otro lado, en los productos elaborados con harinas de trigos pan se observa la presencia de espacios vacíos de conformación alargada, lo cual indica la formación previa de láminas de masa (figura 1.11).

Las muestras no presentaron diferencias significativas en la uniformidad. Sin embargo, al evaluar la homogeneidad, la cual es considerada como una medida de la uniformidad textural; las muestras Sw1 y Hw7 presentaron estructuras internas significativamente más homogéneas. El resto de los productos mostraron estructuras más irregulares. Si bien el análisis textural propone dos parámetros para medir la

uniformidad de una imagen, en este caso la homogeneidad permitió diferenciar las muestras analizadas.

En un análisis de imagen del interior de productos panificados por lo general los objetos de estudio son los poros, cuya geometría por ejemplo en el caso del pan se asocia a una circunferencia. El caso de productos de tipo *Danish pastry* se han analizado parámetros como la dimensión fractal y se han reportado diferencias con respecto al pan, sin embargo la forma de los poros se asemeja también a un círculo (Farrera-Rebollo et al. 2011). En el caso de productos laminados los objetos de estudio son los espacios delimitados por las capas de masa, los cuales presentan una forma más bien alargada y se alejan de estar representados por círculos. En un sistema ideal con una estructura porosa de distribución regular (figura 1.12.a) se espera que la variación de la escala de grises entre los píxeles de una ROI sea mayor que la de un sistema laminado (figura 1.12.b), con espacios entre capas de mayor dimensión que un poro. Esta variación local en la escala de grises de los píxeles de la imagen constituye una medida del contraste de la región. Un alto valor de contraste indica una alta variación en la escala local de grises (Park y Chen 2001). Los distintos arreglos estructurales que puede presentar un sistema en cuanto a distribución, cantidad y dimensión de los objetos de estudio influyen en el valor del contraste que presentan los píxeles de una ROI.

Tabla 1.8. Parámetros del análisis textural de imágenes de cortes transversales de los panificados

Muestra	Uniformidad ($\times 10^{-3}$)	Homogeneidad	Contraste	Entropía	DF
Sw1	0,60 ^a	0,26 ^b	61,19 ^a	7,88 ^a	1,62 ^a
Sw2	0,45 ^a	0,22 ^a	67,61 ^a	8,18 ^b	1,63 ^a
Sw3	0,55 ^a	0,20 ^a	78,95 ^b	8,15 ^b	1,58 ^a
Hw4	0,47 ^a	0,22 ^a	69,59 ^a	8,28 ^b	1,64 ^a
Hw5	0,53 ^a	0,21 ^a	63,99 ^a	8,01 ^a	1,63 ^a
Hw6	0,47 ^a	0,21 ^a	72,42 ^a	8,25 ^b	1,68 ^a
Hw7	0,57 ^a	0,28 ^b	61,53 ^a	8,00 ^a	1,64 ^a
Hw8	0,50 ^a	0,21 ^a	75,90 ^b	8,24 ^b	1,69 ^a
Hw9	0,47 ^a	0,22 ^a	70,87 ^a	8,28 ^b	1,66 ^a

DF: dimensión fractal. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Las muestras que presentaron menores valores de contraste fueron Sw1, seguida de Hw7, Hw5, Sw2, Hw4, Hw9 y Hw6. Las imágenes de las muestras Hw3 y Hw8 obtuvieron altos contrastes y significativamente mayores al resto de las muestras. En el caso de los productos con harinas de trigos blandos Sw1 y Sw2 los bajos valores de contraste pueden deberse a estructuras de conformación alveolar irregular con alveolos de gran tamaño y forma alargada. Por otro lado, Sw3 presentó una estructura con alveolos más pequeños y de forma circular, por lo que el nivel de variación de la escala de grises fue mayor. En general las muestras de trigos pan presentaron bajos valores de contraste lo cual se explica teniendo en cuenta la formación de capas de masa que luego de la cocción le otorgan al sistema una estructura laminada la cual limita la formación de alveolos circulares y promueve la generación de espacios más bien alargados. La variación local de la escala de grises en esta superficie es menor cuanto mayor sea la cantidad de capas formadas y por ende espacios alargados. Sin embargo, la muestra Hw8 presentó un alto valor de contraste indicando que la tendencia antes mencionada posiblemente se revierte al superar una cierta cantidad de espacios alargados contenidos por las láminas.

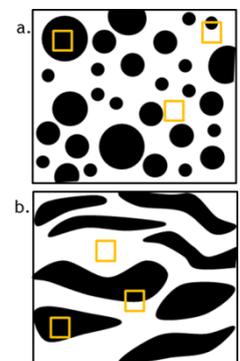


Figura 1.12 Objetos de estudio en sistemas alveolados (a.) y laminados (b.). □: píxel.

La entropía mide la aleatoriedad o desorden de la distribución de la intensidad de la imagen. Altos valores de entropía se asocian con imágenes más complejas y por lo tanto con estructuras complejas (Fernández et al. 2005). Las muestras con harinas de trigos pan Hw₄, Hw₆, Hw₈ y Hw₉ y las muestras de trigos blandos Sw₂ y Sw₃ mostraron valores mayores de entropía que las muestras Sw₁, Hw₅ y Hw₇. Esto indica que los panificados del primer grupo de muestras mencionado presentan estructuras más complejas, mientras que los productos del segundo grupo poseen una conformación estructural más simple y ordenada. Las muestras que presentan estructuras menos complejas, poseen una textura más uniforme.

La dimensión fractal es un descriptor numérico de la morfología de objetos con estructuras complejas e irregulares (Perez-Nieto et al. 2010). Las muestras de harinas de trigos blandos obtuvieron valores de dimensión fractal menores que las muestras de trigos pan. Esto permite asociar a las estructuras internas de los panificados de harinas de trigos blandos con alveolos de conformación menos tortuosa. Mientras que los panificados de trigo pan presentaron un arreglo geométrico de los espacios alargados y capas más complejo y de mayor rugosidad morfológica. Farrera-Rebollo et al. (2011) observaron un valor mayor de dimensión fractal en un producto tipo *Danish pastry* cuando se comparó su estructura interna con la de *muffin* y pan dulce.

1.2.4 Correlación entre los parámetros obtenidos

Muchos autores han informado sobre la relación existente entre las características de las harinas y la calidad de los productos obtenidos, en casos como pan, galletitas, pastas. Sin embargo los productos de estructura laminada, como *Danish pastry* y panificados tipo *puff pastry*, no han sido ampliamente estudiados. Por lo que el análisis de las relaciones entre las características de harinas y masas y de productos laminados salados con levadura contribuye a la comprensión del comportamiento de este tipo de sistemas.

Relación entre las características físico-químicas de harinas y las propiedades de masas laminadas

Las características de la red de gluten se relacionaron con el comportamiento elástico de las masas laminadas durante el ensayo de relajación. Se encontraron correlaciones positivas entre el IS-SDS y el módulo elástico ($r=0,68$, $p\leq 0,05$); y entre los contenidos de proteínas totales, GMP y gluten húmedo de las harinas y el tiempo de relajación del esfuerzo de las masas ($r=0,73$, $r=0,68$, $r=0,78$ y $r=0,80$ respectivamente; $p\leq 0,05$). Además el IS-SDS y el módulo elástico en el equilibrio correlacionaron de manera positiva ($r=0,72$; $p\leq 0,05$). Una mayor capacidad de la muestra de harina para formar una red de proteínas promueve la obtención de una masa laminada con mayor resistencia a la deformación. La cual presenta una estructuración tal que, al retirar la deformación aplicada, requiere de mayor tiempo para relajarse. Una vez alcanzado el equilibrio, las propiedades de la red de gluten, la calidad y cantidad de sus proteínas, continúan teniendo un papel importante en los sistemas laminados. Una red de gluten con buenas propiedades permitirá al sistema laminado alcanzar el estado de equilibrio de manera más estructurada. Además la correlación encontrada entre el SRC agua y el módulo elástico ($r=0,64$, $p\leq 0,05$) sugiere la influencia de los componentes hidrofílicos en el comportamiento elástico de las masa.

Se encontraron correlaciones entre el contenido de GMP e IS-SDS de las harinas y la viscosidad aparente ($r=0,77$ y $r=0,79$ respectivamente; $p\leq 0,05$) y la resistencia a la deformación de las masas ($r=0,61$ y $r=0,73$ respectivamente; $p\leq 0,05$). Además el SRC carbonato, sacarosa y agua correlacionaron positivamente con la viscosidad aparente ($r=0,71$, $r=0,60$ y $r=0,81$ respectivamente; $p\leq 0,05$) y la resistencia a la deformación de

las masas ($r=0,69$, $r=0,63$ y $r=0,75$ respectivamente; $p\leq 0,05$). Por lo que el comportamiento viscoso del sistema está influenciado por un compromiso existente entre la calidad de la red de gluten y la presencia de componentes con capacidad de absorber agua.

Cabe aclarar que durante el amasado de una masa con materia grasa adicionada, esta compite con la fase acuosa por la superficie de las partículas de harina (Peleg 1987). La materia grasa incorporada ejerce un efecto plastificante sobre el gluten y modifica o compite en las interacciones entre los ingredientes en la masa. Sin embargo, en un sistema con un alto contenido de grasa, mayor a 5 %, la materia grasa adicionada satura la masa y el efecto plastificante que ejerce resulta parcial (Bhattacharya 2010). Por lo que su principal acción se relaciona con un aumento de la viscosidad.

Por otro lado, hay que considerar el efecto del agua adicionada al sistema. Una porción del agua incorporada forma parte integral de la masa y otra actúa como plastificante. La medida en que el agua cumple un determinado rol depende de la presencia de componentes, como proteínas, arabinoxilanos y almidón dañado, con capacidad de absorber agua. Cuando la masa se somete a compresión o se le aplica una deformación constante, la movilidad de las moléculas de agua presentes en el espacio inter-particular tiene un efecto sobre la relajación del sistema. De la misma manera, en un sistema de estructura laminada constituido de capas de masa y materia grasa, la grasa tendrá un fuerte impacto en la relajación del esfuerzo. Por lo que las correlaciones encontradas sugieren que las harinas con capacidad de formar una red de gluten de buena calidad permiten obtener una masa laminada más firme con un comportamiento similar al de un sólido viscoelástico con menor capacidad de fluir. Por otro lado, la presencia de ciertos niveles de componentes hidrofílicos en las harinas, como almidón dañado y pentosanos, promueve la formación de masas laminadas en donde la movilidad del agua es menor. Bhattacharya (2010) observó un efecto plastificante del agua y concomitantemente la masa presentó una estructura fuertemente cohesiva con un alto valor de viscosidad. En este sentido, las muestras de harinas de trigo pan Hw6 y Hw9 presentaron contenidos intermedios de gluten húmedo y porcentajes bajos de proteínas, GMP, SRC láctico e IS-SDS. Sin embargo, se observaron altos valores de los índices que se asocian con la presencia de componentes hidrofílicos. Los cuales otorgaron al sistema altos valores de viscosidad aparente y permitieron a las capas de masa permanecer separadas y discretas de las capas de grasa durante la cocción; de manera tal que las estructuras de los productos horneados fueron laminadas.

La temperatura de *pasting* correlacionó negativamente con la viscosidad aparente y la resistencia de la masa a la deformación ($r=-0,82$ y $r=-0,73$ respectivamente; $p\leq 0,05$). Por lo que las muestras de harina que necesitan menor temperatura para que sus gránulos de almidón comiencen a absorber agua y se hinchen, son capaces de formar masas de estructura laminada con mayor resistencia a fluir y a la deformación.

Relación entre las propiedades de masas laminadas y la calidad de los panificados

Los parámetros obtenidos mediante el ensayo de relajación de las piezas de masa se evaluaron en relación a las características de los productos durante el proceso de producción. Se encontraron correlaciones positivas entre el módulo elástico y los valores de altura de los productos al inicio y fin de la fermentación y fin del horneado ($r=0,68$, $r=0,70$ y $r=0,70$ respectivamente; $p\leq 0,05$). Mientras que la correlación con la relación de ancho resultó negativa ($r=-0,79$, $p\leq 0,05$). Además se observaron correlaciones positivas con ciertas características de textura de los productos, como la firmeza de la estructura interna y la corteza ($r=0,67$ y $r=0,73$ respectivamente; $p\leq 0,05$).

Una mayor resistencia a la deformación de las masas laminadas favorece la obtención de productos con mayores valores de altura, que durante el proceso de producción se expanden en menor medida en dirección lateral. Las correlaciones entre las propiedades reológicas de las masas laminadas y las características de textura del producto horneado sugieren que una mayor rigidez y estructuración de las piezas de masa promueve la formación de una estructura interna horneada más firme.

Por otro lado, el tiempo de relajación correlacionó negativamente con el ancho de los productos al finalizar el horneado ($r=-0,64$; $p\leq 0,05$). Lo cual revela que sistemas más estructurados con mayores tiempos de relajación se expanden en menor medida en dirección lateral. El módulo elástico en el equilibrio correlacionó de manera positiva con los valores de altura de los productos en las diferentes etapas del proceso ($r=0,79$, $r=0,61$ y $r=0,63$ respectivamente; $p\leq 0,05$) y con la firmeza de la estructura interna del panificado ($r=0,66$ $p\leq 0,05$). Una vez retirada la deformación aplicada, las masas laminadas que alcanzan el equilibrio con una mayor estructuración promueven la obtención de piezas de mayor altura y de estructura interna más firme. Las masas con harina de trigos pan con mayores valores del módulo elástico en el equilibrio, se vieron más estructuradas y permitieron obtener panificados más firmes y altos que los elaborados con harinas de trigos blandos.

La viscosidad aparente mostró correlaciones positivas con los valores de altura de los productos al inicio y fin de la fermentación y el horneado ($r=0,63$, $r=0,83$ y $r=0,70$ respectivamente; $p\leq 0,05$). Mientras que la correlación con la relación de ancho fue negativa ($r=-0,79$, $p\leq 0,05$). Además, el factor de forma de los productos horneados y la firmeza de la estructura interna también correlacionaron con la viscosidad aparente ($r=0,73$ y $r=0,66$ respectivamente; $p\leq 0,05$). Una mayor resistencia de las capas de masa a fluir permite obtener sistemas con mayor capacidad de crecimiento vertical y menor expansión lateral, de manera tal que los productos laminados son más altos y presentan una estructura interna más firme.

El parámetro de resistencia de la masa a la deformación presentó correlaciones positivas con los valores de altura en las diferentes etapas del proceso de elaboración ($r=0,65$, $r=0,66$ y $r=0,60$ respectivamente; $p\leq 0,05$). Por otro lado, correlacionó de manera negativa con la relación de ancho y el factor de forma ($r=-0,77$ y $r=-0,69$ respectivamente; $p\leq 0,05$). Se encontraron correlaciones positivas con los parámetros de firmeza medidos en el producto (firmeza de la estructura interna $r=-0,62$ y de la corteza $r=0,88$; $p\leq 0,05$). Las piezas de masa con una estructura laminada capaz de ejercer una buena resistencia frente a una deformación aplicada poseen una buena capacidad para, durante el horneado, mantener la forma original otorgada, expandirse verticalmente y evitar el crecimiento en dirección lateral. De manera tal que se obtienen productos de mayor altura y firmeza.

Relación entre las características físico-químicas de harinas y la calidad de los panificados

Las características de la red de gluten se relacionaron con ciertos parámetros de calidad de los panificados laminados. El contenido de proteínas totales correlacionó positivamente con la altura del producto al finalizar la fermentación ($r=0,67$; $p\leq 0,05$). El contenido de GMP presentó correlaciones positivas con la altura de los productos al finalizar la fermentación y el horneado ($r=0,76$ y $r=0,83$ respectivamente; $p\leq 0,05$) y una correlación negativa con la relación de ancho ($r=-0,76$; $p\leq 0,05$). Hay (1993) encontró correlaciones positivas entre el contenido de proteínas de muestras de harina, las unidades de gluteninas de alto y bajo peso molecular y la altura específica de productos tipo *puff pastry*. El IS-SDS y el SRC láctico correlacionaron positivamente con la altura de los panificados al finalizar la fermentación y el horneado ($r=0,84$,

$r=0,79$ y $r=0,68$, $r=0,65$ respectivamente; $p\leq 0,05$) y el factor de forma ($r=0,79$ y $r=0,63$ respectivamente; $p\leq 0,05$). El IS-SDS mostró una correlación negativa con la relación de ancho ($r=-0,76$; $p\leq 0,05$) y una positiva con la firmeza de la estructura interna de los panificados ($r=0,6$, $p\leq 0,05$). Estos resultados indican que la capacidad del sistema laminado de mantener su altura durante el proceso de producción y expandirse lateralmente lo menos posible está relacionada más bien con la calidad de la red de gluten que con la cantidad de proteínas presentes en la harina.

Por otro lado, el SRC láctico correlacionó positivamente con la dimensión fractal de las imágenes de los cortes transversales de los productos ($r=0,60$; $p\leq 0,05$). La obtención de panificados con un arreglo geométrico más complejo de sus elementos estructurales y de mayor tortuosidad morfológica que se asocia con la presencia de láminas, guardó relación con la capacidad de la harina para formar una red de gluten con buenas propiedades mecánicas.

Los valores de SRC relacionados a la presencia de componentes en la harina con gran capacidad de absorber agua, como SRC sacarosa, carbonato y agua, mostraron correlaciones positivas con la altura de los panificados antes y después de la fermentación y al finalizar el horneado (SRC sacarosa: $r=0,72$, $r=0,88$, $r=0,76$; SRC carbonato: $r=0,71$, $r=0,84$, $r=0,80$; SRC agua: $r=0,62$, $r=0,85$, $r=0,82$; $p\leq 0,05$). Del mismo modo, los perfiles de SRC presentaron correlaciones positivas con el factor de forma (SRC sacarosa: $r=0,83$, SRC carbonato: $r=0,83$ y SRC agua: $r=0,83$; $p\leq 0,05$) y negativas con la relación de ancho. En cuanto a las propiedades de textura de los productos se observaron correlaciones positivas con la firmeza de la estructura interna de los panificados (SRC sacarosa: $r=0,72$, SRC carbonato: $r=0,76$ y SRC agua: $r=0,77$; $p\leq 0,05$). Esto indica que la existencia de un cierto nivel de componentes hidrofílicos, como arabinosilanos y almidón dañado, en harina destinada a producir panificados laminados genera un efecto positivo en la expansión deseada del producto y su altura final. Algunos autores han informado que ciertos niveles moderados de almidón dañado poseen un efecto positivo en la elaboración de pan debido a que promueven la hidratación y la fermentación (Boyacı et al. 2004). Por otro lado, Michniewicz et al. (1992) observaron que los arabinosilanos estaban involucrados en las interacciones entre las proteínas de la masa y por lo tanto contribuían directamente sobre las características tecnológicas del pan. El efecto generado se relacionó con un aumento de la viscosidad del sistema y refuerzo de la integridad de los alveolos. Courtin y Delcour (2001) informaron que los pentosanos solubles de medio y alto peso molecular tuvieron un efecto positivo en el volumen de pan. Sin embargo, Labat et al. (2002) no observaron interacciones entre los pentosanos y las proteínas. El efecto físico de los pentosanos sobre la estructura de la masa puede estar relacionado al aumento de la viscosidad y a una disminución de la atracción entre las proteínas. Mientras que el efecto químico se asocia a la acción del ácido ferúlico, el cual influye en la tendencia de las partículas a asociarse y por lo tanto en la calidad de la red de gluten (Wang et al. 2004). Por lo tanto, el contenido de componentes hidrofílicos presentes en la harina resulta clave para determinar la capacidad de la misma en la obtención de productos panificados laminados de buenas propiedades tecnológicas.

La temperatura de *pasting* de las harinas correlacionó negativamente con la altura de los productos al inicio y fin de la fermentación y el horneado y con la relación de alto ($r=-0,68$, $r=-0,86$, $r=-0,91$ y $r=-0,70$ respectivamente; $p\leq 0,05$) y positivamente con la relación de ancho ($r=0,83$; $p\leq 0,05$). Esto indica que las harinas que requieren menor temperatura para que el proceso de hinchamiento del almidón comience y se dé un aumento de la viscosidad producen estructuras laminadas que experimentan un mayor crecimiento horizontal y una menor expansión en dirección lateral durante el horneado; y por lo tanto generan productos más altos. Si bien, la disponibilidad de agua en la masa de los panificados laminados es diferente a la del ensayo, las

correlaciones encontradas denotan que hay cierta relación entre la temperatura de *pasting* de una harina y el comportamiento que la masa tendrá durante el proceso de producción de un panificado laminado. Del mismo modo otros autores (Moirgahi 2013) observaron en sistemas con diferente disponibilidad de agua correlaciones entre algunos parámetros de *pasting* de harinas de trigos blandos y un parámetro dimensional del producto.

1.2.5 Determinación de indicadores de aptitud de una harina para la obtención de panificados laminados

Con el objetivo de establecer ciertos parámetros, que evaluados de manera conjunta permitan diferenciar, la aptitud de una harina para elaborar panificados laminados salados con levadura se realizó un análisis MANOVA (tabla 1.9). Para este tratamiento estadístico se utilizaron las variables que en el análisis de correlación de Pearson se relacionaron de manera significativa con la calidad de los panificados. En el caso de los parámetros de caracterización físico-química de las harinas se eligieron aquellos que guardan relación con la calidad de la red de gluten y con la presencia de componentes hidrofílicos como, como GMP, SRC láctico, sacarosa y carbonato. Además se incluyeron variables relacionadas a las propiedades estructurales de las piezas de masa, viscosidad aparente y resistencia de la masa a la deformación; y variables de calidad tecnológica de los panificados, como la relación de ancho y el factor de forma.

Tabla 1.9. Resultados del MANOVA

Muestra	GMP (%)	Láctico	SRC (%)		η (kPa.s)	RD (N)	A	FF	MANOVA
			Sacarosa	Carbonato de sodio					
Sw	2,16	94,53	71,92	72,65	107,91	658,45	1,13	0,56	a
Hw	3,73	123,32	92,84	85,34	207,96	2150,91	1,03	0,77	b

GMP: macropolímero de gluteninas, η : viscosidad aparente, RD: resistencia de la masa a la deformación, A: relación de ancho, FF: factor de forma. Letras diferentes entre muestras indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los grupos de muestras considerando las ocho variables simultáneamente.

Las muestras de harinas, masas y panificados de trigos pan fueron significativamente diferentes a las muestras de trigos blandos. Las harinas de trigos pan mostraron una gran capacidad para generar una red de gluteninas con una fuerza relativamente grande y por lo tanto de buena calidad y altos contenidos del macropolímero de gluteninas. Las harinas de trigos pan presentaron altos contenidos de componentes capaces de retener agua. Las piezas de masa elaboradas con harina de diferentes tipos de trigos presentaron comportamientos significativamente diferentes cuando fueron comprimidas y cuando se sometieron a la aplicación de una deformación y la consiguiente relajación. Las piezas de masa de harina de trigos pan fueron más viscosas y ejercieron mayor resistencia a la deformación que las masas de harinas de trigos blandos. Las diferencias en las características de las harinas y las masas tienen efectos importantes en las propiedades tecnológicas de los panificados laminados. Los productos elaborados con harinas de trigos pan experimentaron en menor medida un crecimiento en dirección lateral y los panificados al final del horneado fueron de mayor altura y menor ancho y largo.

El uso combinado de las variables elegidas permitió diferenciar significativamente a las muestras de harina de diferentes tipos de trigo. Del mismo modo, las piezas de masa y los productos laminados pudieron ser diferenciados mediante el análisis conjunto de variables relacionadas a las propiedades reológicas y las características tecnológicas.

1.3 CONCLUSIONES

Se evaluó la composición y la calidad de harinas obtenidas a partir de diferentes tipos de trigo y se determinaron los efectos de la utilización de estas harinas sobre las propiedades estructurales de masas laminadas y la calidad de panificados laminados salados con levadura. Los componentes presentes en la harina y luego en la masa laminada influyen en la calidad final de los panificados. Se observó una gran influencia de la calidad de la red de gluten, principalmente en la consistencia de la masa. Por otro lado la presencia de componentes hidrofílicos, como almidón dañado y pentosanos, con gran capacidad de absorber agua en las harinas también ejerció un efecto sobre las características tecnológicas de los productos. Un cierto nivel de componentes hidrofílicos permitió obtener masas con una estructura rígida y de comportamiento viscoso. Cuando las piezas de masa fueron sometidas a compresión en el laminado y al calentamiento durante la cocción, la consistencia y viscosidad de las masas tuvo un papel fundamental en la expansión horizontal y lateral; y concomitantemente en la altura final de los panificados laminados.

Las harinas de trigos pan presentaron características significativamente diferentes de las de trigos blandos. Estas diferencias se expresaron en las propiedades de las masas laminadas elaboradas con cada conjunto de muestras de harina. Las harinas de trigos pan permitieron obtener sistemas laminados con un comportamiento más viscoso y con mayor resistencia a la deformación que las harinas de trigos blandos. Los productos con harinas de trigos pan mostraron mayores valores de altura y crecimiento horizontal durante el proceso de elaboración y el análisis de la estructura interna reveló la formación de capas dispuestas en una estructura más compleja y rugosa que las muestras con harinas de trigos blandos. Esto indica que las harinas de trigos pan presentan una mayor aptitud que las harinas de trigos blandos para la producción de panificados laminados con levadura de buena calidad.

La evaluación conjunta de ciertas variables relacionadas a las características de las harinas, propiedades de las masas y calidad de los panificados permitió establecer una serie de parámetros que permiten diferenciar la calidad de productos laminados elaborados a partir de muestras de harina de diferente calidad.

Capítulo 2

Relación entre las propiedades estructurales de la materia grasa y la calidad tecnológica y sensorial de panificados laminados

En la producción de panificados laminados (*Danish y puff pastry*), se añade materia grasa en la composición de la pasta base y como láminas entre dos capas adyacentes de masa (Cauvain y Young 2001). Las láminas de materia grasa entre las capas de masa influyen en el crecimiento vertical de la estructura laminada y en la apariencia escamosa (O'Brien 2004). Telloke (1991) estudió el efecto de ciertos aspectos relacionados con la materia grasa en la masa laminada. La cantidad de grasa añadida, el contenido de sólidos grasos (SFC, por sus siglas en inglés) y la firmeza de la materia grasa al momento de ser utilizada fueron algunas de las variables que mostraron una relación directamente proporcional con la expansión vertical del producto. La estructura cristalina presentó una relación inversamente proporcional con el crecimiento del panificado. Matthews y Dawson (1963) utilizaron la metodología de análisis sensorial para determinar el rendimiento de seis tipos de materia grasa sólida y líquida en diferentes concentraciones. Baardseth et al. (1995) estudiaron el efecto de once muestras de materia grasa elaboradas con grasa vacuna y aceite vegetal en las características sensoriales de productos tipo *Danish pastry*. Los autores informaron que la concentración de la materia grasa influye en el sabor, olor y color de los panificados. Simovic et al. (2009) investigaron el efecto de margarinas con bajos contenidos en grasas trans en las propiedades físicas y sensoriales de productos tipo *puff pastry* y reportaron que el efecto lineal y cuadrático más importante era la cantidad de grasa. Pajín et al. (2011) y Pimdit et al. (2008) estudiaron la influencia de la composición de la grasa sobre la aptitud de la misma para producir un panificado tipo *puff pastry*.

A pesar de que muchos autores han estudiado en detalle el efecto de algunas de las características de la materia grasa propuestas por Telloke (1991), se han utilizado muestras de grasa con un contenido de sólidos grasos similar o este factor no ha sido considerado en absoluto. Sólo Stauffer (1996) y Doerry (1996) presentaron un perfil de SFC y lo relacionaron con la funcionalidad de la grasa. Cauvain (2001) indicó que la utilización de una grasa con un SFC de 38-45 % a 20 ° C permitió obtener una masa tipo *puff pastry* con una altura máxima específica. La relación entre las propiedades estructurales de la grasa (perfil de fusión y de SFC y el comportamiento reológico) y las cualidades sensoriales y físicas de los sistemas laminados obtenidos no se ha evaluado todavía. De hecho, no se han realizado estudios sobre la relación entre la reología fundamental de la materia grasa y las características de los productos horneados laminados.

Ciertas variables que intervienen en el proceso de producción, tales como la influencia de la cantidad, la continuidad y la distribución del espesor de las capas de grasa en masas tipo *Danish pastry* han sido reportadas por algunos autores (Deligny y Lucas 2015, Bousquieres et al. 2014 a, b.) y por otros en masas tipo *puff pastry* (Collewet et al. 2013). La mayoría de estos estudios se centraron en sistemas con levadura y un alto contenido de azúcar (15-25 %) comúnmente conocidos como *Danish pastry* y en productos del tipo *puff pastry* sin levadura o azúcar, que experimentan un crecimiento debido a la acción del vapor de agua. La presencia simultánea de sal y levadura en un sistema laminado afecta tanto al comportamiento de la masa durante las etapas de

producción, como a la calidad del producto. La levadura juega un papel importante en la aireación de la masa durante la fermentación y la cocción, y también altera la integridad de las capas de grasa y de masa (Cauvain y Young 2001). Por lo tanto, el estudio de productos salados laminados con levadura contribuye a la generación de conocimiento científico acerca de los sistemas de laminados y su uso industrial en los países en donde los productos horneados laminados están entre los productos de consumo más populares (Giannoni 2012).

2.1 MATERIALES Y MÉTODOS

Los panificados laminados salados se elaboraron con harina comercial “000” (Graciela Real, Argentina), utilizada por los productores locales en Argentina. Se evaluaron tres muestras de materia grasa comercial empleada en la producción local de panificados laminados salados.

- Grasa bovina refinada (MG₁) (La Cordobesa para hojaldre, Argentina)
- Margarina (MG₂) (Mkt CALSA margarina para hojaldre, Argentina)
- Oleomargarina (MG₃) (Margarina Dánica, Argentina)

2.1.1 Caracterización físico-química de la harina

Porcentaje de humedad (Método 44-15.02, AACC, 2000)

El contenido de humedad se determinó sobre 2,00±0,01 g de harina. Se calentó la muestra durante 2 h a 130 °C en estufa isotérmica de calentamiento eléctrico. El porcentaje de humedad se calculó por diferencia de peso medido antes y después del calentamiento de la muestra y se expresó como porcentaje de agua perdida.

Contenido de cenizas (Método 08-01.01, AACC, 2000)

La determinación del contenido de cenizas se realizó a partir de 2 g de harina. La harina fue calentada en mufla hasta 600 °C y se pesó la muestra antes y después del calentamiento.

Porcentaje de proteínas (Método 46-10.01, AACC, 2000)

El contenido de nitrógeno de la muestra se determinó de acuerdo al micro método de Kjeldahl modificado para ácido bórico descrito anteriormente en el capítulo 1.1.

Gluten húmedo (Método 38-10.01, AACC, 2000)

El contenido de gluten húmedo se determinó a partir de una masa elaborada con 10 g de harina y 6 ml de agua. La masa se sometió a un lavado manual durante 12 min en donde se separaron los componentes solubles en agua, como almidón, pentosanos y proteínas solubles. El gluten obtenido se expresó como porcentaje de la muestra.

Actividad amilásica-Tiempo de caída (Método 56-81.03, AACC, 2000)

Este método se basa en la capacidad de la α -amilasa para licuar un gel de almidón. La actividad de la enzima se determina sobre suspensiones calientes de harina en agitación y se mide a través del tiempo de caída (FN, por sus siglas en inglés). El FN se define como el tiempo en segundos necesario para dejar caer el agitador a una distancia medida a través de una suspensión caliente de harina. El equipo de Falling

Number registra los segundos necesarios para dejar caer el agitador por una disminución en la viscosidad de la suspensión ocasionada por la actividad de la enzima.

Para realizar el ensayo se utilizaron $7,00 \pm 0,05$ g de harina y se adicionaron 25 ml de agua. Se agitó la suspensión hasta su completa dispersión, se colocó la muestra en el viscosímetro-agitador dentro de un baño de agua. Al finalizar el ensayo se determinó el tiempo de caída en segundos.

Perfil de Capacidad de Retención de Solventes (*Solvent Retention Capacity*) (SRC) (Método 56-11.02, AACC, 2000)

El perfil de SRC se determinó según lo descrito anteriormente en el capítulo 1.1.

Los ensayos que comprendieron la caracterización físico-química de la muestra de harina se realizaron por duplicado.

Propiedades viscosimétricas de la harina (Método 54-30.02, AACC, 2000)

Para evaluar la deformación biaxial que sufre la masa ocasionada por el gas producido durante la fermentación se realizó el ensayo alveográfico. El cual consta del inflado de una masa, mediante una presión de aire constante. La presión resultante en el interior de la burbuja se graficó en una curva, o alveograma, a partir de la cual se calcularon ciertos parámetros.

El ensayo se realizó mediante un alveógrafo Chopin MA 95 (Trippette & Renaud, Francia). Se pesó 250 g de harina y se hidrató con 25 ml de solución de NaCl al 2,5 %. La mezcla se amasó a 24 °C durante 8 minutos en el compartimento de amaso. Se obtuvieron cinco piezas de masa que fueron sometidas a descanso durante 20 minutos a 25 °C. Luego del periodo de descanso las masas se introdujeron en el alveógrafo y se insufló aire en las mismas formándose una burbuja.

Se obtuvieron cinco curvas y se calculó una curva promedio a partir de la cual se obtuvieron ciertos parámetros como la altura máxima de la curva o tenacidad, la extensibilidad o longitud de la curva y la fuerza panadera, relacionada con el área bajo la curva y la energía necesaria para romper la masa. Además, se calculó la relación entre tenacidad y extensibilidad, denominada equilibrio. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

2.1.2 Caracterización estructural de la materia grasa

Perfil de fusión

El proceso de fusión-cristalización se evaluó mediante un Calorímetro Diferencial de Barrido con software STARE Default DB V9.00 (DSC 823 Mettler Toledo, Suiza). Se colocó una alícuota (7-10 mg) de materia grasa en capsulas de aluminio de 40 μ l, se sellaron y se sometieron al análisis. Las cápsulas fueron calentadas desde 30 °C a 80 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min, y se mantuvieron a 80 °C durante 10 minutos. Luego fueron enfriadas a -20 °C a una velocidad de enfriado de 1 °C/min, y se mantuvieron a -20 °C durante 30 minutos. Finalmente se calentaron hasta 80 °C, a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. A partir de los gráficos de flujo de calor vs temperatura se obtuvo la temperatura de fusión. Los ensayos se realizaron por duplicado.



Figura 2.1 Analizador de resonancia magnética nuclear

Determinación del Contenido de Sólidos Grasos

El contenido de sólidos grasos (SFC, por sus siglas en inglés) se determinó mediante analizador de resonancia magnética nuclear de pulsos Minispec mq20 (Bruker) (figura 2.1). El SFC se evaluó a diferentes temperaturas (10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 y 45 °C) según Firestone (1989) y se expresó como % de SFC. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

Comportamiento Reológico

Las medidas reológicas se realizaron mediante un reómetro de esfuerzo controlado RHEOPLUS/32 (Anton Paar, Alemania), se utilizó una geometría de platos paralelos (diámetro= 8 mm) y 1 mm de apertura. Previamente las muestras se sometieron a un proceso de calentamiento y enfriamiento para destruir la estructura cristalina. Luego una porción de muestra fue colocada sobre el plato inferior mantenido a 25 °C, se bajó el cabezal y se eliminaron los bordes sobrantes de materia grasa de los platos. La muestra se dejó descansar 5 min para relajar las tensiones producidas en la compresión antes de iniciar el ensayo.

Barrido de esfuerzo: se realizó con el objetivo de determinar el rango de viscoelasticidad lineal de las muestras. Se realizó como estímulo un barrido de esfuerzo (0,05-10 Pa) a 1 Hz a 25 °C y se evaluó la respuesta del sistema en términos de deformación. A partir de este barrido se seleccionó un esfuerzo (0,1 %) dentro del rango de viscoelasticidad lineal.

Barrido de frecuencia: sobre porciones nuevas de materia grasa se realizaron barridos de frecuencia desde 0,01 hasta 10 Hz a 25 °C, a esfuerzo constante (0,1 %). A partir de estos ensayos se obtuvieron los valores de módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y tangente del ángulo de desfase ($\tan \delta$), como función de la frecuencia.

Barrido de temperatura: sobre porciones nuevas de materia grasa se realizaron barridos de temperatura en donde se calentaron las muestras desde 25 °C hasta 90 °C, a una velocidad de calentamiento de 3 °C/min, a frecuencia y deformación constantes (1 Hz y 0,1 %, respectivamente). De estos barridos se obtuvieron los módulos G' y G'' y la $\tan \delta$ en función de la frecuencia y la temperatura.

El efecto de la temperatura sobre la viscosidad compleja se evaluó mediante la ecuación de Arrhenius (ecuación 2.1) (Rao, 1999). En donde η^* es la viscosidad compleja expresada en Pa.s, A es un factor pre exponencial (Pa.s), E_a es la energía de activación expresada en cal/mol, R es la constante universal de los gases (1,987207 cal/mol.K) y T es la temperatura en °K. A partir de los resultados obtenidos en los barridos de temperatura se realizaron gráficos de $\ln [\eta^*]$ vs $1/T$, se calculó la pendiente de la curva (E_a/R) y se evaluó la energía de activación (Esteban et al. 2012, Simuang et al. 2004).

Los ensayos reológicos se realizaron por triplicado y se evaluaron tres porciones de cada muestra de materia grasa.

2.1.3 Elaboración de panificados laminados salados

Los panificados laminados salados se elaboraron utilizando la formulación detallada en la Tabla 2 según el procedimiento anteriormente descrito en el capítulo 1. Se elaboraron productos con las tres materias grasas en estudio. Tres panificados por cada muestra de materia grasa fueron obtenidos y el procedimiento se realizó por duplicado.

$$\eta^* = A e^{-E_a/RT}$$

Ecuación 2.1 Ecuación de Arrhenius

2.1.4 Caracterización estructural de las piezas de masa

Los ensayos de caracterización de las piezas de masa se realizaron sobre porciones de masa laminada no fermentada elaboradas como se describió previamente en el capítulo 1 con las tres muestras de materia grasa. Las determinaciones se realizaron a temperatura ambiente (25 °C).

Microestructura

La microestructura de las piezas de masa fue evaluada mediante un microscopio confocal Nikon Eclipse C1si (Nikon Inc., Tokio, Japón). Las piezas de masa fueron congeladas a -18 °C y se realizaron cortes transversales con bisturí. Se utilizó una solución de 1 % de Rodamina B en dimetilformamida para otorgar coloración a la red de proteica presente en las muestras. Los componentes almidonosos se tiñeron con una solución de fluoresceína al 1 % en dimetilformamida. Para la visualización de los componentes almidonosos (en verde) se realizó la excitación con la línea láser 514 de argón. En el caso de la fracción proteica (en rojo) se utilizó la línea láser 543 de neón. Ambas observaciones se realizaron con una potencia del 10 %.

Resistencia de la masa a la deformación

La resistencia de la masa a la deformación se determinó mediante un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, MA, EUA) como se describió previamente en el capítulo 1.

La evaluación de las características de las piezas de masa se realizó sobre tres piezas de masa por cada muestra de materia grasa en estudio y cada prueba se realizó por duplicado.

2.1.5 Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados

Cambio conformacional

El cambio conformacional que experimentó la pieza de masa durante el proceso de elaboración se evaluó a través de las dimensiones de la masa (altura, ancho y largo), al inicio y finalización de la fermentación y sobre el producto final luego de 1 h de horneado. Se calcularon las relaciones de altura y ancho de las piezas de masas horneadas vs. no fermentadas.

Factor de forma (FF)

El factor de forma de los productos panificados se calculó según lo descrito previamente en el capítulo 1.

Volumen específico (VE)

El volumen específico de los panificados se determinó por desplazamiento de semillas de colza según se describió previamente en el capítulo 1.

Color de la corteza (Método 14-22.01, AACC, 2000)

El color de la corteza se determinó mediante un espectrofotómetro CM-700d/600d KONICA MINOLTA (Ramsey, EUA) como se describió en el capítulo 1.

Firmeza de la corteza

La firmeza se determinó mediante un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, MA, EUA). La evaluación de la firmeza de la corteza del panificado se realizó directamente sobre el producto como se describió en el capítulo 1.

Análisis textural de imágenes

La medición de la textura de las imágenes de cortes transversales de los panificados se llevó a cabo como se describió en el capítulo 1. Se aplicó el algoritmo de Matriz de Co-Ocurrencia en Escala de Grises (GLCM) y se calculó la dimensión fractal.

Los ensayos sobre evaluación de la calidad de los panificados se realizaron por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra de harina.

2.1.6 Evaluación sensorial de los panificados

Ensayo afectivo

La preferencia de consumidores sobre los productos laminados elaborados con diferentes materias grasas se determinó mediante un análisis sensorial, en donde se evaluó aspecto general, sabor y olor de los muestras. Participaron de la evaluación 83 evaluadores no entrenados, de los cuales un 52 % fueron hombres y un 48 % mujeres entre 21 y 60 años de edad. Se utilizó una escala discontinua de siete puntos y se le pidió a los evaluadores que ubicaran la muestra que menos les gustaba a la izquierda siguiendo hacia la derecha con la que más les había gustado.

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó mediante el programa INFOSTAT (Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina). Los resultados fueron evaluados mediante un análisis de la varianza no paramétrico de Friedman, con un nivel de significancia de 0,05.

Ensayo analítico

Se realizó una evaluación descriptiva múltiple, en la cual por medio de observación visual y manipulación de las muestras con la boca se cuantificaron las diferencias entre las muestras en términos de los atributos descriptos en la tabla 2.1 y respecto de una muestra considerada como control.

Tabla 2.1 Definición de los atributos sensoriales

Atributos evaluados mediante observación visual	
Simetría	Conformación externa del producto
Apariencia escamosa	Nivel de la apariencia escamosa de la corteza
Uniformidad	Distribución de alveolos y láminas en una sección transversal del producto
Laminado	Cantidad de láminas en una sección transversal del producto
Alveolado	Cantidad de alveolos en una sección transversal del producto
Atributos evaluados mediante manipulación bucal	
Firmeza	Fuerza requerida para comprimir entre los molares una porción transversal del producto cuando se lo muerde uniformemente dos veces
Percepción de la grasa	Intensidad de la sensación a grasa percibida durante la masticación del producto

El panel sensorial estuvo conformado por 14 evaluadores semi entrenados (personal del laboratorio de Química Biológica, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba). Durante tres sesiones se realizó el entrenamiento del panel. Se utilizó una escala continua de once puntos, hacia la izquierda se ubicaron los valores negativos mientras que hacia la derecha se posicionaron los valores positivos; considerando a -5 y 5 como el menor y mayor valor de la escala, respectivamente. El control se posicionó arbitrariamente en el centro de la escala (Figura 2.2). Se elaboraron panificados laminados con las tres muestras de materia grasa y se presentaron a los evaluadores identificadas con números aleatorios de tres dígitos (Figura 2.3).

La muestra control fue un producto adquirido en un comercio local. Debido a las variaciones en los aspectos visuales de los ejemplares durante las sesiones de entrenamiento, para la sesión definitiva se utilizó en la evaluación de los parámetros visuales una imagen del control que contenía fotografías de los diferentes perfiles del producto (Munkevik et al. 2007).

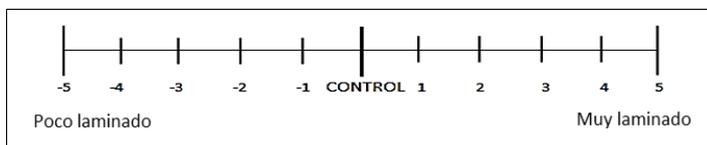


Figura 2.2 Escala continua utilizada en el análisis sensorial



Figura 2.3 Presentación de las muestras a evaluar

2.1.7 Análisis Estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó mediante el programa INFOSTAT (Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina). Las determinaciones experimentales fueron comparadas mediante un Análisis de la Varianza (ANOVA), en la comparación de medias se utilizó la prueba LSD Fisher y la relación entre las respuestas medidas se determinó mediante el coeficiente de regresión de Pearson con un p-valor $\leq 0,05$.

En el caso del análisis sensorial, los resultados fueron evaluados mediante un ANOVA, se utilizó la estimación de modelos lineales generales y mixtos y el test de comparaciones múltiples de LSD Fisher.

2.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.2.1 Caracterización físico-química de la muestra de harina

La muestra de harina comercial utilizada para elaborar los productos salados laminados con levadura presentó un contenido de cenizas y proteínas de $0,739 \pm 0,001$ % y $11,25 \pm 0,07$ %, respectivamente. El contenido de gluten húmedo fue de 35 ± 1 % y resultó mayor al porcentaje informado por Colombo et al. (2008) para harina de trigos de origen argentino. La actividad de la enzima α amilasa presente en la harina influye en la calidad de los productos horneados. Un índice de caída inferior a 300 s está asociado con una alta actividad de la enzima, lo que resulta en migas pegajosas y cortezas oscuras. El índice de caída para la muestra en estudio fue de 414 s, lo que permite asociar a la muestra con una actividad de la α amilasa débil. Sliwinsky et al. (2004) reportaron menores índices de caída para harinas de trigo europeo y

canadiense utilizadas en la producción de productos de tipo *puff pastry*. El índice de sedimentación en SDS está relacionado con la cantidad y calidad de las proteínas del gluten y la capacidad del mismo para formar una red con buenas propiedades mecánicas. La harina comercial presentó un índice de sedimentación en SDS de $14,0 \pm 0,0 \text{ cm}^3$. Guttieri (2004) informó valores más bajos de IS-SDS ($6,1-7,2 \text{ cm}^3$) para muestras de trigos blandos de variedad blanca cosechados en primavera y roja. Colombo et al. (2008) encontraron un rango de IS-SDS entre 11,75 y 19,25 % para muestras de harina de trigos pan de origen argentino. El perfil de capacidad de retención de solventes fue de $99,5 \pm 0,9 \%$ para el SRC láctico, $98 \pm 5 \%$ para el SRC sacarosa, $73,3 \pm 0,3 \%$ para el SRC carbonato y $84,1 \pm 0,3 \%$ para el SRC agua. Los valores de SRC sacarosa y agua fueron consistentes con los valores obtenidos en el capítulo 1 en harinas de trigos pan con buena aptitud para producir productos laminados salados con levadura. El ensayo alveográfico brinda información relevante que permite relacionar las características de una harina y el comportamiento de la masa durante la fermentación y la primera etapa de cocción. La muestra de harina presentó un valor de 1,82 para la relación entre tenacidad y extensibilidad (valor de tenacidad: 120,12 mm, valor de extensibilidad: 66,00 mm), el cual fue mayor al reportado por de la Horra et al. (2012) para un conjunto de muestras de harina de trigos argentinos (0,43-1,62). La energía de deformación fue de $320 \times 10^{-4} \text{ J}$. Cuniberti et al. (2003) informaron un rango de 120 a $562 \times 10^{-4} \text{ J}$ para un conjunto de harinas de trigos argentinos.

La muestra de harina presentó altos contenidos de proteínas y gluten, conjuntamente con la presencia de un cierto nivel de componentes hidrofílicos que contribuyen a la viscosidad necesaria en este tipo de sistemas. Por lo tanto, la masa obtenida presentó propiedades mecánicas de extensibilidad tales que permitirían el laminado y la concomitante formación de capas.

2.2.2 Caracterización estructural de la materia grasa

Las grasas plásticas se componen de una fase líquida oleosa que contiene agregados de cristales sólidos entre los cuales operan fuerzas de van der Waals. La estructura de la grasa presenta distintos niveles que pueden ser definidos a partir del proceso de cristalización que experimenta una muestra de grasa previamente fundida. El crecimiento de la red incluye la cristalización de los triglicéridos presentes en diferentes estados polimórficos (α , β y β'). Estos cristales crecen hasta formar elementos microestructurales más grandes ($\sim 6 \mu\text{m}$), los cuales a través de un proceso de nucleación, limitado por la transferencia de masa y calor, forman microestructuras de mayor tamaño ($\sim 100 \mu\text{m}$). El proceso de crecimiento de los núcleos continúa hasta que se forma una red tridimensional continua por la acumulación de microestructuras (Narine y Marangoni 1999).

Las características de los distintos niveles estructurales influyen en las propiedades reológicas que presenta la materia grasa a nivel macroscópico. La composición de ácidos grasos y su posición en los triacilglicerolos afectan el comportamiento polimórfico de la grasa. Así es como en general, las grasas formadas por un número relativamente bajo de triacilglicerolos estrechamente emparentados evolucionan rápidamente hacia formas estables β . Mientras que las grasas heterogéneas tienden a transformarse más lentamente en sus formas estables, por ejemplo las grasas cuyos ácidos grasos están distribuidos de forma totalmente aleatoria presentan formas β' , de transformación muy lenta. A su vez, el polimorfismo de la materia grasa tiene influencia en la temperatura de fusión y en las características viscoelásticas del material. Cuanto mayor es el número y menor el tamaño de los cristales, mayor es la rigidez que presenta el sistema. En grasas que se utilizan para la elaboración de panificados son convenientes los cristales tipo β' . Este estado polimórfico posee

cristales de menor tamaño ($\sim 1 \mu\text{m}$) y una morfología del tipo aguja-estrecha que facilitan la incorporación de gran cantidad de aire en forma de pequeñas burbujas, lo que permite lograr productos con mejores propiedades reológicas y sensoriales (Fennema 1996). La estructura formada en el proceso de crecimiento de los cristales se constituye como una red tridimensional en cuya matriz esta embebida la fase líquida oleosa. Ambas fases poseen funciones específicas cuando la materia grasa es incorporada en productos panificados. La fase líquida resulta necesaria para la incorporación de aire, mientras que los cristales cumplen un rol estructural y retienen aire al final del amasado y durante las primeras etapas del horneado. Un mayor contenido de sólidos otorga mayor rigidez a la red y por lo tanto confiere más consistencia al sistema. Cuando la materia grasa incorporada en la formulación de una masa está en estado líquido ocurre una dispersión de la grasa durante el amasado en forma de pequeñas gotas, que resultan menos efectivas para llevar a cabo la plastificación y aireación en comparación con una grasa plástica sólida (Pylar 1988). Por otro lado, grasas que son más bien firmes forman agregados cuando son incorporadas en la masa. Es en este contexto que la proporción de sólidos presente en el total de la grasa juega un rol importante en la determinación de la aptitud de la materia grasa para generar masas con ciertas propiedades reológicas y obtener panificados con determinadas características tecnológicas y sensoriales.

Los puntos de fusión de las muestras de materia grasa fueron significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). La muestra MG1 presentó una temperatura de fusión de $46,94 \pm 0,08 \text{ }^\circ\text{C}$, la cual se correspondió con un intervalo de fusión ($45,0\text{-}57,2 \text{ }^\circ\text{C}$) informado para materia grasa utilizada en la producción de productos tipo *puff pastry* (O'Brien 2004; Stauffer 1996). Las temperaturas de fusión para las muestras MG2 y MG3 fueron $43 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ y $39,1 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Estos valores fueron similares a la temperatura observada para materia grasa empleada en la elaboración de productos tipo *Danish pastry* ($39 \text{ }^\circ\text{C}$) (O'Brien 2004).

El perfil del contenido de sólidos de las muestras evaluadas se observa en la figura 2.4. El contenido de sólidos en las muestras decreció con el aumento de la temperatura. Sciarini et al. (2013) también observaron esta tendencia del SFC con el aumento de temperatura en grasas con diferentes contenidos de sólidos. Esta tendencia del SFC a disminuir fue mayor para las muestras MG1 y MG2, mientras que MG3 presentó un perfil más bien plano; que no mostró grandes variaciones entre los 20 y $45 \text{ }^\circ\text{C}$. En el rango de temperatura de elaboración del panificado, $15\text{-}35 \text{ }^\circ\text{C}$, los perfiles de SFC de las muestras MG1 y MG2 disminuyeron en un 135 % y 160 %, respectivamente; mientras que la muestra MG3 solo disminuyó en un 11 %.

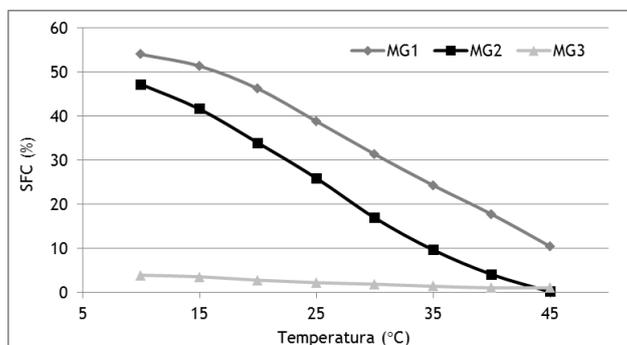


Figura 2.4 Contenido de sólidos de las muestras de materia grasa

En el intervalo de temperatura evaluado, MG1 presentó el mayor contenido de sólidos ($p \leq 0,05$), seguida de MG2 y MG3. Simovic et al. (2009) reportaron valores de SFC para

Tabla 2.2 Parámetros del barrido de frecuencia

Muestra	G' (kPa)	G'' (kPa)	tan δ
MG1	6500 ^a	1009 ^a	0,16 ^a
MG2	4435 ^a	763 ^b	0,17 ^a
MG3	619 ^b	74 ^c	0,12 ^a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

muestras de margarina con bajos contenidos de grasas *trans* similares a MG1 Y MG2 (rangos de SFC a 10 °C: 60,1-54,8 %; 20 °C: 47,1-40,1 %; 25 °C: 38,6-30,9 %; 30 °C: 26,3-22,3 %). Doerry (1996) informó que un SFC relativamente alto era óptimo para grasas empleadas en la elaboración de *puff pastry*, por ejemplo un SFC de 16 % a 40 °C. De acuerdo a esto, la muestra MG1 con un SFC de 18 % a 40 °C podría ser la más adecuada para la obtención de una estructura laminada. Se han encontrado estudios sobre las propiedades de consistencia y capacidad de moldeado (*spreadability*) de materia grasa láctea química y enzimáticamente modificada, aceite de palma, manteca de cacao, grasa bovina y porcina (Rousseau et al. 1996, Rousseau y Marangoni 1998). Estos autores reportaron diferentes propiedades reológicas a pesar de que las muestras en estudio poseían iguales contenidos de sólidos grasos. Esto indica que la comprensión de la estructuración de la red tridimensional de la grasa no debe ser concebida únicamente a través de la composición de ácidos grasos y el SFC. Resulta fundamental evaluar las propiedades mecánicas y las características geométricas de la estructura de las grasas (Narine y Marangoni 1999).

El barrido de frecuencia en condiciones isotérmicas permite evaluar el comportamiento reológico de la muestra (en términos de esfuerzo) cuando es sometida a la acción directa y cíclica de una deformación constante, cuya frecuencia cambia en el tiempo. A través de un ensayo de pequeñas deformaciones se obtiene información sobre la microestructura de la red tridimensional de la materia grasa. Heertje (1993) demostró que la compresión ejercida en un ensayo de platos paralelos sobre la red tridimensional de la grasa provoca la ruptura de los enlaces existentes entre las microestructuras, mientras que la integridad de las microestructuras permanece intacta.

En los barridos de frecuencia de las muestras analizadas (figura 2.5) no se observaron incrementos significativos de los módulos de almacenamiento y pérdida a medida que aumentó la frecuencia. Esto indica que el comportamiento viscoelástico de las muestras es poco dependiente de la frecuencia. Las muestras mostraron un predominio del módulo de almacenamiento sobre el módulo de pérdida a lo largo de todo el rango de frecuencia estudiado. Esto revela que el sistema posee un comportamiento más similar al de un sólido viscoelástico, cuyas deformaciones son esencialmente elásticas y recuperables (Rao 1999). El comportamiento observado es típico de las grasas plastificantes (*shortenings*) y de muestras compuestas por una mezcla de grasas (Buldo y Wiking 2012).

La estructura y distribución macromolecular en las grasas está determinada por la tendencia de las partículas sólidas para establecer uniones. La plasticidad en este tipo de sistemas se relaciona con la capacidad de las partículas sólidas para permanecer unidas y otorgar resistencia a la estructura frente a pequeños esfuerzos de deformación aplicados. En general las grasas presentan una alta capacidad para ser moldeadas. Cuando el esfuerzo aplicado aumenta se alcanza un punto en el que la estructura del sistema cede y experimenta un flujo plástico. La consistencia relativa de una grasa es por lo tanto una medida del esfuerzo requerido para provocar el flujo plástico o movimiento de la estructura. La resistencia interna del material se determina por el número de puntos de contacto entre los cristales (O'Brien 2004).

La respuesta elástica de las muestras MG1 y MG2 a la deformación aplicada fue significativamente mayor a la respuesta de MG3 (tabla 2.2). El nivel de la curva asociada al módulo de almacenamiento durante el barrido se relaciona con el número de enlaces a lo largo de la estructura molecular analizada (Schramm 2000). Por lo tanto, las muestras MG1 y MG2 pueden asociarse a sistemas con estructuras más complejas y entrelazadas debido a un gran número de puntos intermoleculares de interacción y contacto. El bajo valor del módulo de almacenamiento para MG3

permite asociar esta muestra con una estructura débil formada por un número bajo de interacciones entre sus componentes.

En cuanto a la respuesta viscosa, la muestra MG₁ presentó el mayor valor de la componente viscosa, seguida de MG₂ y MG₃ (tabla 2.2). Estos resultados concuerdan con Vreeker et al. (1992), quienes demostraron que las propiedades elásticas, específicamente el valor del módulo de almacenamiento, de la red cristalina de grasa varía con el contenido de sólidos grasos y la naturaleza fractal de la red. Durante la producción de materia grasa el contenido de sólidos disminuye. Un sistema que inicialmente posee un mayor contenido de sólidos presenta un comportamiento más viscoso, la menor movilidad de las partículas durante el calentamiento promueve la formación de microestructuras cristalinas de menor tamaño. En esta red los enlaces intra-microestructurales son más fuertes que los enlaces inter-microestructurales, por lo tanto la componente elástica del sistema está dominada por el comportamiento elástico de los enlaces entre las estructuras microcristalinas. Esto genera una estructura menos rígida con una mayor componente elástica, como en el caso de las muestras MG₁ y MG₂. Por otro lado, un sistema con menor contenido de sólidos presenta una menor viscosidad y por lo tanto al ser calentado la movilidad de las partículas es mayor. Esto promueve la formación de estructuras cristalinas de gran tamaño, cuyos enlaces intra-microestructurales resultan más débiles que los enlaces establecidos entre las distintas microestructuras. En este caso, la constante elástica del sistema está dominada por el comportamiento elástico de las microestructuras, es decir por las fuerzas de los enlaces intra-microestructurales. Esto genera una red con un comportamiento menos elástico que el de una red formada por cristales de mayor tamaño (Shih et al. 1990, Sciarini et al. 2013).

A un valor de frecuencia de 1 Hz, los resultados para la $\tan \delta$ no fueron significativamente diferentes (tabla 2.2). Sin embargo, MG₁ y MG₂ mostraron valores de $\tan \delta$ más cercanos a 1 que MG₃, lo cual puede relacionarse con un comportamiento más viscoso por parte de estas muestras frente a la deformación aplicada. El menor valor de $\tan \delta$ para MG₃ se asocia con una respuesta más bien elástica. Frente a una deformación aplicada las muestras MG₁ y MG₂ mostraron una respuesta de carácter viscoso que probablemente se relacionó con una mayor interacción entre sus elementos estructurales y un alto contenido de sólidos que le otorgaron al sistema mayor consistencia. Por otro lado, la muestra MG₃ con el contenido de sólidos más bajo presentó una estructura que frente a una deformación aplicada ejerció menor resistencia, es decir que el esfuerzo mínimo necesario para provocar el flujo de la misma resultó menor.

El comportamiento reológico de las muestras de materia grasa fue evaluado a diferentes temperaturas y frecuencia constante. Las muestras presentaron perfiles reológicos diferentes cuando se sometieron al calentamiento (figura 2.5). El módulo de almacenamiento fue mayor al módulo de pérdida en las tres muestras a lo largo de todo el barrido de temperatura. En la región 1 (0-39 °C) la componente elástica levemente disminuyó con el aumento de la temperatura. MG₁ presentó la mayor respuesta elástica, seguida de MG₂ y MG₃ (tabla 2.5). Esto revela que durante el calentamiento desde 0 hasta 39 °C, MG₁ presenta una estructura más compleja y entrelazada que las muestras MG₂ y MG₃. La componente elástica de MG₂ comienza a disminuir a una menor temperatura (35,9 °C) que las componentes elásticas de MG₃ (38,7 °C) y MG₁ (41,5 °C). Por lo tanto, MG₂ comienza a experimentar una desestructuración a menores temperaturas en comparación con MG₃ y MG₁. La muestra MG₁ presentó el mayor valor para la componente viscosa, seguida de MG₂ y MG₃.

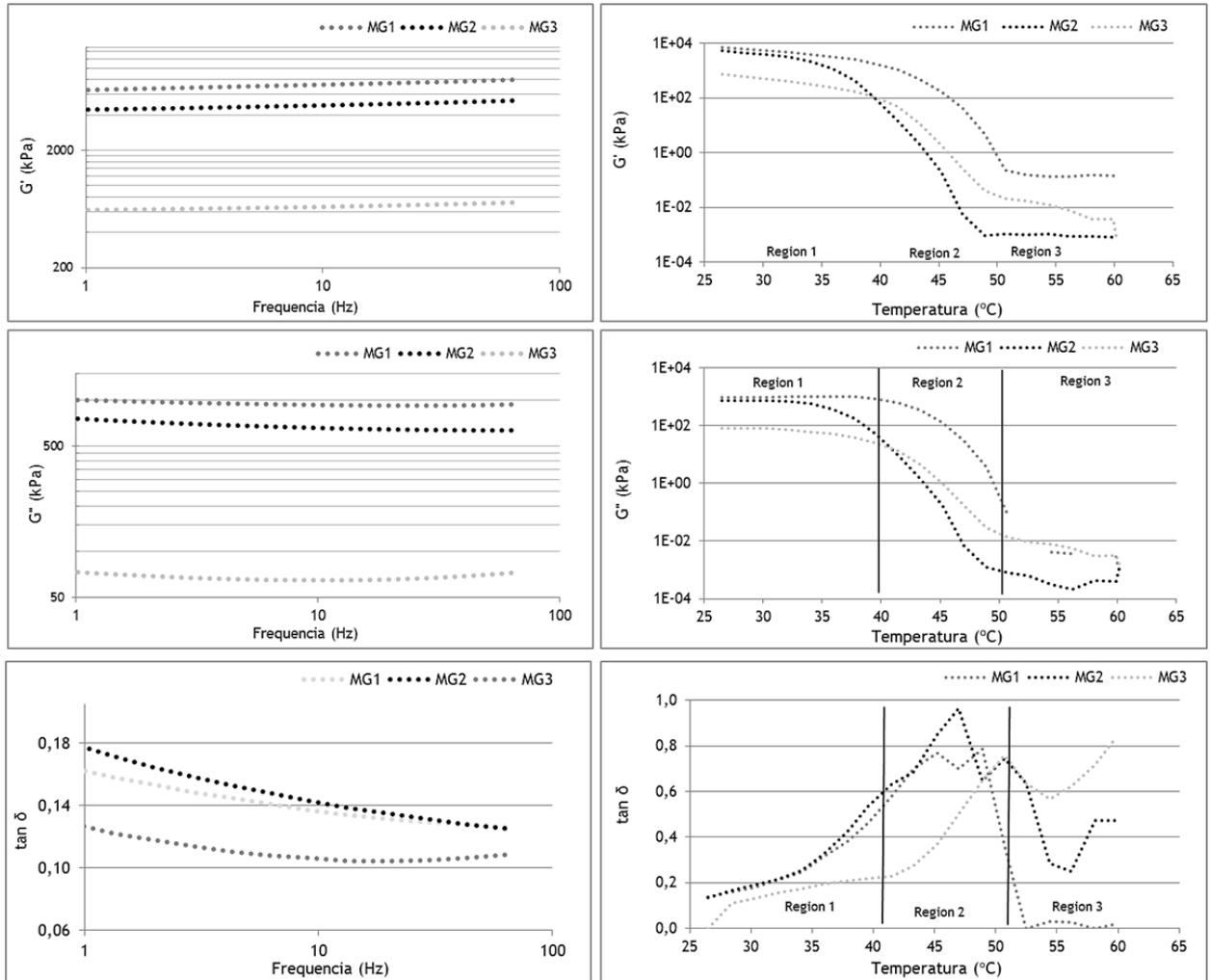


Figura 2.5 Barridos de frecuencia y temperatura de las muestras de materia grasa

Los mayores cambios reológicos tuvieron lugar en la región 2 (39-50 °C), donde se observó una gran disminución de los módulos elástico y viscoso a medida que aumentó la temperatura debido a la fusión de los cristales de las muestras de materia grasa. La desestructuración del sistema fue mayor que la que tuvo lugar a menores temperaturas. La muestra MG1 presentó la mayor componente elástica, seguida de MG2 y MG3 (tabla 2.5). La misma tendencia se observó para la componente viscosa (tabla 2.5). A temperaturas mayores a 50 °C (región 3), la componente elástica de las muestras permaneció constante, mientras que la componente viscosa mostró una leve disminución. A bajas temperaturas (0-39 °C), los valores de $\tan \delta$ de las muestras crecieron con el aumento de la temperatura y las tres muestras analizadas presentaron un comportamiento similar al de un líquido viscoelástico. Esta tendencia se relacionó con una marcada disminución de la componente elástica en comparación con la viscosa. A mayores temperaturas, 39-50 °C, se observó un aumento de la $\tan \delta$ para las muestras evaluadas. En esta región los valores de $\tan \delta$ de MG1 y MG2 fueron significativamente mayores a los de MG3 (tabla 2.5). Esto reveló que en el rango de temperaturas 39-50 °C las muestras con mayores contenidos de sólidos, MG1 y MG2, tuvieron mayor carácter de líquido viscoelástico lo cual se asoció con un comportamiento viscoso. A temperaturas mayores a 50 °C, las muestras presentaron un máximo en los perfiles de $\tan \delta$ que luego decayó con el aumento de la temperatura.

Tabla 2.5 Parámetros del barrido de temperatura y ajuste de la ecuación de Arrhenius de las muestras de materia grasa

Muestra	G' (kPa)		G'' (kPa)		tan δ		Ea (kcal.mol ⁻¹)	
	39 °C	45 °C	39 °C	45 °C	39 °C	45 °C	Región 1	Región 2
MG1	1765,0 ^a	168,0 ^a	818,5 ^a	129,5 ^a	0,47 ^a	0,77 ^a	0,24 ^a	4,14 ^a
MG2	92,1 ^b	0,2 ^b	49,3 ^b	0,2 ^b	0,53 ^a	0,87 ^a	0,20 ^a	3,20 ^a
MG3	108,8 ^b	2,0 ^b	24,8 ^b	1,0 ^b	0,23 ^b	0,51 ^b	0,26 ^a	3,75 ^a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras ($p \leq 0,05$).

Los cambios de viscosidad en función de la temperatura pueden ser descriptos a través de la relación planteada por la ecuación de Arrhenius. Las muestras presentaron diferentes valores de energía de activación (tabla 2.5), aunque las diferencias encontradas no fueron significativamente diferentes. En la región 1 la muestra MG3 obtuvo un mayor valor de energía de activación. Esto indica que MG3 fue la muestra más sensible al cambio de temperatura, con una velocidad de desestructuración del sistema mayor a MG1 y MG2. Igwe (2004) reportó la misma tendencia para aceites vegetales en solución, las muestras con mayores valores de energía de activación mostraron los menores valores de viscosidad intrínseca. En un sistema laminado compuesto por capas alternadas de masa y materia grasa, la capacidad de la materia grasa para desestructurarse y fluir con el aumento de la temperatura influye en la estructura final del panificado. En la región 2, la estructura de la muestra MG1 fue la que menor resistencia opuso a los cambios de temperatura, seguida de MG2 y MG3.

2.2.3 Caracterización estructural de las piezas de masa

Con el objetivo de estudiar el efecto de la utilización de muestras de materia grasa con diferentes propiedades estructurales sobre la organización de los componentes de la masa se tomaron micrografías confocales de piezas de masa laminada (figura 2.6). En las micrografías los gránulos de almidón se muestran de color verde, las proteínas en color rojo y las regiones oscuras pueden asociarse con la materia grasa. En las imágenes correspondientes a las capas de masa se observó que en las tres muestras hubo desarrollo de la red de gluten (figura 2.6.a.). Sin embargo, las masas con MG2 y MG3 mostraron un mayor desarrollo de la red de gluten en comparación con la muestra con MG1. Estos resultados indican que las grasas con contenidos de sólidos intermedios y bajos interfieren en menor medida en las interacciones que se establecen entre las proteínas durante la formación de la masa.

Las mayores diferencias en la distribución de los elementos estructurales se observaron en las imágenes de la interfaz masa|grasa|masa (figura 2.6.b.). En las piezas de masa elaboradas con las tres materias grasas se observó penetración de la capa de grasa en la capa de masa, sin embargo el nivel de penetración de la grasa fue diferente en cada muestra. En la muestra con MG1 la capa de masa presentó límites definidos y en la capa de grasa se observaron algunos gránulos de almidón aislados. Por otro lado, en la capa de grasa de la muestra con MG2 se observaron gránulos de almidón y proteínas pertenecientes a la capa de masa colindante. La muestra elaborada con MG3 se presentó una mayor penetración, hay una fase continua de almidón contenida en la capa de grasa y una capa de masa con límites irregulares. Las piezas de masa que presentaron estructuras más ordenadas fueron las elaboradas con grasas de altos SFC y con un comportamiento viscoso, como MG1 y MG2. Por lo tanto las estructuras más complejas y entrelazadas de MG1 y MG2 otorgaron rigidez al sistema e impidieron la penetración de la capa de grasa en la capa de masa durante el proceso de laminado.

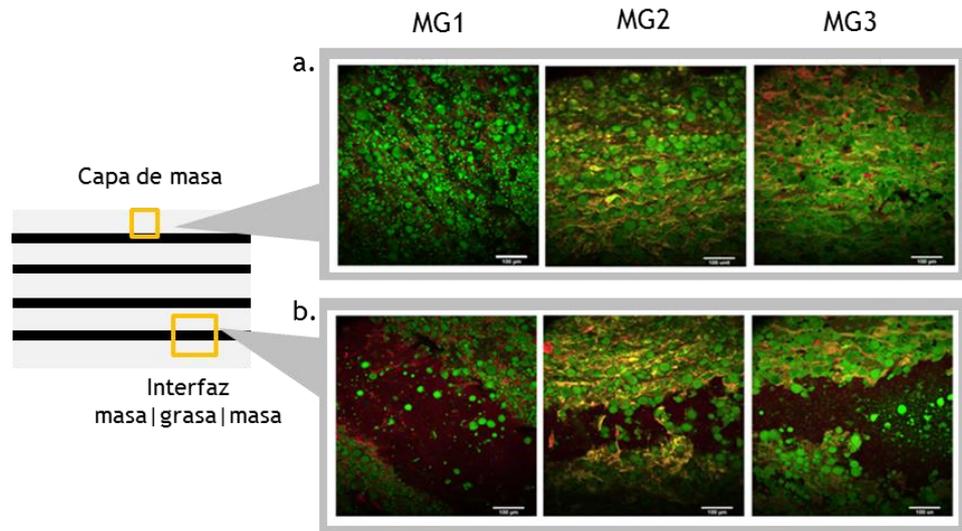


Figura 2.6 Microscopías confocales de piezas de masa laminada sin fermentación. **a.** Sección correspondiente a una capa masa. **b.** Sección de la interfaz masa|grasa|masa. En verde: gránulos de almidón, en rojo: proteínas, regiones oscuras: materia grasa.

Las piezas de masa laminadas presentaron diferentes comportamientos cuando fueron sometidas a una gran deformación. La muestra con MG1 fue más resistente a la deformación (19 ± 2 N, $p < 0,05$) que las muestras MG2 y MG3 ($12,3 \pm 0,4$ N y $5,900 \pm 0,002$ N respectivamente, $p < 0,05$). Esto reveló que las características estructurales de las muestras de materia grasa fueron diferentes y ejercieron cierto efecto sobre la capacidad del sistema laminado para soportar en distinta medida la deformación aplicada. Si bien las capas de masa de la muestra con MG1 mostraron una red de gluten menos desarrollada que el resto de las muestras, la estructura laminada fue la menos deformada durante la compresión. La microscopía de la interfaz masa|grasa|masa reveló una distribución de los elementos estructurales del sistema más ordenada y estructurada. El comportamiento de la muestra MG1 caracterizado por una mayor estructuración y carácter viscoso, impidió el flujo y la irrupción de la grasa durante la laminación y su consecuente disrupción. Por otro lado, la muestra con MG3 que presentó un mayor desarrollo de gluten en la capa de masa obtuvo una menor resistencia a la deformación. Esto puede explicarse al tener en cuenta el comportamiento menos viscoso de MG3 que produjo una estructura interna poco estratificada en láminas como resultado de su mayor capacidad para fluir. Esto revela que el comportamiento global del sistema frente a una deformación, como puede ser el laminado en el proceso de producción, está fuertemente influenciado por las propiedades de la capa de grasa y en menor medida por el efecto de la grasa contenida en las capas de masa. Legendijk y van Daltsen (1965) estudiaron la estructura interna de piezas de masa tipo *puff pastry* elaboradas con margarina. En las piezas de masa con mayor resistencia a la extensión los autores observaron una estructura laminada con algunos puntos de intersección entre las delgadas capas de grasa y masa. Mientras que en las piezas de masa con menor resistencia a la extensión se observó la ausencia de una estructura laminada.

2.2.4 Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados

La evaluación del efecto de las propiedades estructurales de la grasa sobre la estructura de los panificados laminados se realizó mediante la elaboración de los productos (figura 2.7) y la valoración de su calidad tecnológica. La vista lateral de los

panificados elaborados con MG1 y MG2 reveló una estructura laminada con capas delgadas alineadas horizontalmente. En el caso de la muestra con MG3 se observó una estructura laminada con ciertas disrupciones, las capas se presentaron fusionadas y formaron estratos gruesos en la parte superior de la vista lateral.

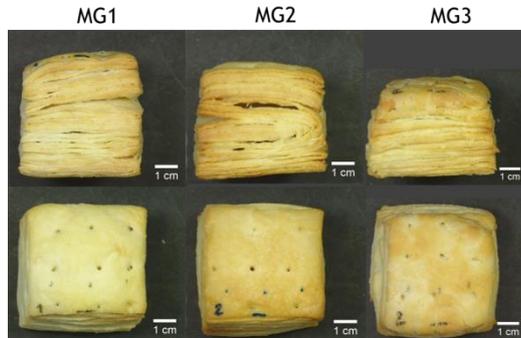


Figura 2.7 Panificados laminados salados elaborados con diferentes muestras de materia grasa

Por otro lado, las imágenes de la vista superior de los panificados revelaron que las muestras con MG1 y MG2 presentaron un comportamiento similar. El proceso de producción no generó cambios en la forma otorgada inicialmente. Mientras que los productos con MG3 parecen haber experimentado una cierta expansión en dirección lateral, de manera tal que la forma otorgada inicialmente durante la elaboración se vio modificada.

El desarrollo de la estructura del producto panificado durante el proceso de producción se evaluó mediante las dimensiones de las piezas de masa (altura, ancho y largo), al inicio y finalización de la fermentación y sobre el producto final luego de 1 h de horneado.

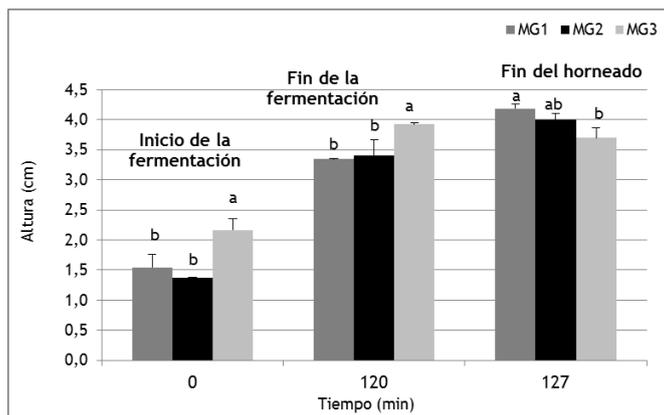


Figura 2.8 Crecimiento vertical de los panificados elaborados con las tres muestras de materia grasa. Letras diferentes en cada etapa del proceso indican diferencias significativas entre las muestras ($p \leq 0,05$).

Al inicio de la fermentación la pieza de masa elaborada con MG3 presentó un valor de altura levemente mayor al de las piezas con MG1 y MG2. Si bien las piezas fueron tratadas de igual manera, es decir el espesor de las muestras se ajustó a 1,5 cm mediante rodillo, la estructura laminada con MG1 presentó una mayor resistencia a la deformación en el ensayo con el texturómetro; los resultados encontrados indican que hay un efecto relacionado al proceso de relajación que experimentan las piezas de masa. Las estructuras laminadas con MG1 y MG2 fueron evaluadas como sistemas con mayor capacidad para soportar la aplicación de una fuerza en comparación con la

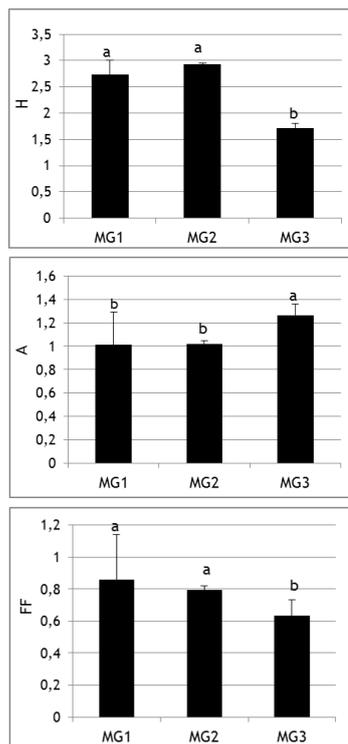


Figura 2.9 Parámetros de evolución conformacional de los panificados. H: relación de altura, A: relación de ancho, FF: factor de forma. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

estructura de MG3. El mayor carácter viscoso de las muestras de materia grasa MG1 y MG2 otorgó rigidez a los sistemas e impidió que las estructuras se relajen en igual medida que la masa con MG3; como consecuencia presentaron menores valores de altura luego de aplicar una deformación con el rodillo. Luego de la fermentación la muestra con MG3 presentó un valor de altura levemente mayor que la muestra con MG2, seguida de MG1. Durante la fermentación, el crecimiento de la estructura se produce por la generación de dióxido de carbono por parte de las levaduras en las capas de masa, por consiguiente las capas de masa aumentan su volumen. El aumento de la altura total del sistema laminado dependerá de las características estructurales de las capas de masa y grasa. Una grasa de comportamiento viscoso y con una gran cantidad de puntos de contacto generando una estructura compleja y entrelazada formará una capa con mayor rigidez y por lo tanto con mayor capacidad de ejercer resistencia al crecimiento de la capa de masa. La menor viscosidad y rigidez de las capas de grasa de MG3 le otorgaron al sistema laminado mayor capacidad para crecer durante la fermentación, ya que la presión ejercida sobre la capa de masa resulta menor que en el resto de las muestras.

Durante la cocción los sistemas laminados con MG1 y MG2 presentaron una velocidad de crecimiento mayor a la de la muestra con MG3. Al finalizar el horneado los productos con MG1 y MG2 fueron más altos que los elaborados con MG3, los panificados con MG3 disminuyeron su altura durante el horneado. Durante el horneado el crecimiento vertical de la estructura se debe al vapor de agua generado cuando el agua contenida en las capas de masa se evapora y es atrapada en las capas de grasa en fusión. La expansión del sistema durante el calentamiento depende en gran medida de la capacidad de las capas de masa para permanecer separadas y discretas de las capas de grasa. Durante el barrido de temperatura las muestras de materia grasa MG1 y MG2 presentaron un comportamiento de mayor carácter viscoso y con menor velocidad de desestructuración que la muestra MG3. Las características estructurales de MG1 y MG2 permitieron formar capas de grasa que, frente a la acción del calor, conservaron en mayor medida la integridad de su estructura y por consiguiente la penetración en las capas de masa adyacentes se dio en menor medida promoviendo así un mayor crecimiento vertical del sistema. Por otro lado, las capas de grasa de MG3 con un comportamiento menos viscoso y con mayor velocidad de desestructuración generaron un sistema de capas que durante el horneado colapsó impidiendo la separación entre las capas y promoviendo la formación de una estructura laminada discontinua.

Con el objetivo de evaluar la magnitud del crecimiento en dirección vertical y horizontal de las piezas desde el inicio de la fermentación hasta la finalización del horneado se determinó la relación de altura y ancho (figura 2.9). Las muestras con MG1 y MG2 presentaron mayores valores de relación de altura y menores valores de relación de ancho en comparación con la muestra con MG3. Esto indica que las piezas de masa con MG1 y MG2 durante el proceso de producción experimentaron un mayor crecimiento en dirección vertical, mientras que la muestra con MG3 se expandió mayormente en dirección horizontal. El sistema de masa laminada con levadura mantiene su simetría y forma si durante la fermentación se minimiza la expansión lateral y se promueve el crecimiento vertical en el horneado (de la Horra et al. 2015). El factor de forma es un parámetro de calidad cuya magnitud está determinada por las tres dimensiones que caracterizan al producto horneado y se relaciona con su simetría. Los panificados elaborados con MG1 y MG2 presentaron mayores valores del factor de forma, esto permite asociar a estas muestras con sistemas que al finalizar el horneado presentaron una mayor altura, y menor ancho y largo que los productos con MG3.

No se observaron diferencias significativas en los valores de volumen específico de los panificados elaborados con las tres muestras de materia grasa (tabla 2.6). Pimdit et al.

(2008) no reportaron diferencias significativas en los valores de volumen específico para productos del tipo *puff pastry* con contenido reducido de materia grasa.

Tabla 6 Parámetros de calidad de los panificados elaborados con las muestras de materia grasa

Muestra	VE (g/cm ³)	L*	a*	b*	Firmeza (N)
MG1	(3,4±0,0) ^a	(72±1) ^a	(5,0±0,9) ^b	(31±1) ^b	(44±5) ^a
MG2	(3,8±0,7) ^a	(68±1) ^{ab}	(8±2) ^{ab}	(38±1) ^a	(35±4) ^b
MG3	(4±1) ^a	(63±2) ^b	(12±2) ^a	(41±1) ^a	(20±5) ^c

VE: volumen específico. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

La materia grasa utilizada para la elaboración de los productos laminados tuvo un efecto significativo sobre los parámetros de color de la corteza. Los panificados elaborados con materias grasas de mayores SFC presentaron cortezas más claras, con mayores valores de L* (tabla 2.6), mientras que la utilización de MG₃ provocó la obtención de cortezas más oscuras. Las muestras presentaron valores positivos para los parámetros a* y b*. Los productos con MG₃ presentaron la mayor intensidad de los colores amarillo y rojo, seguidas de MG₂ y MG₁. Los panificados con MG₁ mostraron los mayores valores de firmeza, seguidos de los productos con MG₂ y MG₃ (tabla 2.6). Esto permite asociar a los productos con MG₁ con estructuras laminadas que frente a una deformación poseen características estructurales tales que le permiten al sistema ejercer mayor resistencia frente a una deformación aplicada. Mientras que las muestras con MG₃ poseen una estructura de características tales que frente a una deformación aplicada ejercen una resistencia mucho menor.

El efecto de la utilización de tres muestras de materia grasa con diferentes propiedades estructurales sobre la conformación de la estructura interna de los panificados se evaluó mediante un análisis textural de imágenes. A partir de este ensayo se obtuvieron parámetros que permitieron caracterizar la estructura interna en términos de textura (tabla 2.7).

Tabla 2.7 Parámetros del análisis textural de imágenes de cortes transversales de los panificados

Muestra	Homogeneidad	Contraste	Entropía	FD
MG1	0,2 ^c	68,9 ^a	7,7 ^a	1,8 ^a
MG2	0,4 ^a	41,9 ^b	7,2 ^b	1,8 ^a
MG3	0,3 ^b	44,5 ^b	7,0 ^b	1,6 ^b

FD: dimensión fractal. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Las muestras con MG₁ y MG₂ presentaron estructuras internas con alveolos más bien alargados lo cual indica la formación previa de capas (figura 2.10). Por otro lado, en las muestras con MG₃ se observó una estructura con alveolos y la presencia de capas aisladas. Las muestras presentaron diferencias significativas al evaluar la homogeneidad. Los panificados con MG₂ presentaron estructuras internas más homogéneas con una mayor uniformidad textural, seguidos de MG₃ y MG₁. Los productos con MG₁ presentaron valores de contraste significativamente mayores a las muestras con MG₂ y MG₃. Esto permite asociar a las muestras con MG₁ con imágenes con una alta variación en la escala local de grises. En el capítulo 1 se estudió el efecto de muestras de harina de diferentes tipos de trigo sobre la estructura interna de panificados laminados y se observó que en general la presencia de capas se asociaba con bajos valores de contraste. Sin embargo, se advirtió la posible existencia de un límite a partir del cual la gran cantidad de espacios alargados y la consiguiente

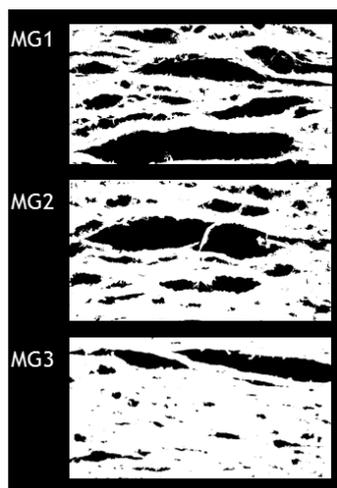


Figura 2.10 Imágenes binarizadas de la estructura interna de panificados laminados elaborados con las tres muestras de materia grasa

presencia de láminas incrementaban el valor del contraste. En el caso de las muestras con MG1 se obtuvo un alto valor de contraste en comparación con el resto de las muestras, lo cual se asocia con la formación de un gran número de capas que producen una alta variación en la escala de grises de un pixel. En otro extremo se encontró la muestra con MG3 que presentó bajos valores de contraste debido a la presencia mayormente de alveolos distribuidos de manera irregular y a grandes espacios sin alveolos o capas. Esta disposición de los elementos estructurales provocó que la variación local en la escala de grises de un pixel sea menor. Las muestras elaboradas con MG1 mostraron mayores valores de entropía, mientras que no se encontraron diferencias significativas para este parámetro entre las muestras con MG2 y MG3. Esto indica que las muestras con MG1 presentaron estructuras más complejas, mientras que los productos elaborados con MG2 y MG3 tuvieron una conformación estructural más simple y ordenada. La morfología de los objetos de estudio (alveolos y láminas) en las imágenes se evaluó mediante la dimensión fractal.

Las muestras con MG3 obtuvieron menores valores de la dimensión fractal, lo cual permite asociarlas con una conformación estructural más simple y suave. Por otro lado, los productos elaborados con MG1 y MG2 que presentaron valores mayores de dimensión fractal, pueden ser consideradas como estructuras más complejas con superficies rugosas. La estructura interna de los panificados laminados se vio afectada cuando se utilizaron diferentes muestras de materia grasa para su elaboración. Los productos elaborados con materia grasa de mayor contenido de sólidos, estructura compleja y entrelazada y por consiguiente de comportamiento viscoso, como MG1 y MG2, presentan estructuras internas más complejas y heterogéneas. Por otro lado, cuando se utiliza una grasa con bajo contenido de sólidos y una gran velocidad de desestructuración frente al calor, los productos laminados que se obtienen presentan una estructura menos compleja.

2.2.5 Evaluación sensorial de los panificados

La evaluación de la preferencia de los consumidores sobre los productos laminados elaborados con diferentes materias grasas se determinó mediante un análisis sensorial afectivo (tabla 2.8). Los panificados elaborados con MG1 y MG2 presentaron medias de rangos significativamente mayores para los parámetros de apariencia general y sabor en comparación con las muestras elaboradas con MG3 (tabla 2.8). Esto indica que las muestras elaboradas con MG1 y MG2 fueron las más preferidas por los consumidores en términos de sabor y apariencia general.

Tabla 2.8 Parámetros del test de Friedman para los atributos evaluados en el ensayo afectivo de panificados laminados

Muestra	Aspecto general		Olor		Sabor	
	Suma de rangos	Media de rango	Suma de rangos	Media de rango	Suma de rangos	Media de rango
MG1	188,5	2,22 ^b	172,5	2,03 ^a	180,5	2,12 ^b
MG2	190,5	2,24 ^b	178,0	2,09 ^a	185,5	2,18 ^b
MG3	131,0	1,54 ^a	159,5	1,88 ^a	144,0	1,69 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

No se observaron diferencias significativas en la preferencia de los consumidores cuando evaluaron el olor de los panificados elaborados con distintas muestras de materia grasa. Los panificados más preferidos por los consumidores fueron aquellos con cortezas más claras y menores intensidades de los colores amarillo y rojo, y con una apariencia lateral externa que reflejó la formación de láminas en el interior.

Baardseth et al. (1995) evaluaron sensorialmente la preferencia de consumidores sobre panificados tipo *Danish pastry* y reportaron que el tipo de *shortening* utilizado tenía influencia en el sabor y el olor de las muestras.

La evaluación analítica de los atributos sensoriales se realizó mediante un ensayo descriptivo múltiple cuyos resultados se representaron en la figura 2.11. Se evaluaron atributos mediante observación visual y manipulación bucal. Los panificados con MG1 fueron evaluados como más simétricos que los que se elaboraron con MG2 y MG3 ($p \leq 0,05$). Se encontraron diferencias significativas en la apariencia escamosa de la corteza entre las muestras evaluadas. Las muestras con MG2 presentaron cortezas con un mayor nivel de escamas que los panificados con MG3 y MG1. La distribución de alveolos y láminas en una sección transversal del producto se evaluó mediante el parámetro de uniformidad. Las muestras con MG3 fueron evaluadas por los panelistas como los productos con una mayor uniformidad en la disposición de alveolos y láminas, seguidas de los panificados con MG2 y MG1. Las muestras con MG2 y MG1 obtuvieron mayores valores para el parámetro de laminado que los productos con MG3 ($p \leq 0,05$). Esto indica que los productos con MG2 y MG1 fueron evaluados como panificados de estructura interna con una mayor cantidad de láminas que las muestras elaboradas con MG3. No se encontraron diferencias significativas en el nivel de alveolado de la estructura interna de los productos. Sin embargo, el contenido de alveolos en las muestras con MG1 y MG2 fue mayor al de la muestra elaborada con MG3.

Entre los atributos evaluados mediante manipulación bucal, solo se encontraron diferencias significativas para el parámetro de firmeza. Los panificados con MG3 fueron percibidos como los más firmes, seguidos de los elaborados con MG1 y MG2. En cuanto a la percepción de la grasa, la tendencia observada mostró que los panelistas experimentaron una mayor percepción de la grasa durante la masticación de productos con MG2 que cuando evaluaron las muestras con MG1 y MG3.

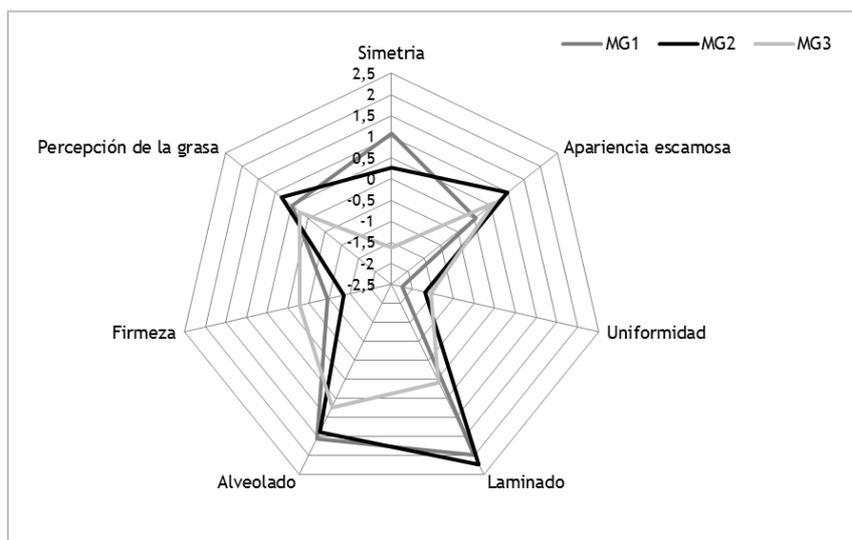


Figura 2.11 Representación de los atributos sensoriales analizados en la evaluación descriptiva múltiple de panificados laminados

La evaluación sensorial reveló que los productos elaborados con las muestras de materia grasa con mayores SFC y propiedades viscosas fueron más preferidos. Estos panificados fueron evaluados por los panelistas como productos simétricos y con un alto nivel de escamas en sus cortezas, con una distribución de alveolos y láminas heterogénea y con altos niveles de laminación.

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial de los productos laminados permitieron establecer a la simetría y al nivel de laminación de la estructura interna como atributos positivos. Es decir, que a mayores valores de simetría y nivel de laminado mayor es la calidad de los panificados. Por otro lado, la firmeza y la uniformidad de la estructura interna pueden ser considerados como atributos negativos. Es decir, que cuantos más bajos sean los valores de firmeza y uniformidad mejor será la calidad de los productos laminados.

2.3 CONCLUSIONES

La calidad tecnológica y sensorial de panificados laminados con levadura está relacionada con las propiedades estructurales de la materia grasa utilizada en su elaboración.

El contenido de sólidos y el comportamiento reológico de la materia grasa influyen en la conformación de los elementos estructurales de la masa laminada. Las muestras de materia grasa que presentaron un contenido de sólidos mayor a 20 % en un rango de temperatura de 15-35 °C un tuvieron comportamiento viscoso, relacionado a una estructura con mayores puntos de contacto, y fueron menos sensibles a los cambios de temperatura. Como consecuencia se obtuvieron piezas de masa con una estructuración de las capas de grasa y masa más regular y homogénea que impidió el colapso entre las capas de masa y grasa durante el proceso de producción. Esta conformación estructural le otorgó al sistema mayor consistencia y resistencia a la deformación y promovió el crecimiento en dirección vertical en lugar de la expansión lateral, conservando la simetría durante los procesos de fermentación y cocción. Luego del horneado se obtuvieron panificados de mayor altura, con una estructura interna compleja formada por láminas. Estos productos resultaron los más preferidos por los evaluadores y fueron caracterizados por una gran simetría y un mayor nivel de laminado de la estructura interna.

Sección II Panificados laminados libres de gluten

Capítulo 3

Efecto de la incorporación de hidrocoloides sobre propiedades estructurales de las masas y la calidad tecnológica de los panificados LG

Las masas libres de gluten (LG) carecen de una red continua de proteínas; por lo que el almidón, presente en una gran proporción, es el principal elemento estructural. Esto provoca cambios indeseables en las propiedades de las masas. Por lo tanto, es necesario utilizar hidrocoloides para parcialmente imitar las propiedades de la red de gluten. Durante el mezclado y amasado, en el caso de un producto como el pan, se ha establecido que el mecanismo de estabilización de las celdas de gas dispersas se basa principalmente en la viscosidad del medio (Rosell et al. 2001). Por lo tanto, con la utilización de hidrocoloides se busca generar una matriz continua que retenga a los demás elementos estructurales presentes en un sistema LG y que aporte viscosidad al medio.

La mayoría de las formulaciones estudiadas para obtener panes LG requieren una gran cantidad de agua y por lo tanto en su preparación se utilizan batidoras en lugar de amasadoras. El rol de los hidrocoloides en las propiedades de los batidos ha sido ampliamente estudiado. En este tipo de sistemas LG la presencia de los hidrocoloides contribuye con el mejoramiento de las propiedades viscoelásticas, ya que hay un aumento de la elasticidad. Por otro lado, absorben agua y presentan la capacidad de formar geles; lo cual aumenta la viscosidad del sistema y contribuye con la fijación de la estructura. Además de poseer cierta actividad surfactante, que promueve la estabilización de las celdas de gas (Renzetti y Rosell 2016).

La contribución de los hidrocoloides en el proceso de estructuración de sistemas LG depende de sus propiedades reológicas e interfaciales y de su capacidad para formar geles, las cuales a su vez dependen en gran medida de su origen y estructura química (Lazaridou et al. 2007). Por lo tanto la elección del hidrocoloide a incorporar está determinada por la función y posición que se espera que el aditivo cumpla en el alimento. La funcionalidad del hidrocoloide también es afectada por la forma en que interactúa con los otros componentes presentes en el medio, además del agua (Foster y Wolf 2011).

Numerosos estudios se han llevado a cabo sobre el efecto de la incorporación de hidrocoloides en productos panificados que cuando son elaborados con harina de trigo requieren el desarrollo de la red de gluten, como el pan, masa para pizza y otros. Sin embargo, en panificados laminados salados tipo *puff pastry* no se han encontrado evidencias del estudio del efecto del agregado de hidrocoloides en las propiedades de masas LG y en la calidad tecnológica de los panificados.

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1 Ensayos preliminares

Se estudió la utilización de muestras comerciales de almidón de mandioca (M) (LITESOL MB, Argentina) y harinas de soja (S) (NICCO, Argentina) y arroz (A) (Cultivos de Avena SRL, Argentina). Los distintos ingredientes se evaluaron en combinación para la obtención de panificados laminados LG. Se utilizaron dos combinaciones, m₁ (A/M/S: 45:45:10) y m₂ (A/M/S: 35:45:20).

Caracterización físico-química de las muestras de harina y almidón

Se determinó el contenido de humedad (Método 44-15.02, AACC, 2000), cenizas (Método 08-01.01, AACC, 2000) y proteínas (Método 46-10.01, AACC, 2000) de las harinas de arroz y soja y del almidón de mandioca según lo descrito en el capítulo 1. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

Análisis de la viscosidad (Método 76.21.01, AACC, 2000)

Las propiedades de viscosidad de las harinas de arroz y soja, del almidón de mandioca y de las combinaciones m₁ y m₂ se determinaron a través de un Viscoanalizador Rápido (RVA) según se describió previamente en el capítulo 1. El ensayo de RVA se realizó por duplicado.

Elaboración de piezas de masa laminada libres de gluten

Se elaboraron piezas de masa laminada saladas libres de gluten (LG) utilizando las combinaciones m₁ y m₂, tres porcentajes de agua (76, 68 y 60 %). Además, a partir de los resultados obtenidos en el capítulo 2 para panificados con harina de trigo, se valoró la utilización de dos muestras de materia grasa, MG₁ y MG₂. En cada formulación además se utilizó levadura seca (0,5 %), sal (2,5 %), azúcar (1,4 %) y esencia de vainilla (3,5 %), materia grasa (12,8 %).

Las harinas de arroz y soja y el almidón de mandioca se incorporaron hasta obtener una mezcla homogénea. La levadura y la sal se disolvieron previamente y se agregaron por separado. Se amasó la mezcla durante 3 minutos en una amasadora MPZ (Pedro Zambom e hijos, Córdoba, Argentina). La temperatura del agua se calculó para obtener una temperatura final de la masa de 21±1 °C. La masa resultante se cubrió y se dejó descansar en heladera a 9 °C durante 24 h. Una vez cumplido este período de descanso refrigerado, la masa fue extendida en forma rectangular y la mitad se cubrió con 33,3 % de materia grasa. Luego la parte libre del rectángulo de masa se dobló sobre la porción con materia grasa y se cerraron los bordes para evitar pérdidas.

La masa obtenida fue laminada en una sobadora MA-AR (ACRILIC Tissot, Argentina) con dos rodillos de 50,0 x 12,7 cm. Se redujo el espesor de la masa a 60 mm en seis pasos sucesivos de laminado para no producir daños en la estructura de la misma. Sobre la masa resultante se realizó un procedimiento de "vuelta simple", se marcaron tres partes, se encimó una sobre la otra y se cerraron los bordes. La masa se dejó en reposo durante 20 min en heladera a 9 °C. Luego el espesor de la masa fue ajustado a 50 mm en siete pasos sucesivos de laminado y se realizó nuevamente una vuelta simple. Seguidamente la masa reposó durante 20 minutos en heladera a 9 °C y después su espesor fue ajustado a 50 mm. Se realizó una última vuelta simple y el espesor de la masa se ajustó mediante rodillo a 150 mm. Los sucesivos laminados se realizaron en ambas direcciones para que la estructura se fortaleciera de manera homogénea y para evitar crecimiento irregular del producto en alguna de las dos

direcciones. Finalmente se cortaron los bordes externos de la masa y se realizaron perforaciones circulares (diámetro= 2 mm) cada 1,6 cm a lo largo de la masa y se cortaron piezas de masa (5 cm x 5 cm). Tres productos por cada muestra de harina fueron elaborados y el procedimiento se realizó por duplicado.

Resistencia de la masa a la deformación

Se determinó la resistencia de la masa a la deformación mediante un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, MA, EUA). El ensayo realizó sobre piezas de masas laminadas no fermentadas preparadas como se describió previamente. Las muestras se sometieron a un test de compresión mediante una sonda cilíndrica (diámetro= 25 mm) bajo las siguientes condiciones: celda de compresión de 500 N; velocidad del cabezal 1 mm/s; deformación máxima 40 %. Mediante el software BluehillR 2.27 (Instron, EUA) se obtuvieron las curvas de carga de compresión en función de la deformación por compresión y la resistencia a la deformación se definió como el valor máximo obtenido. Se evaluaron tres piezas de masa por cada formulación y cada prueba se realizó por duplicado.

Elaboración de panificados laminados salados libres de gluten

Se prepararon piezas de masa laminada como se describió anteriormente, utilizando las combinaciones m1 y m2, materia grasa MG2 y un 60 % de agua. Las piezas de masa se hornearon a 210 °C y durante 10 minutos en un horno a convección Beta 107 IPA (Pauna, Argentina). Se elaboraron al menos tres piezas con cada combinación y el procedimiento se realizó por duplicado.

3.1.2 Evaluación de la incorporación de hidrocoloides

Se empleó la combinación m2, compuesta por 35 % de harina de arroz, 45 % de almidón de mandioca y 20 % de harina de soja. Se evaluó la incorporación de hidrocoloides según la tabla 3.1.

Tabla 3.1 Hidrocoloides empleados

Hidrocoloide	Marca	Concentración (g/100 g harina)	Muestra
Goma xántica	NICCO	2,5	Xan 2,5 %
		5,0	Xan 5 %
Hidroxipropilmetil celulosa K4M	VIVAPUR	2,5	HPMC 2,5 %
		5,0	HPMC 5 %
Psyllium P95	Vitacel	2,5	Psy 2,5 %
		5,0	Psy 5 %

Se hicieron soluciones de 2,5 % de hidrocoloide en agua y se evaluó su comportamiento en un ensayo realizado mediante una Viscoanalizador Rápido (RVA (Newport Scientific Pty Ltd., Australia). Las muestras presentaron los perfiles de viscosidad observados en la figura 1.

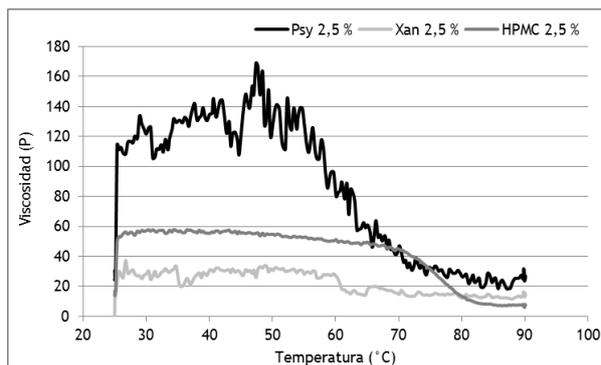


Figura 3.1 Viscosidad de soluciones de hidrocoloides. Psy: *psyllium*, Xan: goma xántica.

Elaboración de panificados laminados salados libres de gluten

Tabla 3.2 Formulación de panificados laminados libres de gluten

Ingrediente	g/100g
Harina de arroz	35,0
Almidón de mandioca	45,0
Harina de soja	20,0
Materia grasa	12,8
Levadura seca	0,5
Sal	2,5
Azúcar	1,4
Esencia de vainilla	3,5

Los panificados laminados salados libres de gluten (LG) se elaboraron utilizando la formulación detallada en la tabla 3.2. Se realizaron panificaciones con la incorporación de hidrocoloides según las dosis detalladas en la tabla 1 y sin aditivos (muestra control). La cantidad de agua incorporada fue determinada experimentalmente de acuerdo a la concentración del hidrocoloide incorporado (tabla 3.3), las condiciones de trabajo y en base a pruebas previas sobre la consistencia deseable de la masa luego del amasado.

El proceso de elaboración de los productos se realizó como se describió previamente en la sección 3.1.1. Se elaboraron tres productos con cada hidrocoloide y sin aditivos y el procedimiento se realizó por duplicado.

Estudio de las interacciones en el sistema masa

Comportamiento reológico

Ensayo de deformación-relajación. La evaluación del carácter viscoelástico de las masas durante un período de tiempo se realizó mediante un ensayo de compresión. En una primera etapa, se aplica un esfuerzo (σ) normal de manera constante y se observa en el tiempo el cambio producido en términos de deformación (ϵ). En una segunda parte, el esfuerzo inicialmente aplicado es removido y parte de la deformación es recuperada (figura 3.2.a). En esta etapa de recuperación se determina como el material busca alcanzar un nuevo estado de equilibrio.

Los sistemas viscoelásticos presentan simultáneamente características de sólido y fluido, por lo que fluyen y se deforman al mismo tiempo. Por lo tanto, cuando un material viscoelástico es sometido a un esfuerzo, este sufre una deformación instantánea y luego continua deformándose en función del esfuerzo aplicado. Posteriormente, cuando el esfuerzo es removido, parte de la forma original es recobrada (componente elástica) y parte se pierde (componente viscosa).

La respuesta del material durante el ensayo de deformación puede ser descripta en términos de "capacitancia" (*creep compliance*) (J) (ecuación 3.1). Donde ϵ es la deformación que experimenta la muestra y σ es el esfuerzo aplicado (Steffe 1996). La capacitancia define cuan sensible al esfuerzo de deformación es la muestra; es decir, a mayores valores de capacitancia mayor facilidad presenta la muestra para ser deformada por el esfuerzo aplicado (Schramm 2000).

El modelo mecánico más simple que se utiliza para interpretar el comportamiento reológico de un sistema viscoelástico, por ejemplo una masa de harina de trigo, es el modelo de Burgers. Cuando una fuerza constante es aplicada a la masa, se obtiene una respuesta inmediata que está dada por la deformación elástica, seguida por una

Tabla 3.3 Cantidad de agua empleada en la formulación de panificados laminados LG

Muestra	Agua (%)
Control	50,5
Xan 2,5	48,0
Xan 5	49,0
HPMC 2,5	54,0
HPMC 5	59,6
Psy 2,5	53,0
Psy 5	57,0

deformación elástica demorada en el tiempo, y finalmente un flujo viscoso. Las dos primeras respuestas son denominadas capacitancia, mientras que el tercer estado es llamado viscosidad newtoniana (Steffe 1996). El modelo de Burgers es una combinación en serie del modelo de Kelvin y Maxwell que describe el comportamiento viscoelástico de un material (ecuación 3.2). En este modelo J_0 es la capacitancia elástica instantánea, J_1 es la capacitancia elástica retardada, λ_{ret} es el tiempo de retraso de la componente Kelvin y η_0 viscosidad newtoniana. La figura 2.b. muestra la curva que representa el comportamiento típico de un material viscoelástico. En la región A-B la respuesta obtenida se debe a que los enlaces entre las diferentes unidades estructurales que conforman al sistema experimentan una deformación elástica; si el esfuerzo fuera removido la estructura se recuperaría por completo. La magnitud que representa las propiedades elásticas del sistema en esta región es la capacitancia elástica instantánea. En la región B-C el esfuerzo aplicado provoca la ruptura y deformación de los enlaces entre las unidades estructurales. Sin embargo, debido a que la ruptura y la deformación de todos los enlaces existentes no ocurren al mismo tiempo se observa una respuesta elástica retardada dependiente del tiempo.

La región C-D presenta una respuesta lineal debido al comportamiento de flujo viscoso que exhibe el sistema como resultado de la ruptura de los enlaces entre las unidades estructural lo cual provoca que unas fluyan sobre otras. Cuando el esfuerzo es removido se observa una respuesta caracterizada por la recuperación elástica de la estructura (región D-E), seguida de una recuperación elástica retardada (región E-F). Debido a que ciertos enlaces entre las unidades estructurales se rompieron durante el ensayo en la región C-D, parte de la estructura no se recupera.

$$J = f(t) = \frac{\varepsilon(t)}{\sigma}$$

Ecuación 3.1 Capacitancia (creep compliance)

$$J(t) = J_0 + J_1 \left(1 - e^{(-t/\lambda_{ret})} + \left(\frac{t}{\eta} \right) \right)$$

Ecuación 3.2 Modelo de Burgers

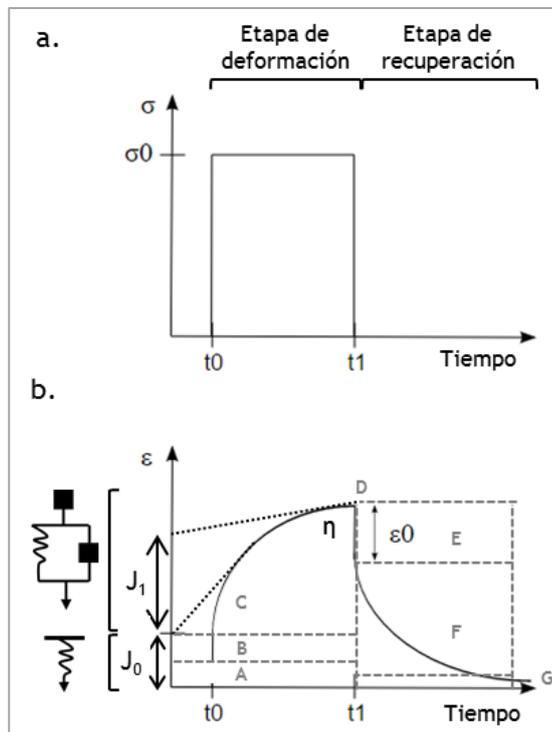


Figura 3.2 Ensayo de deformación-relajación de un material viscoelástico. a. Estímulo aplicado. b. Respuesta del sistema en términos de deformación.

Se prepararon piezas de masa según la formulación descrita en la tabla 3.2 y con la incorporación de hidrocoloides según la tabla 3.3 y sin aditivos. Las determinaciones se realizaron sobre piezas de masa sin laminar antes y después del descanso en heladera a 9 °C durante 24 h.

El ensayo de deformación-relajación se realizó mediante un reómetro de esfuerzo controlado RHEOPLUS/32 (Anton Paar, Alemania) y se utilizó una geometría de platos paralelos (diámetro= 25 mm). Las muestras de masa sin laminar fueron colocadas en el plato inferior y se ajustó el espesor con una apertura de 2 mm. Las muestras permanecieron en reposo durante 9 min antes de comenzar el ensayo. Las mediciones se realizaron bajo un esfuerzo normal constante de 2,00 kPa durante 300 s. Los datos obtenidos fueron analizados según el modelo de Burgers. Los parámetros del modelo se estimaron por un ajuste no lineal de los resultados mediante el software RHEOPLUS/32 (Anton Paar, Alemania). De la etapa de deformación se obtuvieron los parámetros de ajuste J_0 , J_{1r} , λ_{ret} y η , los cuales se utilizaron para calcular la capacitancia máxima (J_{max}). A partir de la etapa de recuperación se obtuvieron los parámetros de J_0 , J_{1r} , J_{e0} (capacitancia del estado de equilibrio), λ_{rec} (tiempo de recuperación de la componente elástica retardada) y se calcularon las proporciones elástica (J_e/J_{max}) y viscosa (J_v/J_{max}) de la capacitancia máxima. Las determinaciones se realizaron por triplicado y se evaluaron cuatro porciones de cada muestra de masa.

Análisis de la fracción proteica

Extracción de proteínas. Las proteínas se extrajeron secuencialmente a partir de 1 g de masa previamente liofilizada y deslipidizada (figura 3.3). Cada paso de la extracción se realizó bajo agitación constante, la primera centrifugación se realizó durante 10 min a $1000 \times g$ y la última a $5000 \times g$. A partir de la extracción secuencial se obtuvieron las fracciones de sobrenadante F1 y F2 y el precipitado.

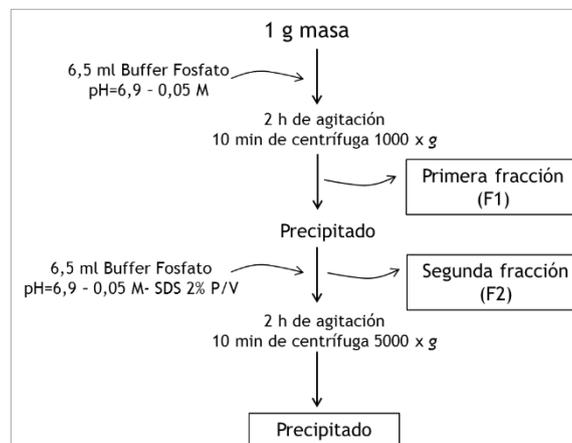


Figura 3.3 Extracción secuencial de proteínas

Contenido de proteínas. Se determinó el contenido de nitrógeno de las muestras de masa, previamente liofilizadas y deslipidizadas, y de las fracciones F1, F2 y el precipitado de acuerdo al micro método de Kjeldahl modificado para ácido bórico, como se describió en el capítulo 1. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

Electroforesis bajo condiciones reductoras. Cada fracción de la extracción secuencial de proteínas (F1 y F2) y el precipitado fueron analizadas por electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) bajo condiciones reductoras. Las proteínas fueron resuspendidas en buffer de muestra (0,063 M Tris - HCl, pH 6,8; 1,5 % p/v SDS, 3 % β -mercaptoetanol, 10 % v/v glicerol y 0,01 % p/v azul de bromofenol).

Las electroforesis se realizaron en placa (70 x 80 mm) en geles de 75 mm de espesor, de acuerdo al sistema de buffer discontinuo de Laemmli (1970). Las subunidades proteicas se analizaron mediante un procedimiento de electroforesis en gel con un concentrador (stacking) y un separador, con 4 % y 12 % de acrilamida, respectivamente. Se utilizó un equipo Mini Protean II Dual Slab Cell (Bio-Rad laboratories, EUA). Las corridas se hicieron con voltaje constante (150 V), hasta que el marcador del frente alcanzó el final del gel (aproximadamente 90 min). Se utilizaron como marcadores de masa molecular una mezcla constituida por miosina (200000), β -galactosidasa (116250), fosforilasa b (97400), albúmina sérica (66200), ovoalbúmina (45000), anhidrasa carbónica (31000), inhibidor de tripsina (21500) y lisozima (14400) (Bio-Rad laboratories, EUA).

Los geles fueron teñidos con 0,25 % p/v azul brillante de coomassie en una solución de metanol:agua:ácido acético (4:5:1 v/v) y fueron desteñidos en el mismo solvente.

Cuantificación de fracciones proteicas en los geles. El análisis de las bandas proteicas en los geles se llevó a cabo por densitometría utilizando el programa Image J (National Institutes of Health, EUA) según el siguiente procedimiento. Se tomaron imágenes de los geles con una cámara fotográfica SONY (DSC W320). Se transformaron las imágenes de color RGB a imágenes en escala de grises en 32 bits. Se ajustó el brillo y el contraste de cada una de ellas y se substrajo el fondo para compensar los defectos de iluminación (80 pixels, *light background*).

Para la medición cuantitativa de la densidad óptica de las bandas se seleccionó el área correspondiente al carril del marcador molecular y mediante la herramienta *Analyze-Gel-Select 1st line* se lo designó como el carril de referencia (Miller 2010). Luego se seleccionó el siguiente carril, por ejemplo el carril 2 de la figura 3.4.a, y mediante la herramienta *Analyze-Gel-Next line* se lo designó como el siguiente carril. El mismo procedimiento se aplicó en los demás carriles. Mediante la herramienta *Plot Line* se obtuvieron las curvas del perfil de cada carril (figura 3.4.b.). El perfil de la curva obtenida representa la densidad relativa del contenido de cada área rectangular analizada, en este caso de las bandas. La altura de los picos se relaciona directamente con la intensidad del color de la banda que representa. Se realizó una línea de base para eliminar el ruido presente y se delimitaron cada uno de los picos. Seguidamente mediante la herramienta *Label Peaks* se calculó el área de cada uno de los picos y se expresó como porcentaje relativo al área total contenida debajo de la curva. Es decir, la proporción de proteínas de cada banda se expresó como densidad de banda relativa a la cantidad total de proteínas del carril.

Cálculo del tamaño molecular de las bandas proteicas. El cálculo de la masa molecular de las bandas de los agregados proteicos se realizó utilizando el programa Image J (National Institutes of Health, EUA) y mediante la macro MolWt.txt. (Kreutzfeldt 2009.).

Movilidad del agua presente en el sistema

Resonancia magnética nuclear. La distribución de agua entre los componentes de la masa se determinó mediante resonancia magnética nuclear (RMN) de campos bajos. Esta metodología se basa en el fenómeno de interacción que existe entre un campo magnético externo y el momento angular intrínseco de los núcleos atómicos o momento de espín. Cada núcleo con momento de espín no nulo posee un momento angular total. En ausencia de un campo magnético externo, los espines se encuentran orientados aleatoriamente y el momento magnético total es cero (figura 3.5.a.). Sin embargo, si se aplica un campo magnético estático \vec{B}_0 los momentos magnéticos de los núcleos tienden a alinearse con el campo, de manera de generar un momento magnético total neto (figura 3.5.b.). Macroscópicamente, el campo \vec{B}_0 polariza la

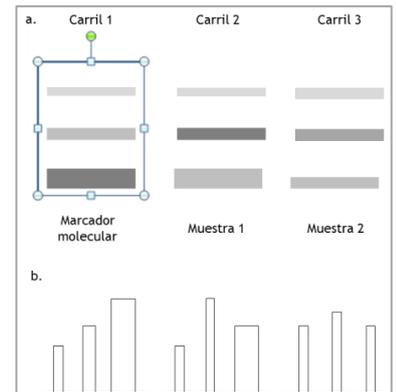


Figura 3.4 Densitometría de bandas proteicas. **a.** Selección del área de análisis de un carril. **b.** Perfiles de densidad de las bandas de cada carril.

muestra siguiendo una distribución de Boltzmann, induciendo una magnetización neta en la dirección del campo. Cuando se pretende obtener señal de RMN, es necesario excitar a los espines fuera del equilibrio. Para lo cual se aplica un campo magnético oscilante \vec{B}_1 (campo de radiofrecuencia) en el plano x-y (en general B está a lo largo del eje x), sintonizado a la frecuencia de resonancia de los espines (figura 3.5.c.). La aplicación de un pulso de radiofrecuencia (B_1) por un cierto tiempo genera un torque que rota la magnetización en un ángulo θ respecto del eje z dependiente de la magnitud del campo y su duración. Si se aplica el campo B_1 tal que se rota la magnetización al plano (x, y), es decir $\theta = 90^\circ$, una vez que se apaga el campo de radiofrecuencia, el vector magnetización \vec{M} comienza a precesar alrededor del eje z con frecuencia de Larmor ω_0 . Por la Ley de Faraday este comportamiento induce una fuerza electromotriz (fem) en la bobina de RMN, la cual es amplificada y detectada en el espectrómetro (figura 3.5.d.). La señal generada se conoce como FID (*Free Induction Decay*). Si el sistema es puesto en el campo magnético externo durante un cierto tiempo, el mismo alcanza un estado de equilibrio térmico. Esto implica que las poblaciones de los estados están dadas por la distribución de Boltzmann.

Los pulsos de radiofrecuencia inducen transiciones entre los distintos niveles de energía, haciendo que las poblaciones se desvíen de sus valores de equilibrio. El proceso por el cual se recupera el estado de equilibrio mediante interacciones del sistema de espines con el ambiente térmico se conoce como relajación longitudinal (relajación espín-red) y está caracterizado por un tiempo T_1 , mientras que la relajación transversal, es decir la pérdida de coherencia en las fases debido a interacciones entre los mismos espines, se conoce como relajación transversal (relajación espín-espín) caracterizado por un tiempo T_2 (Serial 2013). En este caso se utilizó, una variante del método del eco de espín propuesta por Carr y Purcell (1954), la secuencia Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) (Meiboom y Gill 1958) que combina pulsos de 90° y 180° (en el eje y) para medir el tiempo de relajación transversal T_2 a partir de un único tren de pulsos, es decir en un solo experimento.

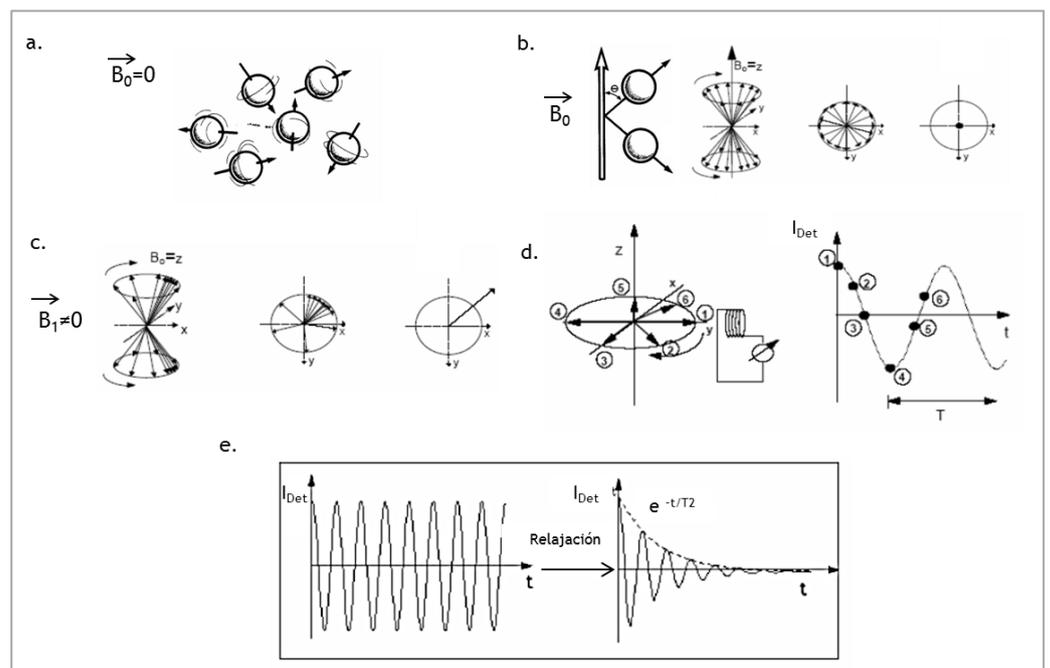


Figura 3.5 Ensayo de resonancia magnética nuclear. \vec{B}_0 : campo magnético estático, \vec{B}_1 : campo magnético oscilante, I_{Det} : intensidad determinada, t : tiempo.

La movilidad del agua en sistemas heterogéneos puede ser estudiada a través de la medición del tiempo de relajación espín-espín T_2 . En general la relajación de sistemas complejos posee múltiples componentes de T_2 , donde cada una de ellas puede ser interpretada como la representación de diferentes movilidades de los protones de agua. De esta forma, la RMN es una buena herramienta para el estudio de productos alimenticios, en donde cada uno de los componentes puede ser asociado a diferentes regiones de movilidad. En sistemas heterogéneos la señal puede no estar representada por un único decaimiento, sino por una distribución de una o más funciones. Las funciones y sus intensidades relativas proveen información acerca de la estructura y el comportamiento de las muestras. En sistemas heterogéneos, como una masa, coexisten fases móviles, sólidas y fases intermedias, correspondientes a agua estructurada de diferente forma. El empleo de la secuencia de CPMG permite obtener el decaimiento de la fracción móvil del sistema; ya que los tiempos de relajación asociados a la parte sólida decaen muy rápido y no pueden ser detectados correctamente.

Las mediciones de relajación de los protones presentes en el sistema se llevaron a cabo mediante un espectrómetro Bruker Minispec mq 20 de 0,5T (frecuencia de Larmor de protones de 19,9 MHz, tiempo muerto de 18 μ s). La temperatura de la muestra durante el ensayo se controló mediante una unidad Bruker-VT3000, con capacidad de estabilizar la temperatura de la muestra con una precisión de 0,1 °C. Una porción de la muestra de masa no laminada se analizó inmediatamente luego de ser preparada. El ensayo correspondiente a la porción de masa sin descanso en heladera se realizó a 23 °C. El resto de la muestra de masa se sometió a un descanso refrigerado en heladera (9 °C) durante 24 h y fue posteriormente analizada a 23 °C. Se determinó la secuencia CPMG, la cual mide tiempos T_2 mayores a 600 μ s. Para realizar el ensayo se aplicó un número de ecos en la secuencia de 15000 espaciados en un tiempo de 100 μ s y la señal se promedió mediante 128 registros. Seguidamente se aplicó una transformada inversa de Laplace a la señal obtenida y se obtuvo el total de protones correspondiente a la fase móvil del sistema. Una vez obtenida la distribución de tiempos de relajación, se deconvolucionó mediante el programa PeakFit 4.12 y se obtuvieron los valores de tiempo de relajación e intensidad relativa para cada población de agua.

Para poder asignar las poblaciones a los componentes presentes en el sistema se elaboraron masas con distintas proporciones de los ingredientes y se realizaron las mediciones anteriormente descritas. Las masas se prepararon con la formulación descrita para la muestra control en la tabla 2 y luego se duplicó el contenido de dos de los ingredientes mayoritarios, materia grasa y soja. Las determinaciones se realizaron por triplicado y se evaluaron tres porciones de cada muestra de masa.

Efecto del aumento de la temperatura en la estructura de la masa

Comportamiento reológico

Barrido de temperatura. Las determinaciones se llevaron a cabo mediante un reómetro de esfuerzo controlado RHEOPLUS/32 (Anton Paar, Alemania), se utilizó una geometría de platos paralelos (diámetro= 25 mm) y 2 mm de apertura. Se evaluaron piezas de masa sin laminar con ambas concentraciones de los hidrocoloides después del descanso en heladera a 9 °C durante 24 h. Una porción de masa fue colocada sobre el plato inferior mantenido a 25 °C, se bajó el cabezal y se eliminaron los bordes sobrantes de la muestra de los platos. La masa se dejó descansar 9 min para relajar las tensiones producidas en la compresión antes de iniciar el ensayo. Se realizaron barridos de temperatura en donde se calentaron las muestras desde 25 °C hasta 100 °C, a una velocidad de calentamiento de 4,00 °C/min, a frecuencia y deformación

constantes (1 Hz y 0,1 %, respectivamente). De estos barridos se obtuvieron los módulos G' y G'' , los valores del ángulo de la tangente del ángulo de desfase ($\tan \delta$), la viscosidad compleja (η^*). A partir de la curva de G' se calculó la primera derivada en función de la temperatura, se registraron los valores máximos y las correspondientes temperaturas. Las determinaciones se realizaron por triplicado y se evaluaron cuatro porciones de cada muestra de masa.

Distribución del agua durante el calentamiento

Análisis termo-gravimétrico (TGA). La termogravimetría es una técnica que permite detectar cambios en la masa de una muestra a medida que varía la temperatura. En este ensayo la muestra es sometida al calentamiento y se registra una señal termo-gravimétrica que da cuenta de procesos que tienen lugar a altas temperaturas, entre ellos cuánta agua y a qué velocidad es liberada del sistema. Cuando la pérdida de masa se debe a un único proceso, la señal obtenida muestra una distribución sigmoide descendente con una flexión a una temperatura intermedia que se corresponde con la máxima velocidad de pérdida del agua. En sistemas simples de carbohidratos, la pérdida de peso es atribuida a la pérdida de humedad (Fessas y Schiraldi 2001). El cálculo de la primera derivada en función de la temperatura permite visualizar como picos los puntos de inflexión presentes en el perfil de la señal termo-gravimétrica. Cuando el sistema en estudio posee agua en diferentes condiciones, debido a una movilidad molecular distinta o a enlaces terciarios que se unen con diferente fuerza a los sustratos, la derivada de la señal termo-gravimétrica muestra múltiples picos y/o picos con hombros que pueden ser matemáticamente deconvolucionados. La deconvolución de la distribución de los picos es útil para diferenciar los distintos tipos de agua o poblaciones (Lodi y Vodovotz 2008).

En el caso de una masa de un producto panificado los cambios observados durante el ensayo termo-gravimétrico pueden asociarse a la distribución del agua entre los diferentes componentes del sistema y a la liberación de agua a la temperatura que comprende el horneado.

Las determinaciones se realizaron mediante un analizador termogravimétrico TGA/DTA-50 (Shimadzu, EUA). Se evaluaron piezas de masa sin laminar antes y después del descanso en heladera a 9 °C durante 24 h. Se colocó una porción de masa (25 mg) en capsulas de aluminio de 40 μ l, se sellaron y se sometieron al análisis. Las cápsulas fueron calentadas desde 25 °C a 200 °C a una velocidad de calentamiento de 5 °C/min. A partir de los resultados obtenidos de pérdida de peso se calculó la primera derivada en función de la temperatura para cada muestra y se deconvolucionaron los picos mediante el software PeakFit v4 (Peakfit, Jandel Scientific, EUA). Se obtuvieron las temperaturas de pico y las áreas relativas de cada población de agua. Las determinaciones se realizaron por duplicado y se realizaron únicamente sobre piezas de masa con la incorporación de 2,5% de hidrocoloides y sin aditivos.

Evaluación de la estructura interna durante el horneado

Los cambios en la estructura de la masa laminada durante el horneado se evaluaron mediante una lupa Leica L2. Se elaboraron piezas de masa laminada con 2,5 % de goma xántica y sin aditivos (muestra control) según lo descrito anteriormente. A distintos tiempos de horneado (0, 1, 2, 6, 8 y 12 min) se tomaron muestras de masa, se congelaron a -40 °C y se cortaron porciones de 10 mm x 5 mm. Las porciones de masa fueron teñidas con una solución de lugol y se observaron mediante una lupa. Se tomaron fotografías de porciones de masa correspondientes a la parte superior de la masa laminada (a 0,5 cm por debajo de la superficie) y el centro.

Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados

Cambio conformacional

El cambio conformacional que experimentó la pieza de masa durante el proceso de elaboración se evaluó a través de las dimensiones de la masa (altura, ancho y largo), al final del proceso de laminado y hojaldrado o inicio del horneado y sobre el producto final luego de 1 h de horneado. Se calcularon las relaciones de altura y ancho con los valores de estas dimensiones de las piezas de masas no fermentadas en relación a los valores de los productos horneados.

Factor de forma (FF)

El factor de forma de los productos panificados se calculó según lo descrito en el capítulo 1.

Volumen específico (VE)

El volumen específico de los panificados se determinó por desplazamiento de semillas de colza como se describió en el capítulo 1.

Color de la corteza (Método 14-22.01, AACC, 2000)

El color de la corteza se determinó mediante un espectrofotómetro CM-700d/600d KONICA MINOLTA (Ramsey, EUA) según se describió anteriormente.

Análisis del perfil de textura

El análisis del perfil de textura (TPA) se llevó a cabo mediante un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, MA, EUA), equipado con una sonda cilíndrica (diámetro= 25 mm) y una celda de compresión de 500 N. Para la evaluación se descartó parte de la corteza del panificado, mediante el corte de una porción, 50 mm por debajo de la superficie, luego de 1 h de horneado. Las muestras se sometieron a dos ciclos de compresión-descompresión con una sonda para obtener la curva de TPA característica (figura 3.6) a partir de la cual se obtuvieron los siguientes parámetros a través del programa BluehillR 2.27 (Instron, EUA).

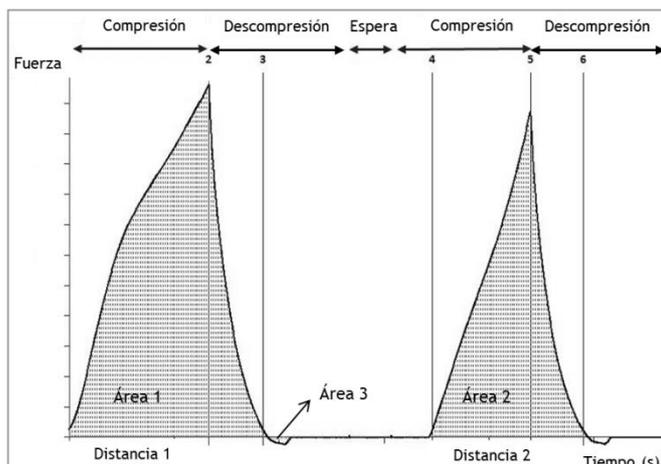


Figura 3.6 Curva característica obtenida en el análisis del perfil de textura

Firmeza: es la fuerza máxima que tiene lugar, en cualquier tiempo, durante el primer ciclo de compresión. Definida también como la fuerza, en g fuerza o newton, necesaria para comprimir el material hasta un 30 % del espesor original.

Elasticidad: es una medida de cuanto recupera su altura o forma original el material luego de ser sometido a una deformación. Estrictamente se define como la altura que el material recupera durante el lapso transcurrido entre el final de la primera

compresión y el comienzo de la segunda. Se calcula como el cociente entre la distancia 2 (L_2) y la distancia 1 (L_1). Por lo tanto, la elasticidad = L_2/L_1 .

Masticabilidad: sensorialmente se define como la fuerza requerida para desintegrar un material sólido hasta que esté listo para ser deglutido. Se determina como el producto de firmeza*cohesividad (definida como el cociente entre Área 2/ Área 1) * elasticidad.

Análisis textural de imágenes

La medición de la textura de las imágenes de cortes transversales de los panificados se llevó a cabo como se describió previamente en el capítulo 1. Se aplicó el algoritmo de Matriz de Co-Ocurrencia en Escala de Grises (GLCM) y se obtuvieron los parámetros relacionados con la textura, como el contraste, la homogeneidad y la entropía. Mediante el método de conteo de cajas se calculó de la dimensión fractal.

Las imágenes en escala de grises de 8-bits de la estructura interna de cada una de las muestras se visualizaron en un gráfico de superficie en tres dimensiones. Los ensayos sobre evaluación de la calidad de los panificados se realizaron por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra de harina.

3.1.3 Análisis Estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó mediante el programa INFOSTAT (Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina). Las determinaciones experimentales fueron comparadas mediante un Análisis de la Varianza (ANAVA), en donde se utilizó la prueba de LSD Fisher para la comparación de medias y la relación entre las respuestas medidas se determinó mediante el coeficiente de regresión de Pearson con un p-valor $\leq 0,05$.

La metodología utilizada para evaluar el efecto de la incorporación de hidrocoloides en las propiedades de las piezas de masas y panificados se resume en la figura 3.7.

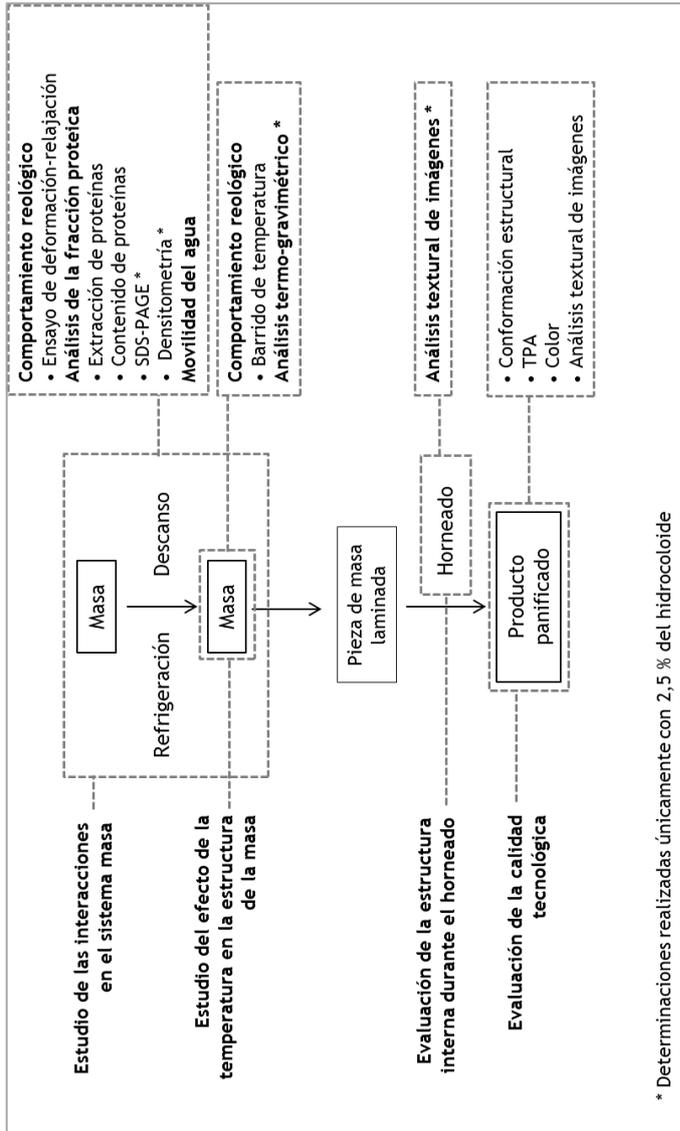


Figura 3.7 Esquema de la metodología utilizada

3.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.2.1 Ensayos preliminares

Sciarini et al. (2012a) estudiaron las interacciones entre los almidones de mandioca y de maíz y harina de soja activa e inactiva en sistemas modelos. Estos autores observaron que existe una interacción diferencial entre la harina de soja activa y el almidón de mandioca. La incorporación de harina de soja activa tuvo un impacto diferente de acuerdo al almidón utilizado. Así, la absorción de agua aumento cuando se agregó la harina de soja activa al almidón de maíz y no se vio modificada cuando se incorporó al de mandioca. Mientras que la presencia de harina de soja inactiva aumentó la absorción de ambos almidones. Los autores postularon que debido a que la proteína de soja activa se encuentra mayormente desplegada expone en su superficie grupos hidroxilo que establecen interacciones con los componentes hidrofílicos presentes en la superficie del grano de almidón. Así, parte de la proteína se encuentra formando enlaces puentes de hidrógenos con el agua y parte con el almidón. Por otro lado la mezcla almidón de mandioca y soja activa absorbió la misma cantidad de agua que el almidón individualmente. Esto indicó que los componentes de la superficie del grano de mandioca son predominantemente de carácter hidrofílico, estableciéndose una interacción proteína-almidón, que dificulta la absorción de agua por parte del almidón y de la proteína de soja. Esta interacción afecta las propiedades viscoelásticas de la mezcla y la distribución de las proteínas en relación al almidón. Por otro lado, en condiciones de calentamiento, el almidón de mandioca mostró un patrón de desplegamiento durante la gelatinización diferente del maíz, dejando más expuestas las cadenas de amilosa/amilopectina de manera tal que interaccionan con las proteínas de soja y por lo tanto las propiedades de *pasting* y retrogradación del almidón se vieron modificadas.

A partir de estos hallazgos estos autores realizaron panes LG con una formulación que contenía 45 % de harina de arroz, 45 % de almidón de mandioca y 10 % de harina de soja y observaron que la interacción anteriormente descrita gobernaba el comportamiento de la masa (Sciarini et al. 2012b). Bajo estas condiciones obtuvieron un pan de buenas características tecnológicas, con una miga de estructura aceptable y con un menor endurecimiento durante el almacenamiento.

Debido a estos estudios previos se decidió evaluar, en una etapa preliminar, dos combinaciones de estas harinas y almidones. La combinación m₁, con las mismas proporciones que Sciarini et al. (2012b) y m₂, con 35 % de harina de arroz, 45 % de almidón de mandioca y 20 % de harina de soja. En la tabla 4 se observa el contenido de humedad, cenizas y proteínas para las harinas utilizadas en la elaboración de panificados laminados LG. Como era de esperar, la harina de soja mostró el mayor contenido de proteínas y no presentó propiedades de viscosidad al ser sometida a un ensayo de RVA, ya que no se observó un aumento de su perfil con el incremento de la temperatura (figura 3.8.a).

Tabla 3.4. Contenido de humedad, cenizas y proteínas de las harinas libres de gluten

Muestra	Humedad (%)	Cenizas (%)	Proteínas (%)
A	(9,2±0,3)	(0,80±0,02)	(6,9±0,1)
M	(11,5±0,3)	(0,147±0,008)	(0,4±0,1)
S	(7,083±0,001)	(5,72±0,03)	(41,8±0,1)

A: harina de arroz, M: almidón de mandioca, S: harina de soja.

Las muestras de almidón de mandioca y harina de arroz mostraron perfiles de viscosidad diferentes (figura 3.8.a). El almidón de mandioca presentó un valor de temperatura de *pasting* similar al reportado por otros autores (Wickramasinghe et al. 2009) (tabla 3.5). La harina de arroz presentó un mayor valor para esta temperatura y en concordancia con el informado por otros autores (Zhou et al. 2003). A medida que aumentó la temperatura, el almidón de mandioca presentó un rápido y gran crecimiento de la viscosidad en relación a la harina de arroz. Durante el enfriamiento la viscosidad del almidón de mandioca disminuyó y finalmente mostró una viscosidad final menor a la harina de arroz (tabla 3.5). El comportamiento del almidón de mandioca denota una estructura de grano débil y una gran capacidad para absorber agua en comparación con la harina de arroz. Debet y Gidley (2006) observaron una asociación aparente entre el patrón de hinchamiento de los gránulos de almidón, la resistencia a la cizalla o corte y el contenido de lípidos y proteínas del almidón. De manera tal que los almidones que se hinchan rápidamente durante el calentamiento tienden a ser más sensibles a las fuerzas de corte y contienen menos lípidos y proteínas que los almidones que muestran un hinchamiento más controlado.

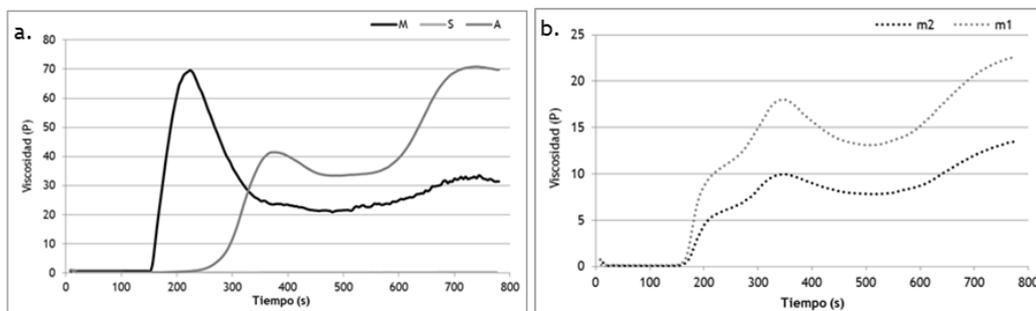


Figura 3.8. Perfil de viscosidad de harinas LG y sus combinaciones. **a.** Comportamiento de harinas y almidón LG individuales. **b.** Comportamiento de las combinaciones de harinas LG. A: harina de arroz, M: almidón de mandioca, S: harina de soja, m1 (A/M/S): 45:45:10, m2 (A/M/S): 35:45:20.

El mayor valor de *breakdown* obtenido para el almidón de mandioca en relación a la harina de arroz (tabla 3.5), concuerda con las correlaciones encontradas por Ragaee y Abdel-Aal (2006) para una serie de almidones de diferentes cereales. Estos autores informaron una correlación positiva y significativa entre el *breakdown* y la viscosidad de pico y una correlación negativa con la temperatura de pico. Esto revela que el almidón que se hincha en mayor proporción, se rompe con mayor facilidad e imparte mayor viscosidad al sistema.

Cuando las harinas y el almidón se evaluaron de manera combinada se observó una disminución general del perfil de viscosidad en relación a los perfiles individuales del almidón de mandioca y de la harina de arroz (figura 3.8.b). El granulo de almidón posee proteínas asociadas a su superficie, las cuales se pueden encontrar naturalmente sobre la superficie de los gránulos o formando parte integral de su estructura. Estas son distintas a las proteínas de reserva del granulo o tubérculo, y se trata principalmente de enzimas que participan en la síntesis del almidón (Baldwin 2001). Ryan y Brewer (2007) evaluaron la asociación entre las proteínas de soja y el almidón de trigo mediante estudios de adsorción y desorción, y encontraron que las proteínas asociadas al almidón afectan la unión de las proteínas agregadas (exógenas) a la superficie del gránulo. Por lo que concluyeron que, las proteínas nativas del almidón atraen y retienen a las proteínas agregadas en íntima asociación con el gránulo. La disminución en la viscosidad de pico para ambas combinaciones se debe en parte a la presencia de las proteínas exógenas de la harina de soja y arroz, las cuales

compiten por el agua con el almidón de mandioca y el de la harina de arroz. De modo que, el agua disponible para que los gránulos se hinchen es menor y por lo tanto la viscosidad impartida al sistema disminuye.

La curva correspondiente a la combinación con un menor contenido de almidón y mayor cantidad de proteína de soja, m2, se vio desplaza hacia menores valores de viscosidad en relación a m1. Si bien la temperatura de *pasting* no sufrió modificaciones, la presencia de una mayor cantidad de proteína de soja generó un efecto en la disponibilidad del agua en el sistema y en la capacidad del almidón para hidratarse. Las proteínas exógenas al almidón pueden afectar las propiedades de gelatinización de diferentes maneras dependiendo de su capacidad de retener agua o de interactuar con el almidón o la superficie de los gránulos (Ribotta y Rosell 2010). Por otro lado, los gránulos de almidón hidratados en la combinación m1 presentaron una mayor facilidad para ser desintegrados por acción de las fuerzas de corte y cuando la temperatura disminuyó las cadenas de amilosa se reordenaron en mayor medida, en relación a la muestra m2.

Tabla 3.5 Parámetros del perfil de viscosidad de las harinas libres de gluten

Muestra	TP (°C)	VP (P)	VM (P)	VF (P)	BD (P)	SB (P)
A	85 ^b	40,0 ^a	34,2 ^b	67,7 ^b	6,0 ^a	33,5 ^b
M	68 ^a	69,7 ^b	21,4 ^a	33,6 ^a	48,3 ^b	12,2 ^a
m1	71 ^A	18,0 ^B	13,0 ^B	22,5 ^B	5,0 ^B	9,5 ^B
m2	71 ^A	10,1 ^A	7,9 ^A	13,7 ^A	2,1 ^A	5,8 ^A

A: harina de arroz, M: almidón de mandioca, m1: 45:45:10, m2: 45:45:20, TP: temperatura de *pasting*, VP: viscosidad de pico, VM: viscosidad media, VF: viscosidad final, BD: *breakdown*, SB: *setback*. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras de harina individuales y las combinaciones ($p \leq 0,05$).

Ambas combinaciones se evaluaron en la elaboración de piezas de masa laminadas LG con tres porcentajes de agua, 60, 68 y 76 %. Se utilizaron además dos de las muestras de materia grasa estudiadas previamente en el capítulo 2 (MG1 y MG2). Estas muestras de materia grasa presentaron un contenido de sólidos mayor a 20 % en un rango de temperatura de 15-35 °C y un comportamiento viscoso. Su estructura se caracterizó por mayores puntos de contacto y una menor sensibilidad a los cambios de temperatura.

Durante el proceso de obtención de la pieza de masa laminada LG se observaron diferencias en la consistencia de las masas obtenidas con los diferentes porcentajes de agua. Las masas con 76 y 68 % de agua presentaron dificultades a la hora de ser extendidas en forma rectangular, ya que se mostraron como poco cohesivas y poco viscosas. Mientras que las masas con un menor contenido de agua pudieron ser extendidas y laminadas más fácilmente.

Por otro lado, la incorporación de la materia grasa MG1 en la masa fue dificultosa, ya que la consistencia de ambas era muy diferente y la grasa no pudo ser esparcida de manera tal que cubriera la totalidad de la superficie sin dañar la masa. MG2 pudo ser agregada en forma de finas capas sin interrumpir la integridad de la masa, y en la muestra con un menor contenido de agua se logró una distribución más homogénea.

La figura 3.6 muestra resistencia a la deformación de las piezas de masa laminadas LG para las muestras estudiadas. Cuando se utilizó la muestra de materia grasa MG1, las piezas de masas laminadas elaboradas con m1 presentaron un aumento de la resistencia a la deformación conforme disminuyó el contenido de agua adicionada en la formulación (figura 3.6.a). Mientras que en la formulación con un mayor contenido

de harina de soja no se observó una tendencia clara. En el caso de MG₂, se observó que la masa elaborada con m₁ y el menor porcentaje de agua fue la más resistente a la deformación (figura 3.6.b). Mientras que no se observaron diferencias en los valores de este parámetro reológico entre los demás contenidos de agua para m₁. Por otro lado, las masas con la formulación m₂ fueron más resistentes a la deformación conforme disminuyó el porcentaje de agua.

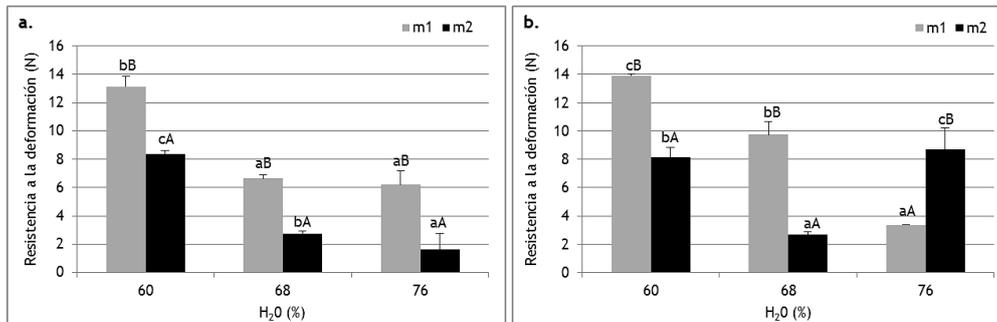


Figura 3.6 Resistencia a la deformación de piezas de masa laminada LG. **a.** Muestras con materia grasa MG₁. **b.** Muestras con materia grasa MG₂. m₁: (A/M/S) 45:45:10, m₂: (A/M/S) 35:45:20, A: harina de arroz, M: almidón de mandioca, S: harina de soja. Letras en minúscula diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre porcentajes de agua para cada combinación. Letras en mayúscula diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre combinaciones para cada porcentaje de agua.

Las masas con MG₁ y menores contenidos de agua presentaron una disminución de la resistencia a la deformación conforme aumentó el contenido de harina de soja (figura 3.6.a). Esta tendencia se observó en las muestras con MG₂ para todos los porcentajes de agua evaluados (figura 3.6.b).

En el capítulo 1 se encontraron correlaciones significativas y positivas entre la resistencia a la deformación de las piezas de masa laminada elaboradas con harina de trigo y los valores de altura del producto en las diferentes etapas de elaboración. Además la resistencia de la masa a la deformación mostró correlaciones significativas y negativas con la relación de ancho y el factor de forma. Lo cual reveló que piezas de masa con una estructura laminada capaz de ejercer una buena resistencia frente a una deformación aplicada poseen una buena capacidad para, durante el horneado, mantener la forma original otorgada, evitar el crecimiento en dirección lateral y presentar mayores valores de altura. Se encontraron otras correlaciones que permitieron establecer una relación directa entre las propiedades reológicas de las masas laminadas y las características de textura del producto horneado. Una mayor rigidez y estructuración de las piezas de masa elaboradas con harina de trigo promovió una estructura interna horneada más firme. En el mismo sentido la resistencia de la masa a la deformación correlacionó positivamente con los parámetros de firmeza medidos en el producto. Sin embargo, es necesario encontrar un equilibrio entre las propiedades reológicas de la masa, de manera tal que pueda ser laminada y hojaldrada y durante el horneado crecer en dirección vertical; y permitir obtener un producto horneado de buenas características texturales.

Por lo tanto, debido a que las muestras elaboradas con MG₂, con las combinaciones m₁ y m₂ y el menor porcentaje de agua pudieron ser más fácilmente procesadas y permitieron obtener estructuras que fueron más resistentes a la deformación, se elaboraron productos panificados con estas condiciones (figura 3.7). El panificado LG elaborado con m₂ presentó una estructura interna caracterizada por la presencia de algunas capas, que si bien parecen estar distribuidas de manera heterogénea presentaron cierta continuidad a lo largo de la estructura del producto. Mientras que en la muestra elaborada a partir de m₁ no se observaron láminas, sino más bien

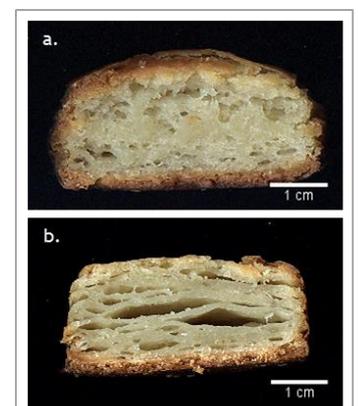


Figura 3.7 Panificados laminados LG con MG₂ y 60 % de agua. **a.** Muestra elaborada con m₁. **b.** Muestra elaborada con m₂.

alveolos en la parte superior e inferior, y en la zona central la estructura interna se presentó compacta. Por lo que para la evaluación del efecto de la incorporación de aditivos en las propiedades de las masas y la calidad tecnológica de los panificados LG, se decidió utilizar la formulación compuesta por 35 % de harina de arroz, 45 % de almidón de mandioca y 20 % de harina de soja, un bajo contenido de agua y la muestra de materia grasa MG2.

3.2.2 Incorporación de goma xántica

Efecto de la goma xántica en la calidad tecnológica de los panificados

La evaluación del efecto del agregado de goma xántica sobre la calidad de panificados laminados LG se realizó mediante la elaboración de los productos (figura 3.8) y la valoración de su calidad tecnológica. La vista lateral y superior de los panificados permitió apreciar diferencias en el aspecto externo entre los panificados elaborados sin aditivos y con dos dosis de goma xántica. La vista lateral de la muestra control reveló un producto poco estratificado, de capas discontinuas y más bien chato. Mientras que las muestras con goma xántica presentaron una estructura de múltiples capas alienadas horizontalmente y el producto experimentó un mayor crecimiento durante el proceso de producción en comparación con el control. Por otro lado, las imágenes de la vista superior de los panificados revelaron que tanto el control como las muestras con goma xántica no perdieron la forma otorgada durante la etapa del corte de las piezas de masa.

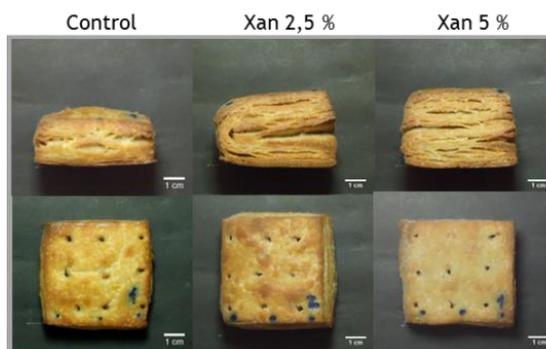


Figura 3.8 Panificados laminados de harinas LG sin aditivos (control) y con goma xántica

El desarrollo de la estructura del producto panificado durante el proceso de producción se evaluó mediante las dimensiones (altura, ancho y largo) de las piezas de masa al inicio y al final de la cocción, sobre el producto panificado luego de 1 h de horneado. La figura 9 presenta los valores de altura de los panificados al inicio y final del horneado y las relaciones de altura.

Los productos con goma xántica presentaron inicialmente mayores valores de altura que el control. Esto puede deberse a que, si bien las muestras fueron tratadas de igual manera y su espesor final se ajustó mediante rodillo a 1,5 cm, la estructura de las masas con goma xántica presentó diferentes propiedades elásticas que le permitieron recuperarse en mayor medida que el control luego de los sucesivos procesos de laminado. La muestra control presentó un valor de relación de altura mayor al de las muestras con goma xántica, aunque esta tendencia no resultó significativa. Si bien durante el horneado el control experimentó un mayor crecimiento en dirección

vertical en relación a las muestras con goma xántica, los productos horneados con hidrocoloide fueron más altos.

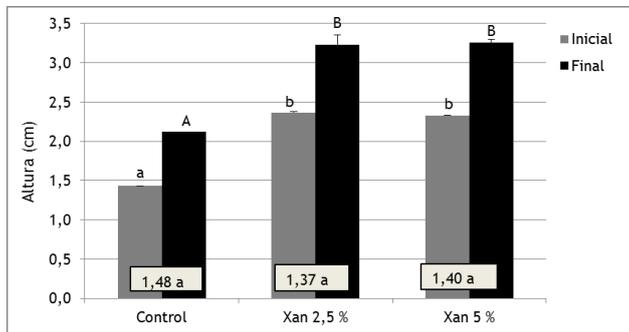


Figura 3.9 Altura y relación de altura de panificados laminados LG sin aditivos y con goma xántica. En el recuadro : Relación de altura. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Con la incorporación de levaduras en este producto se busca otorgar olor y sabor característicos, pero no provocar cambios estructurales en las masas debido a la producción de gases y la consecuente formación de alveolos; por lo que las piezas de masa no fueron sometidas a un paso de fermentación en condiciones que promuevan ese proceso. Esto trae implicancias en el mecanismo de crecimiento de la estructura. Por lo que se puede suponer que el crecimiento de este tipo de productos elaborado bajo las condiciones anteriormente descritas solo ocurre durante una rápida cocción y a través de un proceso similar al de los productos tipo *puff pastry*. Durante la cocción, la humedad contenida en la masa se convierte en vapor que no puede escapar fácilmente, debido a la presencia de las láminas de materia grasa que actúan como barreras. La acumulación de la presión ejercida por el vapor obliga a las capas de masa a separarse unas de otras y generar el crecimiento global de la estructura del producto.

Es evidente que la incorporación de goma xántica a la formulación tiene un efecto sobre alguna de las propiedades de la masa y por consiguiente de las láminas de masa que ante la presión ejercida por el vapor de agua no ceden y por lo tanto los productos con este aditivo crecen verticalmente en menor medida que el control. En cuanto a la expansión lateral durante el horneado, que conlleva a la pérdida de la forma otorgada inicialmente, no se observaron diferencias significativas en los valores de relación de ancho cuando se agregó goma xántica (tabla 3.6). Las muestras con aditivo presentaron mayores valores del factor de forma en comparación con el control (tabla 3.6). Esto indica que, la incorporación de ambas dosis de goma xántica permitió obtener panificados que al finalizar el horneado poseen una mayor altura, y menor ancho y largo que el control.

Es decir que, si bien la incorporación de este aditivo no genera un marcado efecto en la expansión vertical del producto, debido a las características estructurales que otorga a la pieza laminada permite obtener panificados de mayor altura en relación al control y evita la pérdida de la forma otorgada inicialmente.

Se observaron diferencias significativas en el volumen específico de los panificados (tabla 3.7). Ambas dosis de goma xántica permitieron obtener productos de mayor volumen que el control. En cuanto al color de las cortezas, no se observaron diferencias significativas en el parámetro L^* , es decir que la incorporación de goma xántica no provocó cambios en la luminosidad de las mismas (tabla 3.7). Sin embargo, los panificados LG mostraron cortezas más oscuras que las muestras elaboradas con harina de trigo; las cuales obtuvieron mayores valores de L^* (capítulo 1). Esto se debe

Tabla 3.6 Relación de ancho (Ra) y factor de forma (FF) de panificados laminados LG. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Muestra	Ra	FF
Control	1,01 ^a	0,44 ^a
Xan 2,5 %	0,98 ^a	0,68 ^b
Xan 5 %	0,95 ^a	0,69 ^b

a la presencia de la harina de soja en la formulación, quien imparte su coloración y oscurece al producto y a las condiciones de horneado que tuvieron una relación tiempo/temperatura diferente. Los panificados con y sin goma xántica presentaron valores positivos de a^* y no se observaron diferencias significativas en la intensidad del color rojo. Los valores de b^* para las muestras evaluadas fueron positivos y el control presentó una corteza con una intensidad del color amarillo levemente mayor a las muestras con goma xántica.

Tabla 3.7 Parámetros de calidad tecnológica de panificados laminados LG

Muestra	VE (cm ³)	L*	a*	b*	Firmeza (N)	Masticabilidad
Control	(64±4) ^a	(56±1) ^a	(12±1) ^a	(31,4±0,1) ^b	(62±4) ^a	(63±3) ^a
Xan 2,5 %	(83±5) ^b	(55,5±0,8) ^a	(12,2±0,7) ^a	(30,1±0,2) ^a	(115±7) ^{ab}	(92±13) ^a
Xan 5 %	(81±1) ^b	(57±1) ^a	(11,2±0,8) ^a	(29,8±0,5) ^a	(119±30) ^b	(90±16) ^a

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

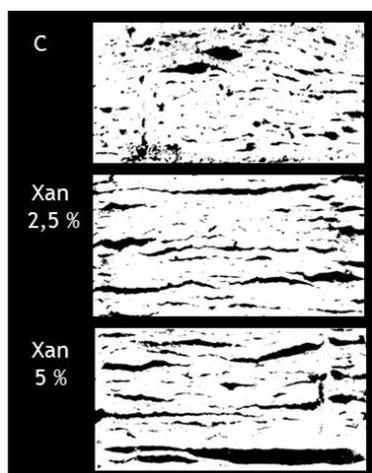


Figura 3.10 Imágenes binarizadas de la estructura interna de panificados laminados LG con y sin goma xántica

La incorporación de goma xántica permitió obtener estructuras más firmes que el control con valores significativamente mayores (tabla 3.7). Por otro lado, el control presentó un menor valor de masticabilidad en comparación con los panificados con goma xántica. Lazaridou et al. (2007) también observaron un aumento en la firmeza de panes LG conforme aumentó la dosis de goma xántica incorporada.

El efecto de la incorporación de goma xántica en panificados laminados salados LG sobre la conformación de la estructura interna de los productos se evaluó mediante un análisis textural de imágenes. A partir de este ensayo se obtuvieron parámetros que permiten caracterizar la estructura interna en términos de textura (tabla 3.8). El control presentó una estructura interna de tipo alveolada sin láminas en su interior (figura 3.10). Al incorporar goma xántica se observó la formación de espacios vacíos de conformación alargada, lo que denota la formación de capas de masa y por consiguiente de una estructura interna laminada. La muestra Xan 2,5 % presentó una estructura interna más homogénea que la muestra Xan 5 % y el control. En cuanto al contraste de las muestras analizadas, el control mostró una variación de la escala de grises de sus píxeles mayor a la de los productos con goma xántica. La variación de la escala de grises en un píxel en una estructura porosa de distribución regular es mayor que la variación que posee un píxel en un sistema laminado. Por otro lado, los menores valores de contraste obtenidos por las muestras con goma xántica se explican teniendo en cuenta que la presencia de espacios de conformación más bien alargada provoca que la variación local de la escala de grises de los píxeles de una región de interés, sea menor cuanto mayor es la cantidad de capas formadas.

Tabla 3.8 Parámetros del análisis textural de imágenes de cortes transversales de los panificados laminados LG

Muestra	Homogeneidad	Contraste	Entropía	DF
Control	0,24 ^a	90,42 ^c	7,06 ^b	1,44 ^a
Xan 2,5 %	0,34 ^b	36,94 ^a	6,70 ^a	1,53 ^b
Xan 5 %	0,20 ^a	69,24 ^b	7,09 ^b	1,54 ^b

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

La entropía mide la aleatoriedad o desorden de la distribución de la intensidad de la imagen. Altos valores de entropía se asocian con imágenes más complejas y por lo tanto con estructuras complejas (Fernández et al. 2005). El control y la muestra Xan 5

% presentaron mayores valores de entropía que la muestra Xan 2,5 %. Esta mayor aleatoriedad en la distribución de la intensidad de las imágenes del interior del control y Xan 5 % puede asociarse con una distribución de sus correspondientes elementos estructurales, como alveolos y capas, más desordenada e irregular. En cuanto a la dimensión fractal, los productos con goma xántica mostraron mayores valores que el control. Esto permitió asociar la conformación interna de las muestras a estructuras de mayor tortuosidad y complejidad topográfica que el control, debido a la presencia de espacios de forma alargada y láminas. Mientras que las imágenes de la superficie del control se relacionaron con una estructura interna de conformación más simple y de menor rugosidad morfológica, debido a la formación principalmente de alveolos más bien circulares (figura 3.11).

La incorporación de goma xántica en ambas dosis permitió la obtención de panificados laminados LG de buenas características tecnológicas. Los productos con el hidrocoloide fueron más altos y de mayor volumen al finalizar el horneado. Se caracterizaron por una estructura interna laminada, rugosa y compleja y de mayor firmeza que el control.

Evaluación de las interacciones en el sistema masa

Comportamiento reológico

La respuesta, en términos de deformación, de las masas evaluadas durante el ensayo de deformación-relajación se observa en la figura 3.12. Las tres muestras analizadas presentan curvas correspondientes a un comportamiento viscoelástico típico como el observado en masas de trigo, combinando ambos elementos, viscoso y elástico (Edwards 1999, Wang y Sun 2002). Lazaridou et al. (2007) obtuvieron curvas con un perfil y valores similares en masas de harina de arroz y almidón de maíz que contenían goma xántica. Al aplicar un esfuerzo sobre las masas se observa como éstas experimentan una deformación instantánea, que se asocia con el comportamiento del resorte de Maxwell en el modelo de Burgers. Seguidamente se deforman de manera exponencial, lo cual se relaciona con la componente Kelvin. Luego de un tiempo suficiente se observa una respuesta netamente viscosa asociada al comportamiento del elemento amortiguador. Una vez que se retiró el esfuerzo aplicado, los sistemas presentaron una respuesta caracterizada por una recuperación elástica instantánea asociada al comportamiento del elemento amortiguador y que generó una deformación no recuperable del sistema, expresada en términos de J_e . Esta fue seguida por una recuperación elástica retardada. Luego se observó como la estructura no logró recuperarse y la deformación alcanzó un valor constante con el incremento del tiempo.

En general, la incorporación de goma xántica desplazó la curva de deformación en el tiempo a valores más pequeños. En este sentido, estudios previos en masas de harinas de trigos duros informaron que la curva de capacitancia se vio desplazada a mayores valores a medida que la fuerza de la masa decreció, mientras que la viscosidad newtoniana disminuyó con la fuerza (Edwards et al. 2001).

En la etapa de deformación, las masas con goma xántica presentaron curvas con una menor pendiente en comparación con el control. Esto indica que la incorporación de goma xántica provocó una disminución de la fluidez del sistema y por lo tanto promovió un comportamiento de sólido viscoelástico. Las masas con ambas dosis de goma xántica presentaron valores de capacitancia instantánea y viscoelástica significativamente menores a la masa control (tabla 3.9).

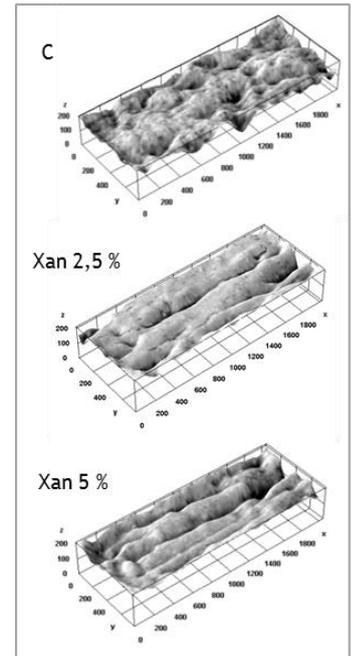


Figura 3.11 Gráficos de superficie de la estructura interna de panificados laminados LG

La disminución de la capacitancia de un sistema es asociada con una menor facilidad para ser deformado ante un esfuerzo aplicado. Por lo que la presencia de goma xántica en las masas LG promovió la rigidización del sistema y una mayor capacidad para resistir la deformación. Lazaridou et al. (2007) informaron el mismo efecto en masas LG de harina de arroz y almidón de maíz cuando se incorporaron polisacáridos en la formulación. Moreira et al. (2011) también observaron esta tendencia con la incorporación de goma xántica en masas LG de harina de castaña. El tiempo de relajación de la componente Kelvin en el modelo, está relacionado con el tiempo requerido para deformar la muestra. No se encontraron diferencias en los tiempos de relajación de la componente Kelvin de las masas control y con goma xántica, lo cual indica que la presencia de este aditivo en la masa no provocó cambios en el tiempo requerido por la estructura para alcanzar la máxima deformación.

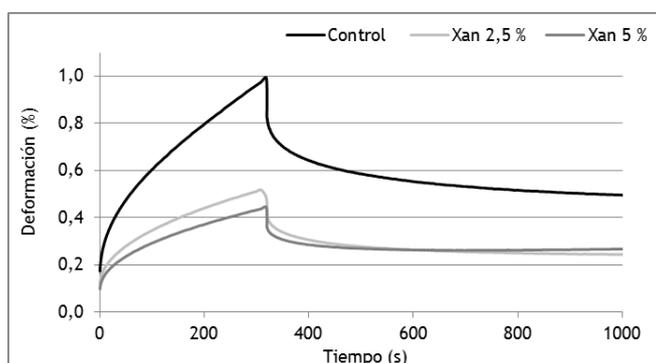


Figura 3.12 Deformación de masas LG sin aditivos y con goma xántica en función del tiempo antes del descanso refrigerado.

Las muestras con ambas dosis de goma xántica presentaron mayores valores de viscosidad newtoniana y menores valores de capacitancia máxima de deformación. Es decir que con la incorporación de ambas dosis de goma xántica se obtuvieron masas más viscosas y con una mayor resistencia a la deformación. Wang y Sun (2002) informaron que la capacitancia máxima obtenida en el ensayo de deformación-relajación podía utilizarse como un descriptor de la rigidez de la masa. Estos autores observaron que masas fuertes elaboradas con harinas de trigos duros presentaban mayor resistencia a la deformación que masas blandas, como las de tipo *pastry*. El comportamiento viscoso de la goma xántica en solución es el resultado de interacciones intermoleculares entre las cadenas poliméricas de la goma, las cuales forman una red compleja en donde las moléculas adquieren una conformación de rodillo rígido. Estas interacciones electrostáticas son posibles debido a la carga de los grupos piruvatos ubicados en las manos terminales y a los ácidos glucurónicos ubicados cada dos unidades de manosa en la cadena lateral de trisacáridos. Esta red altamente ordenada de moléculas rígidas atrapadas otorga a las soluciones de goma xántica características de gel débil. De manera tal que las soluciones de goma xántica poseen una respuesta de carácter elástico cuando se evalúa su comportamiento reológico en un barrido de frecuencia (Sworn 2011). Por lo tanto, el comportamiento observado en las masas con goma xántica puede relacionarse a las características que presenta la molécula en solución.

Durante la etapa de relajación una vez retirado el esfuerzo aplicado, las muestras presentaron un cambio instantáneo en la deformación, la cual luego de un determinado tiempo alcanzó un nuevo estado de equilibrio. La incorporación de goma xántica provocó una disminución de los parámetros de capacitancia instantánea y viscoelástica en relación al control (tabla 3.9). Este efecto fue más marcado con la

mayor dosis del hidrocóide. No se observaron diferencias significativas en los tiempos de recuperación de las masas con el agregado de goma xántica, lo cual indica que la presencia del hidrocóide en el sistema no afectó el tiempo requerido por la estructura para alcanzar el estado de equilibrio.

Tabla 3.9 Parámetros del ensayo de relajación-deformación de masas LG con y sin goma xántica antes y después del descanso refrigerado

		Etapa de deformación				
Muestra	J_0 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	J_1 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	λ_{ret} (s)	η_0 (Pa s) x 10 ⁷	J_{max} (1/Pa) x 10 ⁻⁵	
Antes DR	Control	9,8 ^c	10,5 ^c	19,4 ^a	1,1 ^a	4,9 ^c
	Xan 2,5%	7,7 ^b	7,3 ^b	19,6 ^a	1,7 ^b	3,6 ^b
	Xan 5%	4,9 ^a	4,9 ^a	21,3 ^a	2,9 ^c	2,0 ^a
Después DR	Control	6,1 ^a	6,6 ^b	20,8 ^a	2,5 ^a	2,5 ^b
	Xan 2,5%	4,9 ^a	4,3 ^a	21,2 ^a	4,0 ^b	1,7 ^a

		Etapa de relajación				
	J_0 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	J_1 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	λ_{rec} (s)	J_{e0} (1/Pa) x 10 ⁻⁵		
Antes DR	Control	13,4 ^b	15,4 ^c	183,8 ^a	2,8 ^c	
	Xan 2,5%	12,5 ^b	11,4 ^b	186,3 ^a	2,0 ^b	
	Xan 5%	5,2 ^a	4,3 ^a	97,7 ^a	0,9 ^a	
Después DR	Control	7,8 ^a	7,4 ^b	192,9 ^a	1,5 ^b	
	Xan 2,5%	5,2 ^a	4,2 ^a	170,4 ^a	0,9 ^a	

DR: descanso refrigerado, J_0 : capacitancia instantánea, J_1 : capacitancia viscoelástica, λ_{ret} : tiempo de retraso de la componente Kelvin, η_0 : viscosidad newtoniana, J_{max} : capacitancia máxima de deformación, λ_{rec} : tiempo de recuperación de la componente Kelvin, J_{e0} : capacitancia del estado de equilibrio. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

La capacitancia del estado de equilibrio se obtiene restando el valor de la capacitancia en la región final de la curva, donde el sistema alcanzó el estado de equilibrio, del valor de capacitancia máxima alcanzado. De manera tal que la capacitancia en el estado de equilibrio da cuenta tanto de los componentes elásticos del sistema, como de los ejercen una respuesta viscosa y permiten a la masa alcanzar el estado de equilibrio en la región final de la curva. El efecto de la incorporación de goma xántica en la porción relativa elástica y viscosa de la capacitancia máxima durante la recuperación se observa en la figura 3.13.a. La deformación que permanece luego de la remoción del esfuerzo representa la porción viscosa de la capacitancia máxima, mientras que la parte recuperada es representada por la porción elástica de la capacitancia máxima. Un incremento en la deformación permanente indica que los enlaces elásticos se rompieron irreversiblemente y la estructura colapsó.

Las muestras con goma xántica y el control presentaron diferentes valores de J_0 , J_1 y J_{max} , siendo mayor la deformación para la masa sin aditivos. Sin embargo, no hubo una diferencia significativa entre el valor de la porción elástica de la capacitancia máxima (J_e/J_{max}) del control y Xan 2,5 %. Esto indica que una vez retirado el esfuerzo aplicado, el peso de la componente elástica del control fue tal que le permitió recuperarse en la misma proporción (J_e/J_{max}) que la masa con 2,5 % de goma xántica.

El efecto de la goma xántica en la porción relativa elástica y viscosa de la masa durante la recuperación dependió de la concentración. La incorporación de 5 % de

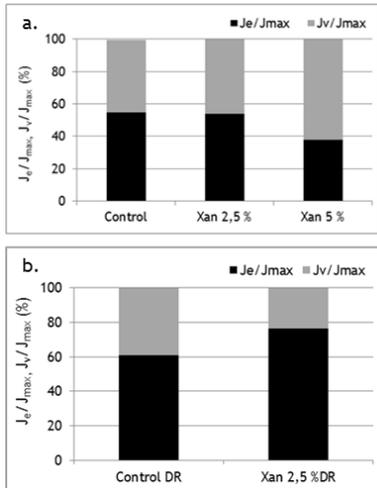


Figura 3.13 Porción relativa elástica (J_e/J_{max}) y viscosa (J_v/J_{max}) de la capacitancia máxima de masas LG sin aditivos y con goma xántica. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. DR: descanso refrigerado.

goma xántica provocó un aumento de las propiedades viscosas de la masa durante la relajación y una consiguiente disminución de la elasticidad. Lo cual indica que cuando está presente en la masa una mayor cantidad del hidrocoloide la respuesta del sistema es principalmente viscosa, por lo que se recupera en menor medida. Estos resultados contrastan con lo informado por Lazaridou et al. (2007) para masas LG de harina de arroz y almidón de maíz con goma xántica adicionada y distintos contenidos de agua. Estos autores observaron un incremento en la porción relativa elástica durante la etapa de relajación de masas con un 65, 70 y 75 % de agua cuando se incorporó 1 y 2 % de goma xántica. La discrepancia con los resultados encontrados por estos autores puede deberse a que el comportamiento reológico y las características estructurales de los sistemas LG son altamente dependientes del contenido de agua, por lo que se debe tener en cuenta que el contenido de agua utilizado en la formulación en estudio fue diferente.

El estudio de las propiedades reológicas de batidos para elaborar panes LG mediante ensayos de relajación-deformación ha sido ampliamente abordado. Onyango et al. (2009) postuló que es necesario un balance óptimo entre las propiedades viscosas y elásticas del batido para obtener un pan LG con una estructura interna de características aceptables. Aunque el batido debe ser lo suficientemente viscoso para retener al dióxido de carbono producido durante la fermentación, también debe ser elástico para permitir la expansión de las burbujas y estabilidad durante el horneado produciendo así el alveolado. En el caso de productos laminados LG, el efecto de la porción elástica y viscosa de una masa en las características del producto final no ha sido investigado aún por la comunidad científica.

El proceso de obtención de panificados laminados LG con buenas características tecnológicas contempla, luego del armado de la masa, un tiempo de descanso prolongado con refrigeración de la misma previo al paso de incorporación de materia grasa, cierre y laminado. Por lo que para evaluar el efecto de este tratamiento sobre la masa se realizaron ensayos de deformación-relajación en piezas de masas control y con goma xántica que fueron sometidas a un tiempo de descanso refrigerado. En el caso de la muestra con 5 % del hidrocoloide no fue posible ajustar la apertura (2 mm) entre los platos paralelos en el reómetro y por consiguiente no pudo llevarse a cabo el ensayo.

Las masas control y con 2,5 % de goma xántica luego del descanso refrigerado presentaron un perfil de deformación como el observado en masas elaboradas con harina de trigo con un comportamiento viscoelástico (figura 3.14). Al igual que antes del descanso refrigerado, la presencia del hidrocoloide provocó una disminución de la pendiente de la sección recta de la curva, lo cual puede asociarse con una disminución de la fluidez y un comportamiento de sólido viscoelástico. Además, se observó una disminución de los valores de capacitancia instantánea, viscoelástica y capacitancia máxima durante la etapa de deformación y un aumento de la viscosidad newtoniana (tabla 3.9). Esto revela que la incorporación de goma xántica provocó una rigidización del sistema y éste se deformó en menor medida. Moreira et al. (2011) observaron en masas LG con harina de castaña que el agregado de goma xántica provocó una disminución de la capacitancia máxima lo cual podía asociarse con una mayor resistencia del sistema a la deformación. No se observaron diferencias en los valores de los tiempos de retraso para las muestras evaluadas.

Durante la etapa de recuperación, las masas con 2,5 % de goma xántica presentaron menores valores de capacitancia instantánea, viscoelástica y capacitancia del estado de equilibrio en comparación con el control. Lo cual revela que la presencia del hidrocoloide en una concentración de 2,5 % le otorgó al sistema mayor capacidad elástica y grado de recuperación una vez que el esfuerzo aplicado fue retirado. En cuanto a los tiempos de recuperación de la componente Kelvin, si bien no se

encontraron diferencias significativas, la tendencia observada fue diferente a la encontrada en las masas antes del descanso refrigerado. La muestra con 2,5 % de goma xántica presentó un menor valor del tiempo de recuperación que el control, por lo que necesita menos tiempo que el control para alcanzar la recuperación elástica retardada. Se observaron diferencias en la porción relativa elástica y viscosa entre las masas control y con 2,5 % de goma xántica sometidas al descanso refrigerado (figura 3.13.b.). La muestra con 2,5 % de goma xántica presentó una mayor porción elástica relativa que el control. Esto indica que el descanso refrigerado en masas con 2,5 % de goma xántica promovió la elasticidad del sistema.

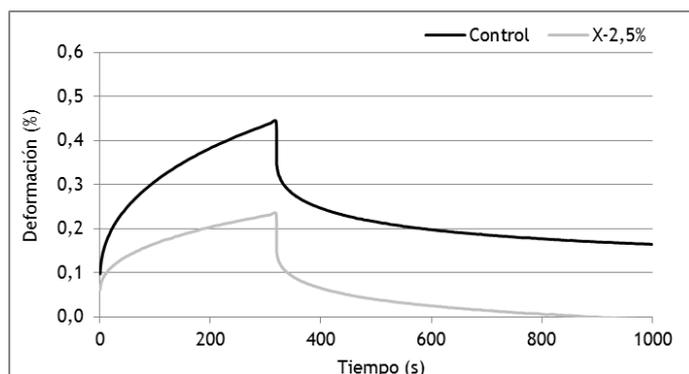


Figura 3.14 Deformación de masas LG sin aditivos y con goma xántica en función del tiempo después del descanso refrigerado

El comportamiento reológico de las masas LG con goma xántica puede interpretarse si se las considera como un material compuesto, donde las proteínas hidratadas y el hidrocoloide con su estructura de tipo "gel débil" forman una matriz, en la cual se encuentran contenidos los gránulos de almidón; parcialmente hidratados. Durante el descanso refrigerado se producen cambios en la estructuración de los polímeros presentes en la masa que permiten al sistema con goma xántica exhibir una mayor resistencia a la deformación y elasticidad en la etapa de recuperación luego de haber sido sometido a un periodo de descanso refrigerado. Esta mayor rigidez de la masa hace posible un mejor manejo de la misma en relación al control durante el hojaldrado y laminado. Así se obtiene una pieza de masa laminada que inicia el horneado con mayor altura que el control. Consecuentemente los panificados horneados con goma xántica se presentan como más altos y con mayores valores del factor de forma y volumen específico que el control. La presencia de una estructura laminada en las muestras con el aditivo denota una mayor capacidad de las capas de masa para conservar su estructura durante el proceso y permanecer discretas de las capas de grasa.

Efecto de la incorporación de goma xántica sobre la fracción proteica

Con el objetivo de evaluar el efecto de la incorporación de goma xántica en las interacciones proteicas de la masa se realizó una extracción secuencial. Para este procedimiento se utilizaron distintos agentes con acción química específica sobre las fuerzas, de manera tal de estudiar los tipos de fuerzas existentes entre las proteínas del sistema. En un primer paso, se trataron las muestras con buffer fosfato y se solubilizaron proteínas en estado nativo obteniéndose la fracción correspondiente llamada F₁ y un precipitado. Seguidamente se trató al precipitado anterior con buffer fosfato y una solución de SDS. El SDS es un detergente aniónico que interrumpe todas

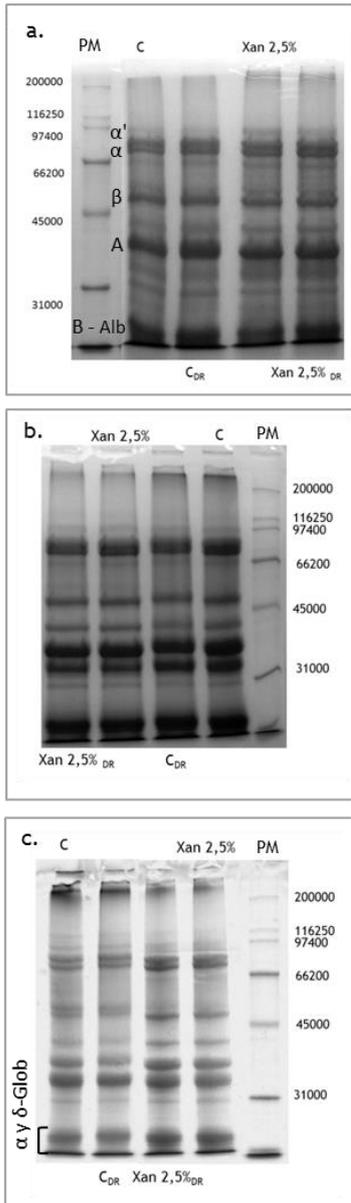


Figura 3.15 Perfil electroforético de las proteínas de las fracciones de la extracción secuencial de masas LG sin aditivos y con goma xántica antes y después del descanso refrigerado. **a.** F1: fracción del sobrenadante en buffer fosfato. **b.** F2: fracción del sobrenadante en buffer fosfato+SDS. **c.** Precipitado. PM: marcador de peso molecular, C: control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado, Xan: goma xántica.

las interacciones no covalentes entre las proteínas y ayuda a solubilizar agregados proteicos que se mantenían unidos por ese tipo de interacciones. De este paso, se obtuvo la fracción F2 y un precipitado, el cual puede asociarse con los agregados proteicos que resultaron insolubles en buffer fosfato y SDS. Además, se determinó el contenido de proteínas en cada una de las fracciones y en el precipitado final obtenido en la extracción secuencial. Se profundizó en el análisis de los perfiles proteicos por electroforesis y se determinaron las densidades relativas de las bandas de la muestra del control y las masas con 2,5 % del aditivo.

La figura 3.15.a. muestra los perfiles electroforéticos de las proteínas extraídas de masas sin aditivos y con 2,5 % de goma xántica en buffer fosfato. En el perfil correspondiente a la muestra control se observan bandas pertenecientes a las subunidades α' (~80.000), α (~75.000) y β (~50.000) de la β -conglucina (7S) de la soja (Yamauchi et al. 1991); y a los polipéptidos A (entre 31.000 y 45.000) y B (entre 21.000 y 25.000) de la glicina (11S) (Staswick et al. 1984). Por otro lado, en la harina de arroz la fracción mayoritaria de proteínas está compuesta por las glutelinas, seguidas de las globulinas y en menor proporción se encuentran las albuminas y prolaminas. Sin embargo, para solubilizar las gluteninas y globulinas es necesario utilizar soluciones ácidas o básicas y soluciones salinas de pH neutro, respectivamente. En el caso de las prolaminas, debido a los enlaces disulfuro establecidos entre sus subunidades proteicas es necesario utilizar un agente reductor para su solubilización en soluciones alcohólicas. Por lo que podemos suponer que, bajo las condiciones trabajadas (buffer fosfato a pH=6,9) solo una fracción de las albuminas, solubles en agua, se extraerían y estarían presentes en la F1. En la figura 3.15.a se observa un conjunto de bandas no resuelto de masa molecular entre 18.000 y 20.000, que podría asociarse con la fracción de albúminas de la harina de arroz. El resto de las proteínas que no pudieron ser solubilizadas durante la extracción permanecieron en el precipitado. En la figura 3.15.c en el carril de la muestra control, mediante la identificación de la masa molecular de cada banda, se identificaron subunidades proteicas de masa molecular entre 15.000 y 25.000, que pueden corresponder a las subunidades peptídicas α y δ de las globulinas presentes en gran proporción en la harina de arroz.

Antes del descanso refrigerado la muestra control presentó un mayor contenido de proteínas que se solubilizaron en buffer fosfato y SDS, seguido de las que se extrajeron en buffer fosfato únicamente y una menor cantidad de proteínas en el precipitado (figura 3.16.a). Esto indica que en la muestra control hay una mayor cantidad de subunidades proteicas que están unidas por enlaces no covalentes y que por lo tanto, pudieron ser solubilizadas con buffer fosfato y SDS. Dentro de este grupo, se observó una mayor cantidad de subunidades proteicas con una masa molecular entre 200.000 y 55.000 (figura 3.17.b).

La incorporación de 2,5 % de goma xántica provocó un aumento del contenido de proteínas que se encontraban en estado nativo, probablemente formando puentes hidrógeno y/o enlaces iónicos con el agua de solvatación, y que debido a un cambio en las condiciones del medio, como el pH y la concentración de iones, por el agregado del buffer fosfato se solubilizaron. Sin embargo, con un 5 % del hidrocoloide se observó una disminución de la cantidad de proteínas de la F1, la cual no resultó significativamente diferente al control (figura 3.16.a). La F1 correspondiente a la muestra con 2,5 % de goma xántica presentó bandas de mayor intensidad de masa molecular entre 200.000 y 55.000 en comparación con el control (figura 3.15.a). A su vez, por densitometría se observó un aumento de la densidad relativa de las subunidades proteicas de alta masa molecular con el agregado de 2,5 % de goma xántica en relación al control, mientras que hubo una disminución de las subunidades de masa molecular entre 55.000 y 28.000 y las subunidades de menor masa molecular no se modificaron con la presencia del hidrocoloide (figura 3.17.a). Por lo tanto, con la

presencia de 2,5 % de goma xántica en la masa se observó un incremento en la cantidad de proteínas que se encontraban en estado nativo y cuyas subunidades proteicas estaban conformadas por péptidos de alta masa molecular.

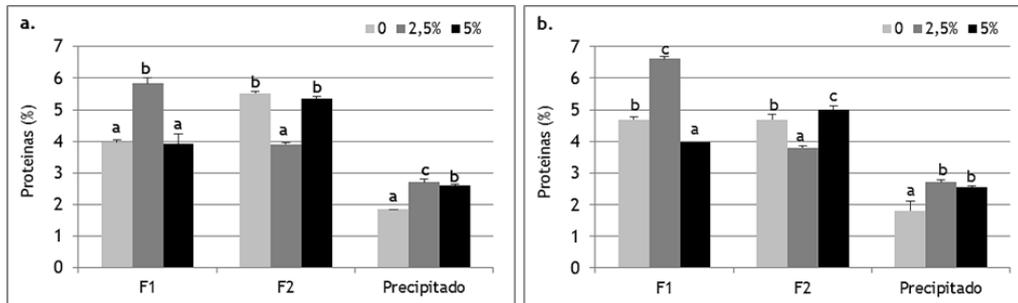


Figura 3.16 Contenido de proteínas de las fracciones de la extracción secuencial de masas LG sin aditivos y con goma xántica. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. F1: fracción del sobrenadante en buffer fosfato, F2: fracción del sobrenadante en buffer fosfato+SDS.

En cuanto a las proteínas solubles en la F2, se observó que con el agregado de 2,5 % de goma xántica un grupo de proteínas disminuyeron su solubilidad en buffer fosfato y SDS y por lo tanto permanecieron insolubles en el precipitado (figura 3.16.a). Sin embargo, frente a la presencia de una mayor concentración de goma xántica la cantidad de proteínas que se solubilizaron en la F2 fue significativamente mayor a la de la masa con 2,5 % de goma xántica, mientras que no se diferenció del control. Esto puede deberse a un doble efecto de la goma xántica. Por un lado, el hidrocoloide compite por el agua con los demás componentes, como las proteínas y el almidón de mandioca. Por lo tanto, el agua disponible para interactuar con las proteínas es menor y el número de interacciones proteína-agua disminuye. Por otro lado, es posible que la goma xántica adquiera una conformación extendida impidiendo que un cierto grupo de proteínas interactúen a través de enlaces fuertes y con el almidón, por lo tanto se reordenan formando agregados unidos por enlaces débiles.

En el carril de la muestra con 2,5 % de goma xántica se observó un aumento de la densidad relativa de las subunidades proteicas de masa molecular entre 28.000 y 10.000 en comparación con el control (figura 3.17.b). Las subunidades de polipéptidos A y B interactúan entre sí por puentes disulfuro y a su vez están asociadas en dos anillos hexagonales formando un cilindro hueco a través de interacciones electrostáticas y puentes hidrógenos (Badley et al. 1975). Por lo tanto, es posible que la goma xántica tenga un efecto en las interacciones no covalentes establecidas entre los anillos hexagonales de las subunidades AB y provoque una mayor solubilidad de estas subunidades proteicas. Al aumentar la cantidad de goma xántica en el sistema es posible que se produzca un efecto de repulsión entre las cadenas de proteínas, las cuales al pH de la masa (pH=6) se encuentran cargadas negativamente, y el hidrocoloide. Esto provocaría un cambio conformacional en las macromoléculas, las cuales tienden a desplazarse hacia una forma molecular más compacta y enrollada, dejando disponible una mayor cantidad de sitios para establecer interacciones no covalentes con el agua disponible. Hecho que se traduce en una mayor cantidad de proteínas en la fracción F2 de la muestra con 5 % de goma xántica, en relación al control.

El agregado de 2,5 % de goma xántica provocó un aumento del contenido de proteínas que permanecieron insolubles en el precipitado debido a las fuertes interacciones de carácter covalente entre sus subunidades, que impidieron la solubilización en buffer fosfato y SDS. Particularmente se observó un aumento en la densidad relativa de los subunidades proteicas de masa molecular entre 55.000 y 28.000 y 28.000 y 10.000 (figura 3.17.c); y el correspondiente aumento de intensidades

de las bandas en el carril de la muestra con 2,5 % de goma xántica, en comparación con el control. Al incorporar un mayor porcentaje del hidrocoloide no se observaron diferencias en el contenido de proteínas del precipitado en comparación con la muestra con 2,5 % de goma xántica.

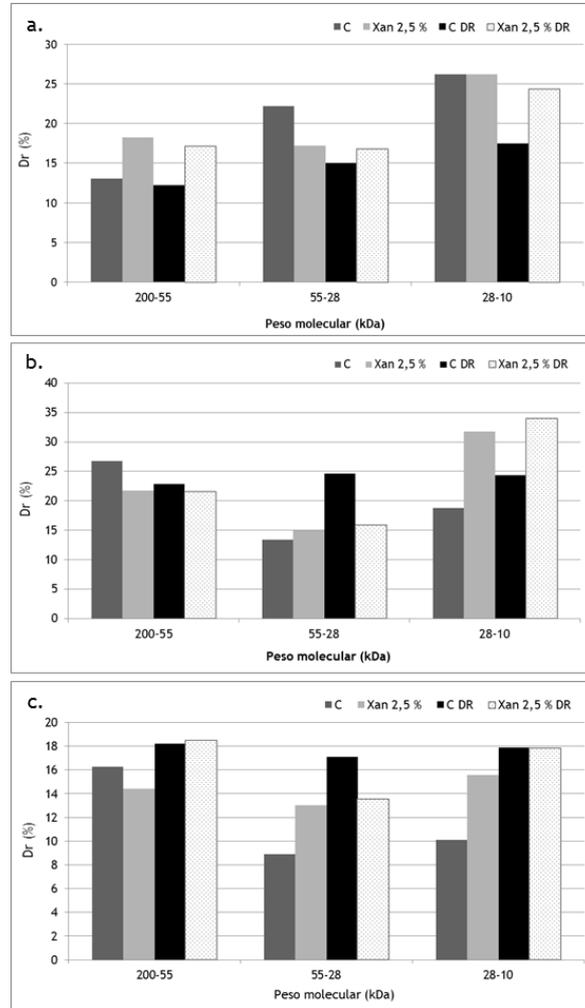


Figura 3.17 Densidad relativa (Dr) de las bandas proteicas de masas LG sin aditivos y con goma xántica. **a.** F1 (sobrenadante en buffer fosfato). **b.** F2 (sobrenadante en buffer fosfato+SDS). **c.** Precipitado. C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado, Xan: goma xántica.

Estas observaciones indican que el efecto de la goma xántica en la fracción proteica es dependiente de la concentración del hidrocoloide en el sistema.

La funcionalidad de un biopolímero presente en un alimento, como es el caso de un hidrocoloide, depende de su estructura química y de la sensibilidad a las condiciones de la solución (pH, fuerza iónica, iones presentes). Además del efecto que ejercen las interacciones establecidas con otros componentes presentes en la matriz del alimento, como proteínas, polisacáridos, lípidos, sales y el azúcar. Sin embargo, debido a la complejidad de una masa, que se presenta como un sistema de múltiples componentes e interacciones, resulta apropiado abordar sistemas más sencillos como soluciones o emulsiones. Las interacciones establecidas entre los polímeros (proteína-proteína, proteína-polisacárido o polisacárido-polisacárido) en solución y con el solvente, agua en este caso, gobiernan la solubilidad y co-solubilidad de los polímeros, y la propiedades reológicas de la mezcla final. Una mezcla de dos polímeros diferentes en solución acuosa puede comportarse de tres maneras diferentes. Por un lado,

pueden ser co-solubles, incompatibles o acomplejarse y coacervar (Benichou et al. 2002). Cuando los dos polímeros poseen carga negativa se pueden formar complejos solubles (Dickinson 1995). Cuando las interacciones proteína-proteína o polisacárido-polisacárido son mayores a las interacciones polímero-solvente, se produce una separación segregativa de fases. Esto es posible a pH mayores que el punto isoeléctrico (pI) de la proteína, en donde ambos, la proteína y el polisacárido presentan cargas de igual signo (en el caso de polisacáridos con carga negativa) por lo que se genera una repulsión por exclusión estérica. Los biopolímeros se repelen mutuamente y se excluyen del volumen de solución que ellos ocupan. Es decir, que los sistemas prefieren existir como dos fases separadas cuando la concentración del hidrocoloide alcanza un determinado valor exhibiendo incompatibilidad termodinámica. Esto genera un cambio de la conformación macromolecular en un equilibrio entre dos conformaciones, el cual está desplazado hacia la forma molecular más compacta por ser la que ocupa menor volumen de solución. La concentración mínima a la que un sistema se divide en fases debe ser determinada para cada mezcla de proteína y polisacárido. En el caso de sistemas basados en proteínas globulares, la concentración es superior al 4 % y mayor a los valores para sistemas de proteínas fibrilares, las cuales poseen una conformación enrollada y mayor volumen de exclusión en comparación con las proteínas globulares (Benichou et al. 2002).

Carp et al. (1999) estudiaron las interacciones entre las proteínas de soja y goma xántica en emulsiones. Estos autores informaron que la goma xántica promovió la formación de agregados de alto peso molecular en soluciones de soja nativa y desnaturalizada mediante tratamiento térmico. En sistemas con la menor concentración de soja nativa (0,5 %) también observaron la formación de agregados de bajo peso molecular y como la adición del hidrocoloide redujo la proporción de los polipéptidos A y B. El efecto del hidrocoloide fue atribuido a las interacciones repulsivas entre la goma xántica y las proteínas de soja. Este comportamiento era esperable ya que a pH neutro la proteína de soja (pI= 4,5) se encontraba cargada negativamente y la goma xántica se presentaba como un polisacárido de carácter aniónico, debido a sus cadenas laterales de carácter aniónico constituidas por unidades de α -D manosa, β -D ácido glucurónico y piruvato. Otros autores (Sánchez et al. 1995) informaron que en soluciones a un pH de trabajo mayor al pI de las proteínas de soja, la interacción entre las proteínas y la goma xántica dependía de la alta distribución desigual de residuos polares; lo cual genera una región en la macromolécula capaz de establecer interacciones electrostáticas débiles como también enlaces puente hidrógeno intermoleculares. Esto resulta en la formación de una red que permite a las proteínas y al hidrocoloide retener o absorber grandes cantidades de agua lo cual incrementa la fricción interna entre los agregados hinchados y por lo tanto produce un aumento de la viscosidad.

Después del descanso refrigerado la muestra control presentó un aumento significativo del contenido de proteínas que se solubilizaron en la F₁ y una disminución significativa del contenido en la F₂, mientras que en el precipitado no se observaron cambios en relación al control antes del tratamiento (figura 3.16.b). El efecto del agregado de goma xántica en el contenido de proteínas de las fracciones y el precipitado de masas sometidas al descanso refrigerado presentó, en general, la misma tendencia que las muestras sin este tratamiento (figura 3.16.b). Si bien se encontraron algunas diferencias, éstas no fueron significativas. La muestra con 2,5 % de goma xántica presentó un mayor contenido de proteínas en la F₁ después del descanso refrigerado con respecto a la misma masa antes del tratamiento. En la muestra con 5 % de goma xántica se observó una disminución no significativa de la cantidad de agregados proteicos unidos por enlaces no covalentes cuando la masa se sometió al descanso refrigerado. Esto indica que la aplicación de periodos de descanso a bajas temperaturas tiene un efecto sobre la solubilidad de las proteínas de cada

fracción del sistema sin goma xántica. Mientras que la presencia de este hidrocoloide en la masa, de alguna manera amortiguó el efecto del descanso refrigerado en la cantidad de proteínas que se solubilizaron en cada fracción y permitió obtener contenidos similares en las fracciones antes y después del tratamiento.

Sin embargo, al comparar las densidades relativas de las bandas correspondientes a las proteínas de cada muestra antes y después del descanso refrigerado se observaron diferencias, lo cual indica que el descanso refrigerado tiene un efecto en la proporción de subunidades proteicas de cada fracción. Con respecto a la F1 (figura 3.17.a), la muestra control luego de ser sometida al descanso refrigerado presentó una disminución en las densidades relativas de las bandas con masa moleculares entre 55.000 y 28.000 y entre 28.000 y 10.000. Mientras que la muestra con 2,5 % de goma xántica no mostró cambios en la cantidad de subunidades proteicas con el tratamiento. En cuanto a las proteínas de la F2 (figura 3.17.b), en la masa control el descanso refrigerado tuvo un marcado efecto sobre las subunidades proteicas de masa molecular entre 55.000 y 28.000, las cuales incrementaron su contenido. Mientras que en la muestra con 2,5 % de goma xántica no se observaron cambios luego del tratamiento aplicado. En el caso de las proteínas que permanecieron en el precipitado (figura 3.16.c), en la muestra control se observó un aumento de las subunidades de masa molecular entre 55.000 y 29.000 y entre 28.000 y 10.000 luego de ser sometida al descanso refrigerado. Mientras que, en la muestra con 2,5 % de goma xántica se observó un aumento de las subunidades de mayor masa molecular (200.000-55.000) luego del descanso refrigerado.

Movilidad del agua presente en el sistema

El agua presente en la masa cumple un rol complejo y difícil de caracterizar, ya que afecta la naturaleza de las interacciones entre los ingredientes, determina el estado conformacional de los biopolímeros y contribuye a la estructuración de la masa por medio de la modificación de su comportamiento reológico (Eliasson 1993). En muestras heterogéneas, como una masa, coexisten fases móviles, sólidas y fases intermedias, correspondientes a agua estructurada de diferente forma. La distribución de agua en sistemas modelos simples con pocos componentes ha sido reportada por algunos autores. Donna y Baik (2007) estudiaron mezclas de almidón/agua, gluten/agua y almidón/gluten/agua y las compararon con masas de harinas de trigo. Sin embargo, estos autores concluyeron que la movilidad molecular exhibida por la masa era más representativa de las interacciones establecidas con el almidón que con el gluten, a pesar de que ambas interacciones almidón-agua y gluten-agua ocurrían en el sistema. En ciertos sistemas se ha logrado asignar las poblaciones de protones observadas a los componentes presentes en la masa. Engelsen et al. (2001) encontraron tres poblaciones en masa de harina de trigo mientras era sometida a un proceso de calentamiento, asociadas con la proteína, el almidón y los pentosanos y al proceso de intercambio difuso entre el almidón y las fracciones proteicas.

Con el objetivo de asignar las poblaciones a los componentes presentes en el sistema se elaboraron masas con el doble de materia grasa (25 %) y de harina de soja (40 %) que la formulación control y se analizaron por RMN. Sin embargo, no se observaron cambios significativos en la cantidad de poblaciones, sus intensidades y tiempos T2 de la muestra control en relación a las masas con el doble de materia grasa y harina de soja. Por lo que no fue posible asociar los picos observados en la masa control LG de panificados laminados con los componentes presentes en la misma.

Para el estudio de las masas control y con goma xántica se utilizó la secuencia de CPMG, la cual permitió obtener el decaimiento de la fracción móvil del sistema; ya que los tiempos de relajación asociados a la parte sólida decayeron muy rápido y no pudieron ser detectados correctamente. Para todas las muestras analizadas la señal de decaimiento obtenida estuvo compuesta por una distribución de varias funciones, lo cual pudo relacionarse con un sistema heterogéneo, en donde cada uno de sus componentes pudo ser asociado a diferentes regiones de movilidad. La distribución de los tiempos T_2 fue deconvolucionada con el objetivo de obtener los valores de tiempo de relajación e intensidad para cada población (figura 3.18.a).

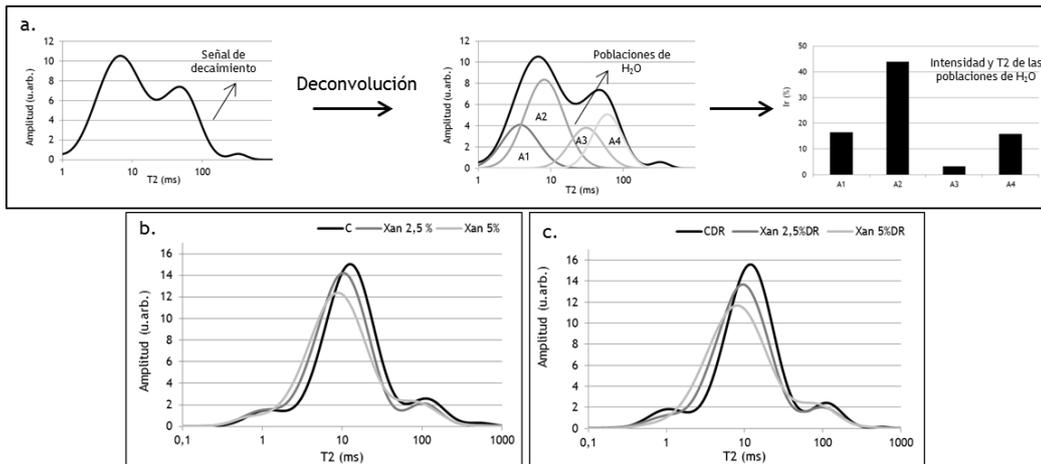


Figura 3.18 Distribución de los tiempos de relajación en masas LG sin aditivos y con goma xántica. **a.** Procedimiento para la obtención de las poblaciones de agua y sus parámetros descriptores. **b.** Antes del descanso refrigerado **c.** Después del descanso refrigerado. T_2 : tiempo de relajación T_2 , C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado, Xan: goma xántica.

La masa control sin descanso refrigerado mostró cuatro poblaciones de agua que se presentaron a diferentes tiempos de relajación (figura 3.19.a). Estas pueden ser agrupadas como poblaciones menos móviles (A_1 , A_2 y A_3) con valores de T_2 menores a 20 ms y con un T_2 mayor a 20 ms como poblaciones con mayor movilidad (A_5) (figura 3.18.a). En la muestra con 2,5 % de goma xántica los tiempos de relajación T_2 se distribuyeron en cinco poblaciones (figura 3.19.a), por lo que se observó la presencia de una población más (A_4) en relación al control que puede relacionarse con el agua asociada a la goma xántica incorporada en la formulación. La población A_4 presentó un T_2 mayor a 20 ms y por lo tanto pertenece al grupo de poblaciones más móviles que posee el sistema. La presencia de 2,5 % de goma xántica no provocó cambios en las intensidades de las poblaciones menos móviles como A_1 y A_2 . Las poblaciones A_3 y A_5 , de mayor movilidad, vieron disminuida su intensidad relativa cuando un 2,5 % del hidrocoloide estaba presente.

Cuando se agregó una mayor concentración del aditivo se observaron cinco poblaciones, al igual que en la muestra con 2,5 % de goma xántica y A_4 presentó una mayor intensidad (figura 3.19.a). Por otro lado, se observó que con un 5 % de hidrocoloide las poblaciones A_1 , A_2 y A_3 disminuyeron su intensidad mientras que A_5 aumentó su intensidad. Esto indica que en ambas muestras con goma xántica tiene lugar una reorganización de las moléculas de agua entre los componentes de la masa, y por lo tanto el/los componente/s asociado/s a las distintas poblaciones se ven hidratados en diferente medida según la dosis de hidrocoloide presente en el sistema.

Por otro lado, la incorporación de 2,5 % de goma xántica provocó una leve disminución de los tiempos de relajación en relación al control (figura 3.18.a). Cuando

se adicionó un porcentaje mayor del hidrocoloide el efecto fue más marcado. Esto revela que la incorporación de un 5 % del hidrocoloide disminuyó la movilidad de las poblaciones y promovió una mayor estructuración del sistema. Los tiempos de relajación correlacionan con la difusión rotacional de una molécula y por lo tanto se consideran como buenos indicadores de la movilidad molecular de los componentes. Mayores valores de tiempos de relajación indican mayor movilidad (Hills et al. 1990). Contrariamente a estos resultados, Linlaud et al. (2011) obtuvieron en masa de harina de trigo con 1,5 % de goma xántica un mayor valor de T_2 , y por lo tanto una mayor movilidad, en relación a una masa sin hidrocoloide. Las discrepancias encontradas respecto de estos autores pueden deberse a las diferencias estructurales existentes entre sistemas de harina de trigo y otros cereales.

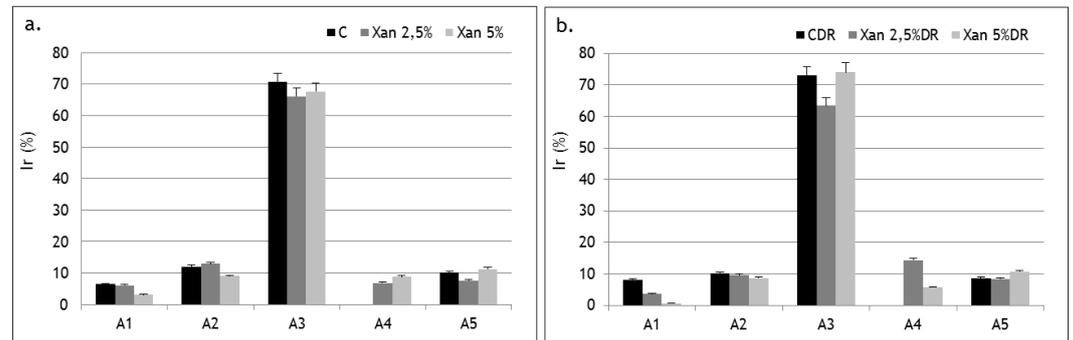


Figura 3.19 Intensidad relativa de las poblaciones de agua en masas LG sin aditivos y con goma xántica. a. Antes del descanso refrigerado b. Después del descanso refrigerado. Ir: Intensidad relativa, A: población, C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado, Xan: goma xántica.

Seguidamente las muestras fueron sometidas a un descanso refrigerado y se evaluaron nuevamente utilizando resonancia magnética nuclear. La muestra control presentó una distribución de los tiempos de relajación T_2 en cuatro poblaciones (figura 3.19.b), con las poblaciones A1, A2 y A3 como las menos móviles y A5 de mayor movilidad. El efecto del agregado de goma xántica en la cantidad de poblaciones de las masas sometidas al descanso refrigerado presentó, en general, la misma tendencia que las muestras sin este tratamiento (figura 3.19.b). Con el agregado de ambos porcentajes de goma xántica se observó un aumento de la cantidad de poblaciones en relación al control, en donde A4 puede ser nuevamente asociada con el agua unida al hidrocoloide. En relación a la intensidad de las poblaciones de agua, el agregado de 2,5 % de goma xántica provocó una leve disminución de la intensidad de A1 y un mayor detrimento en la población A3 en relación a control. Esto indica que, las moléculas que en el control se presentaban unidas a los distintos componentes de la masa, ante la presencia de la goma xántica se reorganizaron y solvataron la cadena del polímero constituyendo una población más. Al agregar una cantidad mayor del hidrocoloide la reorganización de las moléculas de agua continuó pero en este caso hubo un aumento de A3 y A5 y al igual que con 2,5 % del aditivo se observó una disminución de la población A1, aunque en mayor medida. Por otro lado, la población A4 relacionada a la goma xántica disminuyó. Esto puede relacionarse con una redistribución del agua luego del descanso refrigerado y una concomitante mayor interacción entre ésta y los componentes de la harina.

En cuanto al efecto de la incorporación de goma xántica en los tiempos de relajación de masas con descanso refrigerado, también se observó una disminución de los T_2 , lo cual indica que en masas con descanso refrigerado la goma xántica disminuye la movilidad de las moléculas de agua estructurando el sistema (figura 3.18.b). Lüsse y Arnold (1998) estudiaron el fenómeno de relajación en soluciones de polisacáridos y

atribuyeron las diferencias observadas en la velocidad de relajación del agua ligada ($1/T_2$) a procesos de reorientación con respecto al sitio de unión y a la movilidad de la cadena principal del polímero. Las soluciones de polímeros de cadena rígida, como la goma xántica, exhibieron velocidades de relajación más altas (menores tiempos de relajación) que las soluciones de polímeros flexibles. Es decir que la movilidad de las poblaciones de agua en la masa con goma xántica sometida a un periodo de descanso refrigerado se vio afectada por el proceso de reorientación de las moléculas de agua con respecto a los sitios de unión y por la movilidad de la cadena del polímero.

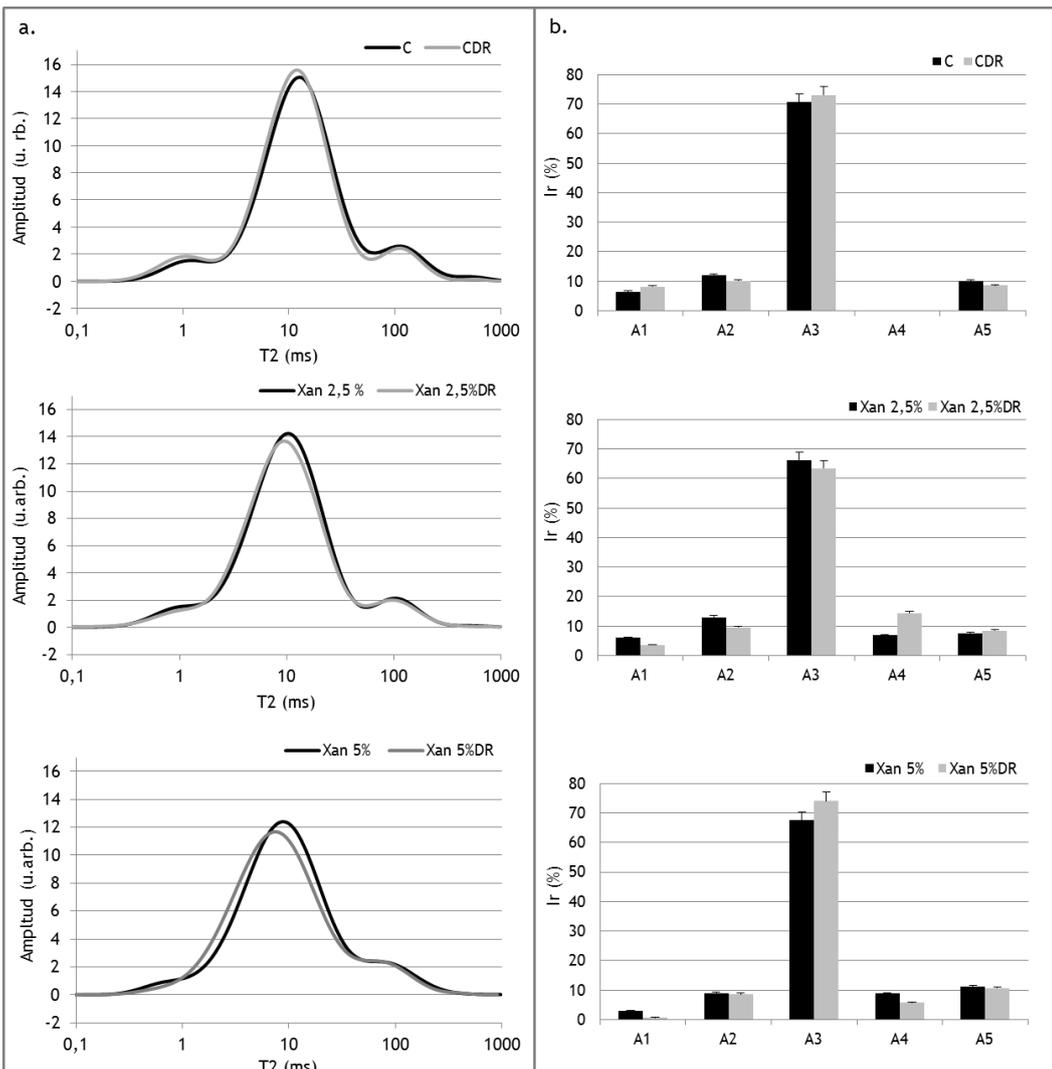


Figura 3.20 Efecto del descanso refrigerado en la movilidad del agua de masas LG sin aditivos y con goma xántica. **a.** Distribución de los tiempos de relajación **b.** Intensidad relativa de las poblaciones de agua. T_2 : tiempo de relajación T_2 , I_r : Intensidad relativa, A: población, C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado, Xan: goma xántica.

En relación al efecto del descanso refrigerado sobre la movilidad del agua, en la masa control y con 2,5 % de goma xántica no se observaron cambios en los tiempos de relajación T_2 ; la muestra con una mayor cantidad de hidrocoloide presentó una leve disminución de los valores de T_2 (figura 3.20.a). Esto indica que el descanso refrigerado no tuvo un efecto en la movilidad del agua de las masas cuando se las comparó con la misma muestra antes del tratamiento.

El descanso refrigerado no provocó cambios en la cantidad de poblaciones de las muestras, mientras que si se observaron leves modificaciones en las intensidades de las poblaciones (figura 3.20.b). En la muestra control se encontró un leve aumento de

la intensidad de las poblaciones A1 y A3, mientras que A2 y A4 disminuyeron. En el caso de la masa con 2,5 % de goma xántica las poblaciones menos móviles, A1, A2 y A3 disminuyeron levemente su intensidad con el tratamiento, mientras que A5 aumentó al igual que A4; aunque esta última en mayor medida. Esto revela que posiblemente durante el descanso refrigerado tiene lugar una reorganización de las moléculas de agua entre los distintos componentes, por lo que al finalizar el descanso refrigerado la cantidad de agua unida a la goma xántica resultó mayor.

En la masa con una mayor concentración de goma xántica, luego del descanso refrigerado se observó una disminución de las intensidades de A1 y A4 y un aumento de A3, en relación a las intensidades de las poblaciones antes del tratamiento. Estos resultados indican que en el caso de las muestras con goma xántica el descanso refrigerado en el proceso de producción de los panificados podría ser de menor duración, ya que el sistema logra en cierta medida estructurarse con la simple incorporación del aditivo. Cabe aclarar, que si bien al incorporar la menor dosis de goma xántica en masa sin descanso refrigerado no se observaron grandes cambios a nivel de la movilidad molecular de las poblaciones de agua, a nivel supramolecular el sistema presentó un comportamiento reológico significativamente diferente del control; caracterizado por una mayor rigidez y viscosidad. Lopes da Silva et al. (2007) estudiaron masas de dos variedades de trigo que diferían en la dureza del grano y la capacidad de absorción de agua. Estos autores informaron que la mayor rigidez observada a un nivel supramolecular, demostrada por un mayor módulo de almacenamiento de la masa de harina de trigo más duro en relación a la elaborada con harina de trigo más blando, no reflejaba directamente la movilidad molecular general de la matriz proteína/agua estudiada a través de RMN. Este hecho fue relacionado a que probablemente los parámetros obtenidos en el ensayo reológico reflejan movimientos lentos (en el orden de los 0,001-100 s) y en general asociados a las cadenas principales, mientras que los T2 poseen una fuerte contribución de los movimientos rápidos (en el orden de los ms); que pueden relacionarse en su mayoría con las cadenas laterales de los polímeros presentes en la matriz y/o con segmentos más cortos de los mismos.

La goma xántica compite por el agua presente en la masa e interactúa con los componentes. Esto provocó en el sistema una mayor rigidez y resistencia a la deformación y un aumento de su respuesta elástica luego del descanso refrigerado, la cual le permitió recuperarse en mayor medida durante la relajación. En un análisis a un nivel más profundo se observó que las interacciones entre las moléculas del hidrocoloide y el agua afectaron a las relaciones con el resto de los componentes. El aditivo provocó una redistribución del agua entre los componentes y una disminución de su movilidad. Por otro lado, la goma xántica generó cambios en las interacciones entre las proteínas y por lo tanto disminuyó la solubilidad de agregados proteicos que estuvieron formados por subunidades de mayor masa molecular. Esto permitió obtener piezas de masa laminadas con mejores propiedades elásticas que el control, de manera tal que fueron más altas luego del proceso de hojaldrado. Concomitantemente el efecto del hidrocoloide sobre la estructuración del sistema se expresó en panificados de mayor volumen y altura y de estructura laminada más resistente a la deformación.

Efecto del aumento de temperatura en la estructura de la masa

Comportamiento reológico durante el calentamiento

Con el objetivo de evaluar el efecto de la incorporación de goma xántica en el comportamiento reológico de la masa durante el calentamiento se llevaron a cabo

barridos de temperatura en porciones de muestra sin laminar luego del descanso refrigerado. En el barrido de temperatura se evalúan las propiedades reológicas dinámicas de un sistema sometido a un barrido de frecuencia con calentamiento, mientras que el esfuerzo y la deformación aplicados permanecen constantes.

Durante el intervalo de temperatura el módulo elástico (G') de las tres muestras analizadas fue mayor al viscoso (G''), lo cual permite asociar a las masas en estudio con sistemas que presentan propiedades viscoelásticas (figura 3.21). Los módulos elástico y viscoso de las muestras presentaron curvas de perfiles similares, los cuales se caracterizaron por una disminución entre los 25 y 50 °C, asociada con la desnaturalización de las proteínas presentes en el sistema y la fusión de la materia grasa. Seguidamente los módulos permanecieron constantes hasta aproximadamente los 75 °C. Después se observó un crecimiento en la curva con el aumento de la temperatura hasta los 90 °C asociado a la gelatinización del almidón, que luego decreció.

Las masas con ambas dosis de goma xántica presentaron una respuesta elástica mayor al control entre los 25 y 80 °C. Esto sugiere que la incorporación de goma xántica en ambas dosis promovió la formación de un sistema que al ser calentado hasta 80 °C presentó una estructura más compleja y entrelazada con mayor cantidad de puntos de contacto en relación a la muestra control. Moreira et al. (2011) informaron el mismo comportamiento en masas de harina de castaña con un 2,0 % de goma xántica. Crockett et al. (2011) observaron que la goma xántica al ser calentada adquiere una conformación desenrollada y por lo tanto el número de enlaces iónicos con las proteínas aumenta, lo cual se expresa físicamente en un incremento del módulo elástico del sistema. En este intervalo del barrido, el G' disminuyó para las tres muestras. Sin embargo, la disminución del módulo elástico en las muestras con goma xántica se caracterizó por una mayor pendiente y una región en donde G' permaneció prácticamente constante, la cual también fue mayor al control.

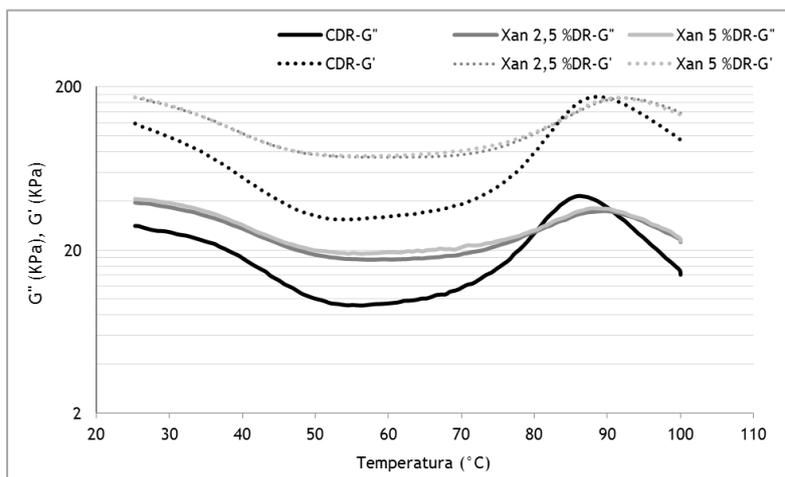


Figura 3.21 Barrido de temperatura de masas LG sin aditivos y con goma xántica. G'' : módulo viscoso, G' : módulo elástico, C: muestra control, Xan: goma xántica.

Entre los 88 y 92 °C las curvas de G' para las tres muestras presentaron un pico, cuyo valor máximo se vio desplazado a mayores valores de temperatura con ambas dosis de goma xántica; aunque este cambio no fue significativamente diferente (tabla 3.10). Los valores máximos de la derivada de G' se pueden asociar con el inicio del aumento del módulo elástico. Las masas con goma xántica presentaron valores máximos para la derivada del G' a mayores temperaturas en relación al control (tabla 3.10). Lo cual

indica que el inicio del incremento del módulo elástico ocurrió a mayores temperaturas en las muestras con goma xántica.

Moreira et al. (2011) y Mariotti et al. (2009) estudiaron el comportamiento reológico de masas de harina de castaña y almidón de maíz y harina de amaranto, respectivamente, a través de barridos de temperatura y relacionaron los parámetros reológicos con el comportamiento del almidón presente en el sistema durante el calentamiento. Moreira et al. (2011) asociaron la temperatura del valor máximo de la derivada de G' con la temperatura de inicio de gelatinización del almidón y observaron que con el agregado de goma xántica había un aumento de este valor en relación a la masa sin aditivo. Esto fue relacionado con la capacidad del hidrocoloide presente en el sistema de retrasar el inicio de la gelatinización de la fracción almidonosa. Rojas et al. (1999) han informado variaciones en la temperatura de inicio de gelatinización del almidón con la presencia de hidrocoloides en suspensiones de harina de trigo. A través de un ensayo de calorimetría diferencial de barrido observaron que la suspensión de goma xántica y harina presentaba un mayor valor de temperatura de inicio de gelatinización (*Tonset*) en relación a la suspensión sin hidrocoloide. Sin embargo, la presencia de la goma xántica no provocó cambios en la temperatura de pico con respecto a la muestra sin aditivo. Este efecto de la goma xántica puede asociarse con su gran capacidad para absorber agua y por lo tanto reducir la actividad de agua del sistema de manera que la cantidad de agua disponible para que los gránulos de almidón se hinchen y gelatinicen disminuye y por lo tanto la temperatura de gelatinización es mayor. Los módulos de las muestras con goma xántica volvieron a ser mayores al control una vez que la temperatura continuo aumentando.

Las masas con ambas dosis de goma xántica presentaron una respuesta viscosa mayor a la del control entre los 25 y 80 °C. La viscosidad en la masa control que es sometida al calentamiento está dada principalmente por la gelatinización del almidón. Mientras que la presencia de goma xántica ejerce un efecto soluto y afecta la viscosidad del sistema, ya que la capacidad del almidón para gelatinizar y otorgar viscosidad se ve influenciada por la menor cantidad de agua disponible. Sin embargo, la naturaleza aniónica de la cadena de goma xántica le permite interactuar con el almidón y el agua a través de enlaces puente hidrogeno. Los grupos hidroxilo presentes en la cadena principal interactúan con el agua, el almidón y otras cadenas de goma xántica, formando un gel rígido a altas concentraciones. A su vez los grupos laterales forman una estructura de doble hélice tipo tubo que incrementa la rigidez del gel. Esta estructura le permite a la goma xántica hidratarse rápidamente en agua fría formando un gel pseudoplástico aun a bajas concentraciones (Whitcomb y Macosko 1978). La red débil formada durante el cizallamiento no es un gel verdadero sino una simple interacción entre las macromoléculas de goma xántica y por lo tanto es reversible (Urlacher y Nobel 1997). Por lo tanto, la viscosidad de las masas con goma xántica está dado por dos procesos que tienen lugar durante el calentamiento, la gelatinización del almidón y la formación de un gel.

El perfil de las tres muestras a lo largo del barrido de temperatura fue similar. Sin embargo, en las masas con el hidrocoloide se observó que el G'' disminuyó con una mayor pendiente en relación al control, al igual que la zona de la curva en la que el módulo viscoso permaneció constante. Entre los 80 y 100 °C se observó un máximo en la curva, en donde el G'' del control fue mayor al de las muestras con goma xántica.

Las masas con ambas dosis de goma xántica presentaron menores valores de $\tan \delta$ entre los 25 y 80 °C en relación al control, mientras que por encima de los 80 °C hubo una inversión de las curvas (figura 3.22). Esto revela que la incorporación de goma xántica otorgó al sistema un mayor carácter de sólido viscoelástico entre los 25 y 80 °C, mientras que a temperaturas mayores a 80 °C el efecto fue contrario y el hidrocoloide concedió al sistema un carácter más bien de líquido viscoelástico.

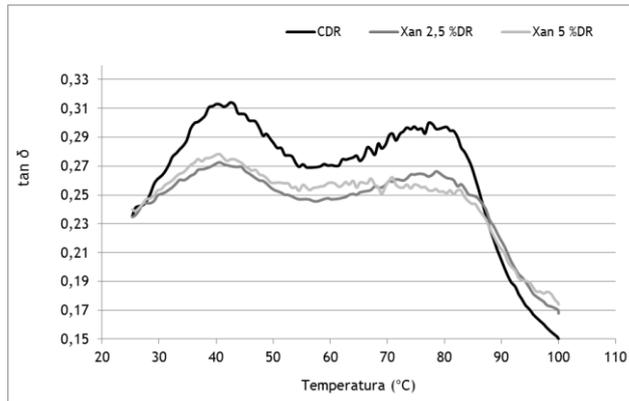


Figura 3.22 Efecto de la temperatura en la $\tan \delta$ de masas LG sin aditivos y con goma xántica. C: muestra control, Xan: goma xántica.

Entre los 25 y 40 °C se observó un aumento de la $\tan \delta$ en las tres muestras, relacionado a un predominio de la componente viscosa, debido a la fusión de la materia grasa. Si bien las masas con goma xántica presentaron esta tendencia, el peso de la componente viscosa fue menor en relación al control, aunque este efecto solo fue significativo en el caso de la masa con 2,5 % de goma xántica (tabla 3.10). Es decir que el control presentó un mayor carácter de líquido viscoelástico que las masas con el hidrocoloide. Seguidamente la $\tan \delta$ disminuyó hasta los 60 °C, relacionado a un predominio de la componente elástica en el sistema. Entre los 60 y 80 °C las muestras presentaron un incremento de la $\tan \delta$, asociado a un mayor peso de la componente viscosa. Las muestras con ambas dosis del hidrocoloide obtuvieron valores significativamente menores al control a 80 °C. A los 87 °C tuvo lugar una inversión de las curvas, la muestra control presentó menores valores de $\tan \delta$ en comparación con las masas con goma xántica. Entre los 87 y 100 °C el perfil de la $\tan \delta$ de las tres muestras disminuyó evidenciando un predominio del G' .

Tabla 3.10 Parámetros del barrido de temperatura de masas LG con y sin goma xántica después del descanso refrigerado

Parámetros		Control DR	Xan 2,5 %DR	Xan 5 %DR
G'	Max (KPa)	18,4 ^a	17,4 ^a	17,2 ^a
	T (°C)	88,6 ^a	91,9 ^a	92,0 ^a
d_1, G'	Max (KPa)	15,5 ^b	9,2 ^a	8,9 ^a
	T (°C)	82,6 ^a	86,7 ^b	86,3 ^b
$\tan \delta$	25 °C	0,24 ^a	0,23 ^a	0,24 ^a
	40 °C	0,31 ^b	0,27 ^a	0,28 ^{ab}
	60 °C	0,27 ^a	0,25 ^a	0,26 ^a
	80 °C	0,30 ^b	0,26 ^a	0,25 ^a
	100 °C	0,15 ^a	0,17 ^b	0,17 ^b
η^* (KPa.s)	25 °C	19,7 ^a	26,6 ^b	28,2 ^b
	40 °C	9,2 ^a	16,2 ^b	17,0 ^b
	60 °C	5,0 ^a	11,6 ^b	12,4 ^b
	80 °C	11,9 ^a	15,6 ^a	17,1 ^a
	100 °C	13,7 ^a	21,2 ^b	21,2 ^b

G' : módulo elástico, Max: valor máximo de G' , T: temperatura, $d_1 G'$: primera derivada de G' , η^* : viscosidad compleja, DR: descanso refrigerado, Xan: goma xántica. Letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

La viscosidad compleja (η^*) es un parámetro que ofrece una medida de la magnitud de la resistencia total de la muestra al corte dinámico. La figura 3.23 muestra las curvas de viscosidad compleja para las tres muestras durante el barrido de temperatura. Entre los 25 y 80 °C las masas con goma xántica presentaron mayor viscosidad compleja en relación al control (tabla 3.10), es decir que la presencia de goma xántica en las masas promueve una mayor resistencia de las mismas a fluir durante el calentamiento hasta 80 °C. Entre los 80 y 90 °C hay una inversión de las curvas y se observa como el control presenta la mayor viscosidad, seguido de Xan 5 % y por último Xan 2,5 %. Esto se relaciona con el efecto de la goma xántica sobre la capacidad de gelatinización del almidón del sistema. La menor disponibilidad de agua en las masas con el aditivo provocó que el almidón gelatinice en menor proporción y por lo tanto el sistema se presente como menos viscoso. Finalmente, entre los 90 y 100 °C se produjo una disminución de la viscosidad en las muestras. Sin embargo, se observó que las masas con goma xántica finalizaron el barrido con una mayor η^* que el control. Lo cual puede asociarse a una prevalencia del proceso de formación de una estructura tipo gel por sobre la disminución de la gelatinización del almidón.

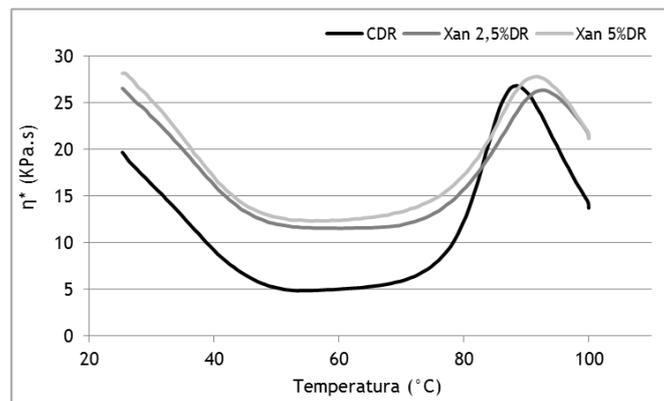


Figura 3.23 Efecto de la temperatura en la viscosidad compleja de masas LG sin aditivos y con goma xántica. η^* : viscosidad compleja, C: muestra control, Xan: goma xántica.

Algunos autores han evaluado la existencia de interacciones entre la goma xántica y diferentes proteínas. Hua et al. (2003) observaron la formación de geles de proteína de soja y goma xántica. Estos autores informaron que la fracción proteica se comportaba como la fase soporte, aún a concentraciones de goma xántica mayores a 1 %. Durante el calentamiento, la estructura de la goma xántica adquiere una conformación desenrollada y por ende un aumento en las interacciones con las proteínas. Crockett et al. (2011) relacionaron este hecho con una mejora en las propiedades elásticas de masas de panes LG. En este caso, además de un aumento de G' en las muestras con el aditivo, se observó una mayor viscosidad de las muestras con goma xántica.

Distribución del agua durante el calentamiento

El ensayo termogravimétrico mide la velocidad del cambio del peso de una muestra debido a la transferencia de calor (Fessas y Schiraldi 2001). La curva de la primera derivada de la pérdida de peso de la muestra se deconvoluciona para diferenciar entre los tipos de poblaciones de agua presentes en la masa, los cuales se presentan como distribuciones gaussianas (Lodi y Vodovotz 2008).

No se encontraron diferencias significativas entre la humedad total de la masa control antes del descanso refrigerado y la masa con 2,5 % de goma xántica (tabla 3.9), a pesar de que la cantidad de agua en la formulación de cada muestra fue diferente. La

misma tendencia se observó entre las masas control y con el aditivo después del descanso refrigerado. La curva de la derivada de la pérdida de peso de la muestra control presentó un pico a los 110 °C (figura 3.24.a), el cual fue deconvolucionado en cuatro curvas gaussianas con picos a diferentes temperaturas (tabla 3.11) que permitieron identificar cuatro poblaciones de agua. Por debajo de los 100 °C se encontraron dos poblaciones, A₁ y A₃, relacionadas al agua débilmente atrapada ya que requirieron menor temperatura para ser removidas. Por encima de los 100 °C se observaron otras dos poblaciones, A₄ y A₅, correspondientes con poblaciones de agua más fuertemente atrapadas.

Fessas y Schiraldi (2001) informaron que el agua en una masa de harina de trigo estaría en al menos dos estados, libre para difundir a través de un medio cuya viscosidad aumentaba con el incremento de la temperatura debido al secado y a las transformaciones del almidón y la red de gluten. Y por otro lado, fuertemente unida a la red de gluten y capaz de ser liberada únicamente a altas temperaturas. Crockett et al. (2011) observaron en masas LG de harina de arroz y almidón de mandioca, una población de agua a 49 °C la cual asociaron con el agua difundida a través del gel de almidón. La otra población apareció a los 68 °C y fue relacionada con las proteínas no gluteínicas bajo reticulación. Las proteínas de soja poseen una alta afinidad por el agua, en la harina de soja, al menos el 60 % de las proteínas se encuentran interaccionando con el agua a pH 7 (Lamsal et al. 2007). Por lo tanto podemos asumir que la mayor cantidad de poblaciones encontradas, en comparación con el sistema caracterizado por Crockett et al (2011), se debe a la fracción de agua unida a las proteínas de soja. Las cuales además compiten por el agua con el almidón, de manera tal que los picos correspondientes a las fracciones almidonosas aparecen a mayores temperaturas que las informados por estos autores. Por lo tanto, las poblaciones A₁ y A₃ en la masa control pueden ser asociadas con el agua de las fracciones almidonosas de la masa, mientras que A₄ y A₅ con las fracciones proteicas.

Tabla 3.11 Parámetros del análisis termogravimétrico de masas LG con y sin goma xántica antes y después del descanso refrigerado

Muestra	Humedad total (%)	T _{pico} (°C)				
		A1	A2	A3	A4	A5
Control	(56±5) ^a	(77±1) ^a		(97±4) ^a	(112±1) ^a	(126±2) ^a
Xan 2,5 %	(60±1) ^a	(71±1) ^a	(85±1)	(98±1) ^a	(112±2) ^a	(128±2) ^a
Control _{DR}	(79±5) ^a	(74±5) ^a	(94±2) ^a	(109±2) ^a	(119±3) ^a	(124±3) ^b
Xan 2,5 % _{DR}	(85±2) ^a	(78±2) ^a	(99±3) ^a	(111±2) ^a	(118±2) ^a	(127±1) ^a

T: temperatura, A: población de agua, Xan: goma xántica, DR: descanso refrigerado. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras con y sin DR ($p \leq 0,05$).

En la masa con 2,5 % de goma xántica sin descanso refrigerado se observaron cinco poblaciones de agua (figura 3.24.a). A₁, A₂ y A₃ se asocian con agua débilmente atrapada, en donde A₁ y A₃ corresponden en temperatura con las poblaciones A₁ y A₃ presentes en la masa control y asociadas a las fracciones almidonosas. La población A₂ no tiene un pico correspondiente en la muestra sin aditivo por lo que puede ser atribuida al agua unida a la goma xántica. Crockett et al. (2011) observaron una población de agua a 87 °C asociada a la goma xántica adicionada en un 2 % en la formulación LG. Las poblaciones A₄ y A₅ observadas en esta muestra a temperaturas superiores a los 100 °C corresponden a agua fuertemente atrapada en la fracción proteica.

La presencia de la goma xántica produce una redistribución de las poblaciones de manera tal que, hubo una mayor cantidad de agua (~ 41 %) que se evaporó por debajo de los 100 °C en relación al control (~ 35 %). Como se observó anteriormente mediante RMN, la movilidad de las poblaciones de agua del sistema disminuyó con la presencia de goma xántica; mientras que en el control el agua unida al almidón en estado nativo presentó mayor movilidad. Esto generó un efecto positivo en las propiedades reológicas de la masa y permitió un comportamiento diferenciado del control durante el armado de la pieza. De manera tal que la masa con goma xántica comenzó el horneado con una mayor estructuración de sus poblaciones de agua.

Sin embargo, durante el horneado la menor disponibilidad de agua debido a la presencia del hidrocoloide retrasó la gelatinización del almidón, además de que ocurrió en menor proporción, en relación al control. La goma xántica promovió la existencia de una mayor cantidad de agua débilmente atrapada que se evaporó más fácilmente frente a la acción del calor. Es decir, que el agua unida al aditivo presentó mayor facilidad para ser evaporada que la que se encontró interaccionando con el almidón gelatinizado. Este efecto se expresó en módulos elásticos y valores de viscosidad compleja de las masas con ambas dosis del aditivo menores al control durante la gelatinización en el barrido de temperatura.

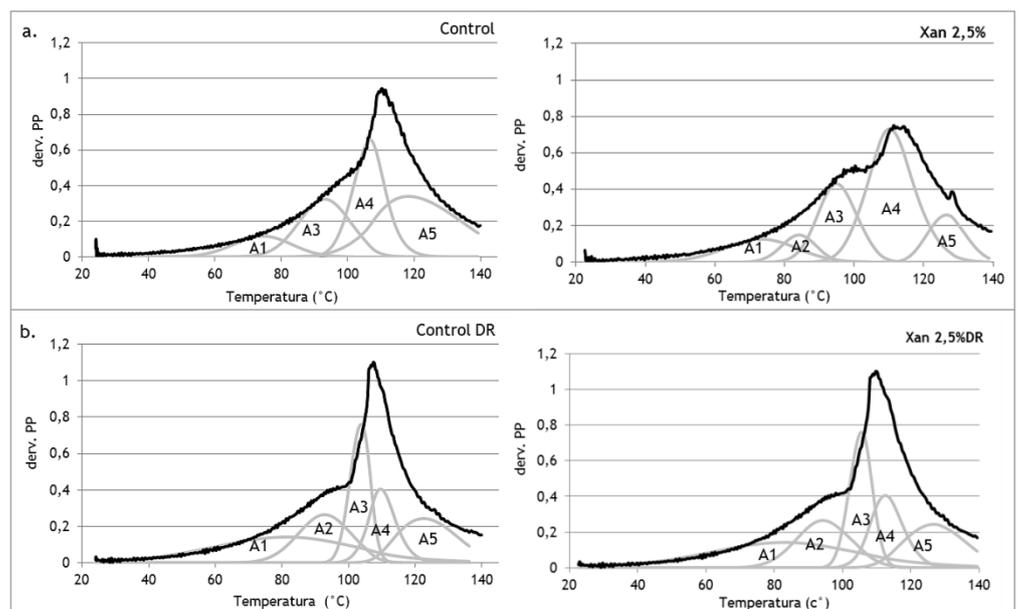


Figura 3.24 Termogramas de la derivada de la pérdida de peso de masas LG sin aditivos y con goma xántica. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. Derv: primera derivada de la pérdida de peso, PP: pérdida de peso, A: población de agua, Xan: goma xántica, DR: descanso refrigerado.

Las masas se sometieron a un descanso refrigerado y fueron evaluadas bajo las mismas condiciones a través de un análisis termogravimétrico. La masa control presentó cinco poblaciones, es decir una población más en relación a la misma muestra antes del tratamiento. Las poblaciones A₁ y A₂ permanecieron por debajo de los 100 °C y por lo tanto pueden asociarse con agua débilmente atrapada, mientras que A₃, A₄ y A₅ se encontraron a temperaturas mayores a 100 °C; correspondiente a agua fuertemente atrapada. Por otro lado, las poblaciones A₄ y A₅ vieron reducidas sus contribuciones, mientras que A₁ experimentó un aumento en relación al control sin el tratamiento (figura 3.25). Esto revela que durante el descanso refrigerado tuvo lugar una reorganización de las poblaciones de agua de la masa control. Como resultado una mayor cantidad de agua (~53 %) se presentó menos

entrapada y se evaporó por debajo de los 100 °C, en relación al control antes del tratamiento.

En la masa refrigerada con 2,5 % de goma xántica se observaron cinco poblaciones, al igual que en control refrigerado. De la misma forma que en la masa sin descanso refrigerado, el hidrocoloide provocó una reorganización en las poblaciones de agua modificando las contribuciones de cada fracción en relación al control. En la figura 3.24.b se observa un marcado aumento en la contribución de la población A2 en la masa con el aditivo en relación al control, de manera tal que la presencia de goma xántica en el sistema contribuyó a que una mayor fracción de agua se encontrara menos entrapada.

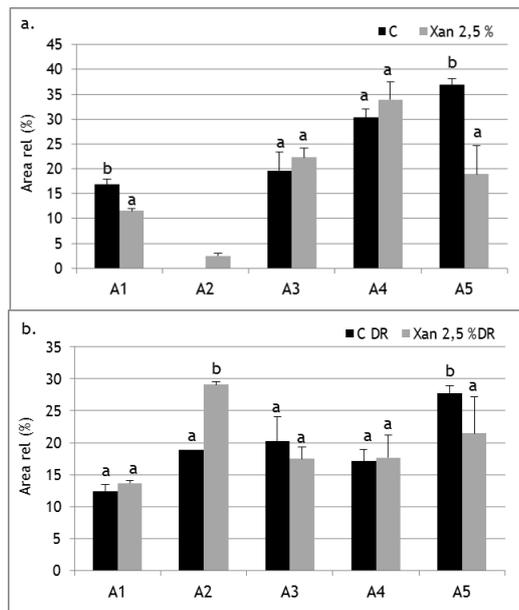


Figura 3.25 Áreas relativas de las poblaciones de agua de masas LG sin aditivos y con goma xántica. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. A: población de agua, Xan: goma xántica, DR: descanso refrigerado. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre las poblaciones de cada muestra ($p \leq 0,05$).

Evaluación de la estructura interna durante el calentamiento

Con el objetivo de evaluar el efecto de la incorporación de goma xántica en la evolución de la estructura interna de una pieza de masa laminada se elaboraron piezas con 2,5 % del aditivo y se tomaron fotografías del centro de la pieza y a 5 mm de la superficie, a distintos tiempos durante el horneado. Se registró el perfil de temperatura (figura 3.26) durante el horneado en piezas de masa LG sin aditivo y con hidrocoloide en las dos posiciones designadas. Sin embargo, no se observaron diferencias en el perfil para las distintas muestras. Al inicio del horneado la temperatura en el centro de la pieza y cerca de la superficie es aproximadamente la misma, alrededor de 20 °C. Seguidamente, entre los minutos 2 y 8, se observó una zona en donde el perfil de temperatura cambió bruscamente. En la zona más cercana a la superficie, ocurre primero una disminución de la temperatura y luego un aumento, el cual alcanza una meseta alrededor de los 60 °C. Por otro lado, en el centro de la pieza tiene lugar un aumento de la temperatura, el cual alcanza un máximo en forma de meseta alrededor de los 90 °C. Pérez-Nieto et al. (2010) informaron un perfil de temperatura similar para masa de pan de harina de trigo.

Al inicio del horneado (0 min) se observan en las piezas de masa control, fragmentos de materia grasa dispuestos en forma de agregados, aunque durante el proceso de

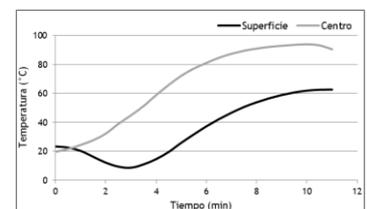


Figura 3.26 Perfil de temperatura durante el horneado de una pieza de masa laminada LG

elaboración fueron colocados como láminas (figura 3.27. a). En contraste con esto, la pieza de masa con goma xántica inició el horneado con una estructura en donde se distinguieron claramente las capas de masa y materia grasa (figura 3.27.b). Durante el primer minuto de horneado la dimensión fractal del control disminuyó lo cual se relacionó, mientras que en la masa con goma xántica aumentó, relacionándose con la presencia de elementos estructurales de conformación más tortuosa, como capas y alveolos alargados (figura 3.28). Esto puede deberse al efecto del aumento de la temperatura, la materia grasa contenida en las capas de masa y la dispuesta como laminas comienza a fundirse y se potencia en cada uno de los sistemas las características estructurales con las que iniciaron el horneado.

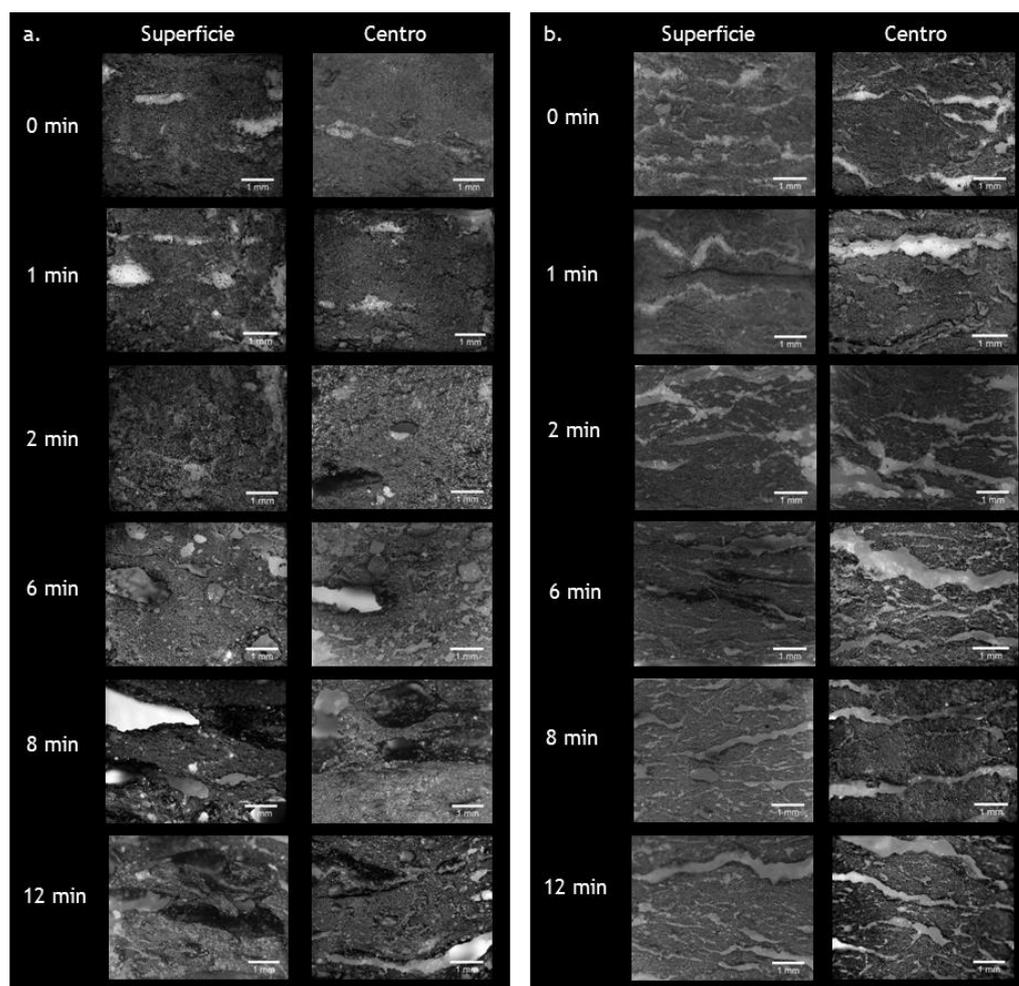


Figura 3.27 Fotografías de secciones transversales de piezas de masas laminadas LG a distintos tiempos de horneado. a. Masa control. b. Masa con 2,5 % de goma xántica.

Seguidamente entre los 20 y 80 °C ambas muestras experimentaron un aumento de la dimensión fractal, aunque la masa con goma xántica presentó valores mayores al control. Esto puede estar asociado a la gelatinización del almidón y el consecuente aumento de viscosidad lo que lleva a la transformación de la masa de una matriz de almidón y proteínas a un sistema panificado con alveolos o láminas. Además tiene lugar la fusión de la grasa y por lo tanto se generan espacios vacíos que denotan una mayor complejidad en la estructura ya sea por la formación de alveolos y/o capas, respectivamente. En la muestra control a los dos minutos, en la zona del centro de la pieza se registra una temperatura de alrededor de 35 °C y consecuentemente se observa como algunos de los espacios anteriormente ocupados por la materia grasa, se presentan vacíos; mientras que en la zona cercana a la superficie se registró una

menor temperatura (15 °C) y se observaron porciones de materia grasa que todavía no habían experimentado grandes modificaciones por el aumento de la temperatura. A los seis minutos de horneado, en el centro de la pieza se registró una temperatura de aproximadamente 75 °C y se observó cómo debido a la fundición de la materia grasa se presentan espacios vacíos correspondientes a los alveolos. En la zona cercana a la superficie, a pesar de registrarse una menor temperatura, también se observaron alveolos sin la presencia de materia grasa. En la muestra con goma xántica, al igual que en el control, debido al inicio de la fusión de la materia grasa se observan algunos espacios vacíos, pero que en este caso delimitan capas en lugar de alveolos. A los seis minutos de horneado en el centro la materia grasa se fundió por completo. Mientras que en la zona cercana a la superficie, a diferencia del control, aún se observa grasa en fundición. Entre los 80 y 90 °C la estructura del control presentó un incremento más marcado en la complejización de su estructura, mientras que el sistema con goma xántica experimentó una suavización de la textura de su estructura interna.

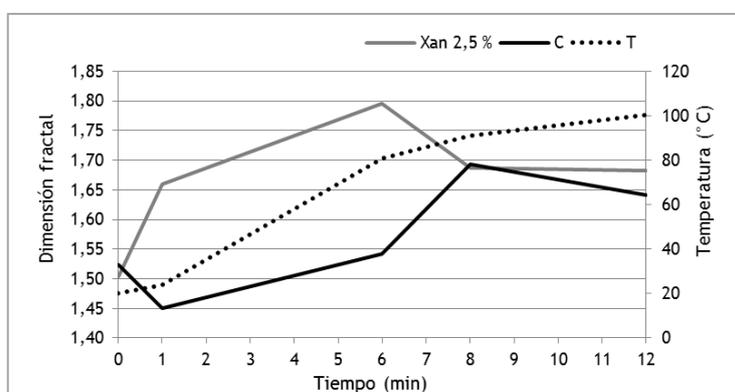


Figura 3.28 Dimensión fractal de piezas de masas laminadas LG durante el horneado. Xan: goma xántica, C: control.

En los últimos cuatro minutos de horneado con una diferencia de solo 5 °C entre el minuto 8 y el 12, el control continuó experimentando cambios asociados a una disminución de la dimensión fractal, mientras que en la muestra con goma xántica los valores del parámetro textural permanecieron prácticamente constantes. Esto provocó que finalmente el control presentara una estructura horneada interna de textura más suave caracterizada en gran medida por la presencia de alveolos (figura 3.27.a). Por otro lado, el panificado con goma xántica llegó al final del horneado con una estructura de aspecto rugoso debido a la presencia de láminas (figura 3.27.b).

Esto permitió identificar tres zonas durante el horneado. Una primera zona entre los 0 y 20 °C, en donde tienen inicio los primeros cambios debido al aumento de temperatura. Aunque sin embargo, la temperatura en el interior del horno no ha alcanzado su valor máximo debido a su disminución durante el ingreso de las piezas. Entre los 20 y 90 °C se identificó una zona en donde tienen lugar los cambios significativos que afectan la conformación estructural del producto final. Y una tercera zona entre los 90 y 100 °C en donde si bien continúan teniendo lugar algunos cambios, como se observó en el control, en relación a la zona anterior los cambios son menos drásticos, como ocurrió con ambas muestras. Sin embargo, esta etapa no deja de ser importante, ya que por ejemplo en una pieza como la del control los cambios que transcurrieron fueron tales que al finalizar el horneado su estructura fue diferente a la del producto con goma xántica.

La incorporación de goma xántica permitió la formación de una masa rígida y viscosa que después del descanso refrigerado se presentó más elástica. Durante los procesos

de hojaldrado y laminado que siguieron al reposo refrigerado, la masa se extendió y a la vez se ejerció presión sobre la misma. Sin embargo, la mayor viscosidad de la muestra con goma xántica impidió el colapso de las capas de masa y consecuentemente de las láminas de grasa. Por otro lado, la mayor capacidad elástica de la masa con el hidrocoloide le permitió a la pieza recuperar en mayor medida su conformación durante los periodos de descanso. La goma xántica disminuyó la movilidad de las poblaciones de agua y estructuró el sistema. De esta forma al inicio del horneado, la pieza con el hidrocoloide presentó una estructura laminada, mientras que en el control levemente se distinguieron las capas de materia grasa o masa.

Durante el calentamiento la pieza de masa con goma xántica conservó la integridad de su estructura laminada, debido probablemente a la gran viscosidad otorgada por la estructura tipo gel del hidrocoloide en las capas de masa; la cual impidió que al fundirse la materia grasa se unificaran los estratos. Por otro lado, la goma xántica retrasó la gelatinización del almidón y provocó una redistribución del agua entre los componentes del sistema, de manera tal que posibilitó que una mayor cantidad de agua se evaporara más fácilmente. Esto permitió la obtención de un producto de estructura laminada, con una gran resistencia a la deformación y de mayor altura y volumen que el control.

3.2.3 Incorporación de hidroxipropilmetil celulosa

Efecto de la hidroxipropilmetil celulosa en la calidad tecnológica de los panificados

Con el objetivo de estudiar el efecto de la incorporación de hidroxipropilmetil celulosa (HPMC) en la calidad tecnológica de panificados laminados salados LG, se elaboraron los productos (figura 3.29) y se evaluaron los parámetros de calidad anteriormente descritos. La muestra sin aditivos se presentó como un producto escasamente estratificado, con una vista lateral caracterizada por la presencia de pocas láminas y gruesas. Por otro lado, la vista lateral de las muestras con ambas dosis de HPMC evidenció la formación de estructuras laminadas, con un mayor número de capas en la muestra con 5 % de HPMC. La vista superior reveló que la incorporación de HPMC no provocó cambios en la forma inicialmente otorgada, ya que tanto en el control como en las muestras con ambas dosis del aditivo no se observan deformaciones como resultado de un crecimiento excesivo en dirección lateral.

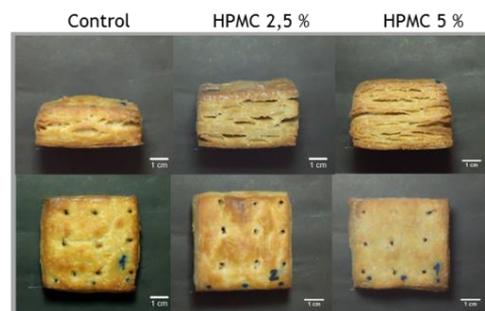


Figura 3.29 Panificados laminados de harinas LG sin aditivos (control) y con HPMC

No se observaron diferencias significativas en los valores de altura iniciales de las piezas (figura 3.30). Sin embargo, la tendencia mostró que la máxima concentración de HPMC utilizada permitió obtener una pieza de masa con mejores propiedades

elásticas que el control y por lo tanto fue más alta al final del proceso de laminado. No se encontraron diferencias significativas en la relación de altura con el agregado de HPMC. Sin embargo, según la tendencia observada la muestra con 2,5 % de HPMC fue la que más creció, seguida del control y el producto con 5 % de HPMC. Al finalizar el horneado los productos con el hidrocoloide fueron más altos que el control. Esto indica, que si bien las diferencias encontradas en los valores de altura inicial y crecimiento durante el proceso de producción no fueron significativas, estas ejercieron cierto efecto y permitieron obtener un producto de dimensiones diferentes al control.

No se observaron diferencias significativas en los valores de relación de ancho entre las muestras con el hidrocoloide y el control (tabla 3.12). Es decir que la presencia de HPMC en la formulación no provocó cambios en la expansión lateral de los productos. La muestra con 5 % de HPMC presentó el mayor valor del factor de forma, seguida del control y la muestra con la menor dosis del aditivo (tabla 3.12). Esto indica que, cuando se agregó HPMC en una mayor dosis se logró obtener un producto horneado de mayor altura, y menor ancho y largo que el control.

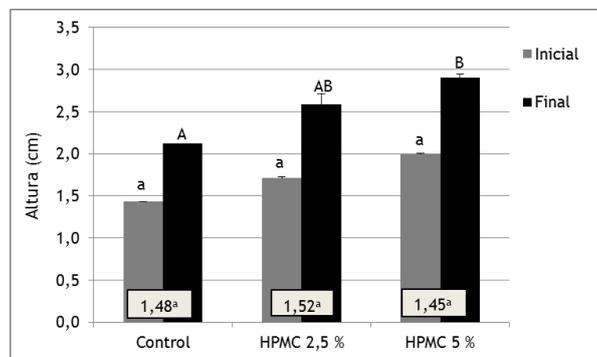


Figura 3.30 Altura y relación de altura de panificados laminados LG sin aditivos y con HPMC. En el recuadro : Relación de altura. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas en cada muestra ($p \leq 0,05$).

El producto con 5 % de HPMC presentó el mayor volumen específico, seguido de la muestra con 2,5 % del hidrocoloide y el control (tabla 3.13). En cuanto a las características de color de la corteza (tabla 3.13), no se observaron diferencias significativas para los parámetros L^* , a^* y b^* entre las tres muestras. Por lo que el agregado de HPMC no provocó cambios en la luminosidad de las cortezas, como tampoco en la intensidad del color rojo y amarillo. Al comparar los parámetros de color de estas muestras con los obtenidos para los productos elaborados con harina de trigo, se observaron menores valores de L^* y mayores valores de a^* . Esto revela el efecto de la harina de soja en la coloración de la corteza. La presencia de este ingrediente en la formulación oscurece la corteza e imparte una coloración verde. Además de un efecto provocado por un horneado a mayor temperatura y menor tiempo en el caso de los productos LG en relación a los de harina de trigo.

Los productos con HPMC presentaron valores de firmeza significativamente mayores al control (tabla 3.13). Esto indica que la estructura interna laminada se vio fortalecida con la incorporación del hidrocoloide en ambas dosis y por lo tanto ante la presión ejercida se manifestó como una estructura más firme.

Del mismo modo, las muestras con ambas dosis de HPMC presentaron mayores valores de masticabilidad que el control (tabla 3.13). Sensorialmente la masticabilidad es definida como la fuerza requerida para desintegrar un alimento sólido hasta que esté listo para ser deglutido (Civille y Szczesniak 1973). Se determina como el

Tabla 3.12 Relación de ancho (Ra) y factor de forma (FF) de panificados laminados LG. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Muestra	Ra	FF
Control	1,01 ^a	0,44 ^a
HPMC 2,5 %	0,98 ^a	0,42 ^{ab}
HPMC 5 %	0,98 ^a	0,60 ^b

producto entre la firmeza, la cohesividad y la elasticidad. Un aumento en la firmeza y masticabilidad no es deseable en la miga de productos como el pan. Por lo que en este tipo de panificados, en donde la obtención de una estructura laminada está relacionada con una masa más viscosa que una vez horneada presenta un mayor valor de la firmeza, es necesario encontrar un balance óptimo entre las características reológicas de la masa y las texturales del producto final.

Tabla 3.13 Parámetros de calidad tecnológica de panificados laminados LG

Muestra	VE (cm ³)	L*	a*	b*	Firmeza (N)	Masticabilidad
Control	(64±4) ^a	(56±1) ^a	(12±1) ^a	(31,4±0,1) ^b	(62±4) ^a	(63±3) ^a
HPMC 2,5 %	(69±2) ^a	(57±3) ^a	(12,2±0,5) ^a	(32±1) ^a	(93±8) ^b	(90±9) ^b
HPMC 5 %	(79±1) ^b	(57±3) ^a	(11±1) ^a	(30,7±0,4) ^a	(101,7±0,5) ^b	(99±2) ^b

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

El efecto de la incorporación de HPMC en panificados laminados salados LG sobre la conformación de la estructura interna de los productos se evaluó mediante un análisis textural de imágenes. A partir de este ensayo se obtuvieron parámetros (tabla 3.14) que permiten caracterizar la estructura interna en términos de textura. El control presentó una estructura interna de tipo alveolada sin láminas en su interior (figura 3.31). Con el agregado de 2,5 % de HPMC se observó la presencia de finas láminas a lo largo de toda la estructura interna del producto. Cuando se aumentó la cantidad de HPMC en la formulación, el producto continuó presentando una estructura interna laminada, aunque en este caso las capas tuvieron un mayor espesor.

No se observaron diferencias significativas en los valores de homogeneidad de las muestras con el agregado de HPMC. Esto indica que tanto los alveolos como las capas se presentaron distribuidos uniformemente en las muestras analizadas. Las imágenes de la estructura interna del control presentaron un mayor valor para el contraste que las muestras con HPMC. El menor valor de contraste de las muestras con HPMC se asocia con una mayor cantidad de espacios de conformación alargada que provocan una menor variación de la escala de grises entre los píxeles de la región de análisis. No se encontraron diferencias significativas entre los valores de entropía de las muestras. Es decir que si bien los productos con HPMC presentan una conformación interna diferente al control, esto no genera diferencias en la aleatoriedad de la distribución de la intensidad de la imagen. La muestra HPMC 5 % presentó el mayor valor de dimensión fractal, seguida de HPMC 2,5 % y el control. Por lo tanto, la mayor tortuosidad de la estructura interna de los panificados con HPMC puede asociarse con la presencia de láminas y espacios vacíos de conformación alargada, mientras que el control se caracterizó por una superficie suave y una estructura más simple; relacionada a la formación de alveolos en la miga (figura 3.32).

La incorporación de HPMC permitió obtener una pieza de masa laminada que generó un producto horneado de estructura interna rugosa y compleja debido a la presencia de capas en lugar de alveolos. Las piezas de masa laminadas que contenían HPMC finalizaron el proceso de laminado y hojaldrado con alturas levemente mayores al control y si bien la masa con la menor dosis del aditivo fue la que más creció durante el proceso de producción, los productos con ambas concentraciones de HPMC resultaron más altos que el control al finalizar el horneado. Es necesario encontrar un equilibrio entre las propiedades reológicas que permiten obtener masas que resisten el laminado en mejor medida y las propiedades texturales, como la firmeza y masticabilidad, del producto final. Con un 2,5 % de HPMC se logró obtener una pieza de masa laminada de mayor altura inicial, la cual creció durante el horneado. El

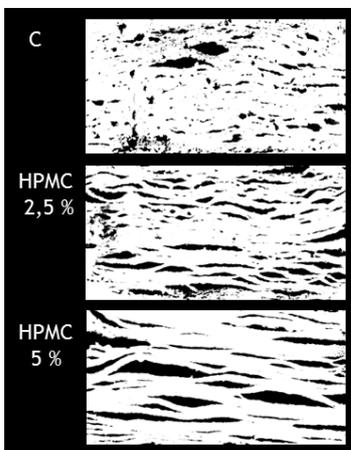


Figura 3.31 Imágenes binarizadas de la estructura interna de panificados laminados LG con y sin HPMC

producto obtenido fue de mayor altura, con una estructura interna laminada y de buenas características texturales y de menor firmeza y masticabilidad que la muestra HPMC 5 %. Es decir, que la utilización de una menor dosis de HPMC permitió obtener un producto laminado LG de buenas características tecnológicas.

Tabla 3.14 Parámetros del análisis textural de imágenes de cortes transversales de los panificados laminados LG

Muestra	Homogeneidad	Contraste	Entropía	DF
Control	0,24 ^a	90,42 ^b	7,06 ^a	1,44 ^a
HPMC 2,5 %	0,27 ^a	56,95 ^a	6,99 ^a	1,58 ^b
HPMC 5 %	0,22 ^a	52,12 ^a	7,01 ^a	1,64 ^b

DF: dimensión fractal. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Evaluación de las interacciones en el sistema masa

Comportamiento reológico

La respuesta, en términos de deformación, de las masas evaluadas durante el ensayo de deformación-relajación se observa en la figura 3.33. Las tres muestras analizadas presentaron curvas correspondientes a un comportamiento viscoelástico típico. Sivaramakrishnan et al. (2004) obtuvieron curvas con perfiles similares en masas de harina de arroz de grano largo y corto que contenían HPMC. Cuando las muestras se sometieron a un esfuerzo se caracterizaron en primer lugar por una deformación instantánea y seguidamente por una deformación exponencial, la cual derivó en una respuesta lineal relacionada al flujo viscoso del sistema. Al retirar el esfuerzo aplicado, las masas presentaron una respuesta elástica instantánea y luego retardada, la cual concluyó en una deformación no recuperable del sistema.

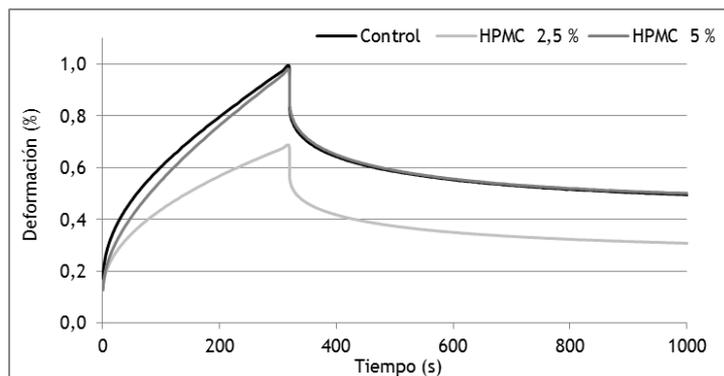


Figura 3.33 Deformación de masas LG sin aditivos y con HPMC en función del tiempo antes del descanso refrigerado.

Durante la etapa de deformación, la incorporación de HPMC provocó una disminución de la pendiente de la curva, en donde la menor dosis del hidrocoloide provocó un efecto más marcado. Esto se asocia con un efecto del HPMC sobre la fluidez del sistema, la cual se vio disminuida y por lo tanto promovió la formación de un sistema con un mayor comportamiento de sólido viscoelástico, en relación al control. Las muestras con ambas dosis de HPMC presentaron valores de capacitancia instantánea y viscoelástica menores que el control (tabla 3.15). Esto se asoció con una menor

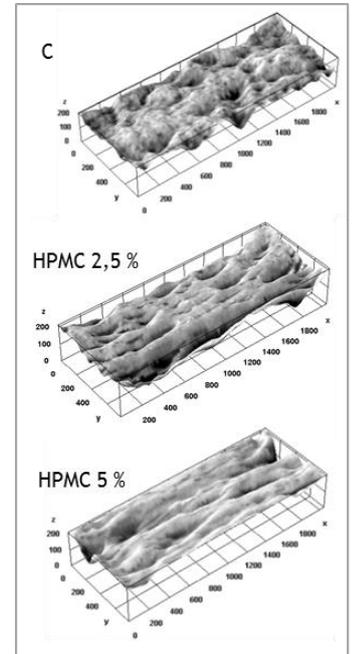


Figura 3.32 Gráficos de superficie de la estructura interna de panificados laminados LG con y sin HPMC

capacidad de deformación de las masas con hidrocoloide y por lo tanto una rigidización del sistema. La masa con 5 % de HPMC presentó un menor valor del tiempo de relajación de la componente Kelvin en comparación con la muestra HPMC 2,5 % y el control. Por lo que la masa con la mayor concentración de HPMC requirió menos tiempo para alcanzar su máxima deformación, mientras que en las masas con una menor concentración o ausencia del aditivo es necesario más tiempo para lograr la máxima deformación del sistema. Con ambas dosis de HPMC se observó un aumento de la viscosidad de las masas y una disminución de la capacitancia máxima, aunque solo con la menor concentración estos cambios resultaron significativos en relación al control. Esto indica que en general la incorporación de HPMC permite obtener masas más viscosas y con mayor resistencia a la deformación. Sin embargo, la acción del hidrocoloide resulta dependiente de su concentración y a dosis altas del aditivo se observa una pérdida del efecto. Del mismo modo, Sivaramakrishnan et al. (2004) observaron una disminución de la viscosidad con el agregado de una mayor concentración de HPMC (4,5 %) en relación a menores cantidades del hidrocoloide (1,5 y 1 %).

Tabla 3.15 Parámetros del ensayo de relajación-deformación de masas LG con y sin HPMC antes y después del descanso refrigerado.

		Etapa de deformación				
Muestra		J_0 (1/Pa)x10 ⁶	J_1 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	λ_{ret} (s)	η_0 (Pa s) x 10 ⁷	J_{max} (1/Pa) x 10 ⁻⁵
Antes DR	Control	9,8 ^b	10,6 ^b	19,4 ^b	1,1 ^a	4,9 ^b
	HPMC 2,5%	7,0 ^a	8,2 ^{ab}	20,2 ^b	1,6 ^b	3,5 ^a
	HPMC 5%	6,5 ^a	8,6 ^a	18,4 ^a	1,2 ^a	4,4 ^b
Después DR	Control	6,1 ^{ab}	6,6 ^a	20,8 ^a	2,5 ^b	2,5 ^a
	HPMC 2,5%	7,0 ^b	8,3 ^b	20,0 ^a	1,7 ^a	3,3 ^b
	HPMC 5%	4,7 ^a	7,0 ^{ab}	20,5 ^a	2,1 ^{ab}	2,6 ^{ab}

		Etapa de relajación			
Muestra		J_0 (1/Pa)x10 ⁶	J_1 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	λ_{rec} (s)	Je_0 (1/Pa) x 10 ⁻⁵
Antes DR	Control	13,4 ^b	15,4 ^b	183,8 ^b	2,8 ^c
	HPMC 2,5%	9,1 ^a	9,7 ^a	162,5 ^a	1,9 ^a
	HPMC 5%	9,5 ^a	12,2 ^b	155,8 ^a	2,2 ^b
Después DR	Control	7,8 ^a	7,4 ^a	192,9 ^b	1,5 ^a
	HPMC 2,5%	9,3 ^a	9,6 ^b	172,2 ^a	1,9 ^a
	HPMC 5%	6,8 ^a	8,42 ^{ab}	174,4 ^a	1,5 ^a

DR: descanso refrigerado, J_0 : capacitancia instantánea, J_1 : capacitancia viscoelástica, λ_{ret} : tiempo de retraso de la componente Kelvin, η_0 : viscosidad newtoniana, J_{max} : capacitancia máxima de deformación, λ_{rel} : tiempo de recuperación de la componente Kelvin, Je_0 : capacitancia del estado de equilibrio. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Una vez retirado el esfuerzo, durante la etapa de relajación se observó que las masas con HPMC presentaron menores valores de capacitancia instantánea, viscoelástica y capacitancia del estado de equilibrio, en relación al control (tabla 3.15). Una mayor elasticidad implica una menor capacidad del sistema para deformarse, asociada a menores valores de capacitancia, y por lo tanto recuperar su conformación original. Los mayores valores para el tiempo de recuperación de las masas con ambas dosis de HPMC en relación al control, indican que las muestras con el hidrocoloide necesitaron menos tiempo que el control para alcanzar el estado de equilibrio. El grado de recuperación de un sistema viscoelástico con uniones físicas y químicas parciales que

sufran una deformación, depende de la porción elástica del material. Si bien las masas con HPMC presentaron menores valores de capacitancia en relación al control, asociados a una menor capacidad para deformarse, no se encontraron diferencias significativas en la porción relativa elástica de la capacitancia máxima (figura 3.33). Esto indica que una vez retirado el esfuerzo aplicado, el peso de la componente elástica del control fue tal que le permitió recuperarse en la misma proporción (J_e/J_{max}) que las masas con ambas dosis de HPMC.

Con el objetivo de evaluar el efecto de la etapa de descanso refrigerado a la que es sometida la masa durante la elaboración del panificado laminado LG, se realizaron ensayos de deformación-relajación sobre masas con HPMC luego del descanso refrigerado (figura 3.35). Durante la etapa de deformación, en las masas con HPMC después del descanso refrigerado se observó un aumento de la pendiente de la sección recta de la curva en relación al control, lo cual puede asociarse con un aumento de la fluidez del sistema y un comportamiento de líquido viscoelástico. No se observaron diferencias significativas en los valores de capacitancia instantánea entre la masa y las muestras con HPMC, aunque si hubo una diferencia significativa entre las dos concentraciones (tabla 3.15). La muestra HPMC 2,5 % presentó mayores valores de capacitancia viscoelástica y capacitancia máxima en relación al control. Esto indica que la presencia de 2,5 % de HPMC generó en el sistema una mayor capacidad de deformación. Por otro lado, la masa con 2,5 % del aditivo resultó menos viscosa que el control. Con el agregado de una mayor cantidad de HPMC, se obtuvieron valores levemente mayores de capacitancia viscoelástica y capacitancia máxima en relación al control, aunque esta tendencia no fue significativa. La presencia de una mayor dosis del hidrocoloide otorga cierta rigidez al sistema, aunque la viscosidad disminuye levemente y de manera no significativa, en relación al control. No se observaron diferencias en los tiempos de relajación de la componente Kelvin de las masas sometidas al descanso refrigerado.

A pesar del efecto diferente que impartieron las distintas concentraciones de HPMC, ambas masas se pudieron laminar y hojaldrar en mejor forma que el control y se obtuvieron productos de buenas características tecnológicas.

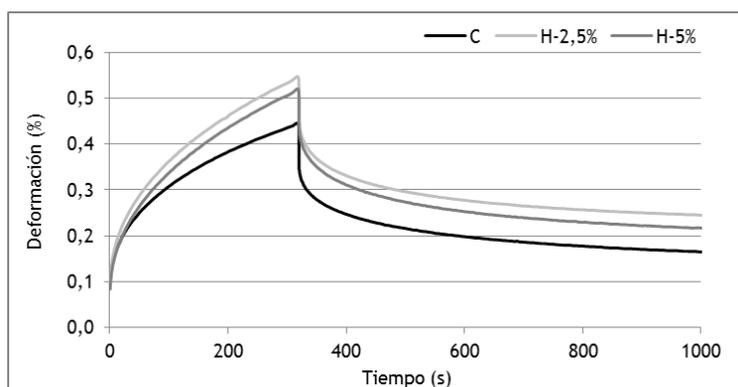


Figura 3.35 Deformación de masas LG sin aditivos y con HPMC en función del tiempo después del descanso refrigerado

Una vez retirado el esfuerzo, la muestra HPMC 2,5 % presentó valores de capacitancia instantánea y viscoelástica menores al control, es decir que el sistema resultó menos resistente a la deformación y con menor capacidad elástica para recuperarse. De modo que HPMC 2,5 % presentó un valor levemente mayor de capacitancia en el equilibrio, aunque no significativo, en relación al control. La masa con 2,5 % de HPMC obtuvo un menor valor de tiempo de recuperación que el control, lo cual revela que la

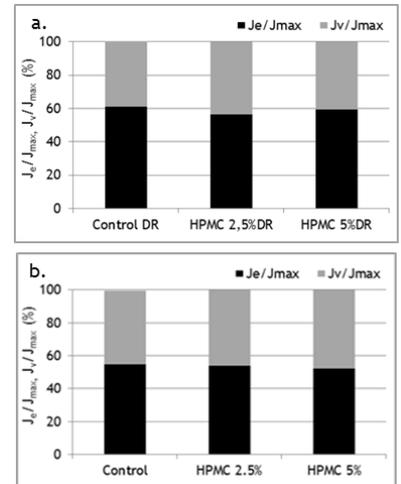


Figura 3.34 Porción relativa elástica (J_e/J_{max}) y viscosa (J_v/J_{max}) de la capacitancia máxima de masas LG sin aditivos y con HPMC. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. DR: descanso refrigerado.

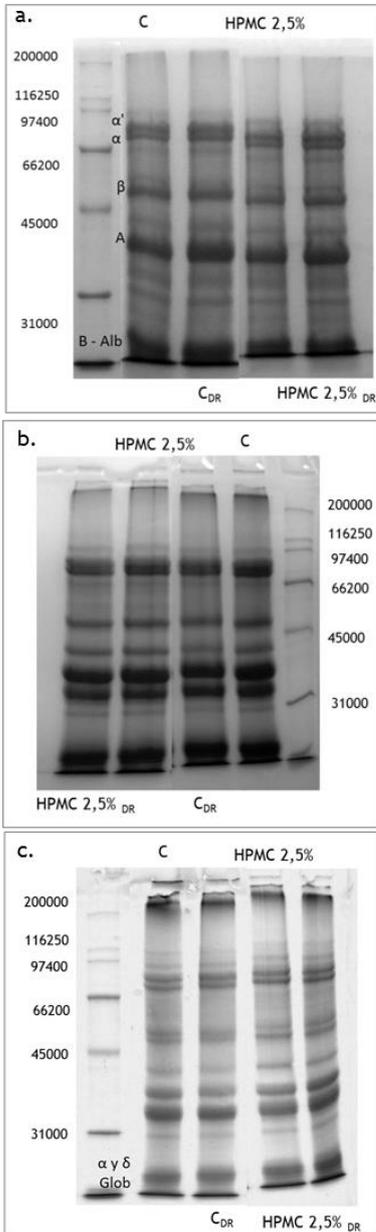


Figura 3.36 Perfil electroforético de las proteínas de las fracciones de la extracción secuencial de masas LG sin aditivos y con HPMC antes y después del descanso refrigerado. **a.** F1: fracción del sobrenadante en buffer fosfato. **b.** F2: fracción del sobrenadante en buffer fosfato+SDS. **c.** Precipitado. PM: marcador de peso molecular, C: control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

presencia de 2,5 % de HPMC le permite al sistema llegar al equilibrio en menos tiempo. Cuando se agregó una mayor concentración de HPMC se observó un aumento no significativo de la capacitancia instantánea y viscoelástica en comparación con el control. La incorporación de un 5 % de HPMC no provocó cambios en la viscosidad de la masa, aunque si se observaron menores tiempos de recuperación que el control. No se observaron diferencias significativas en las porciones elásticas y viscosas de la capacitancia máxima con el agregado de HPMC. Esto indica que el mayor efecto del HPMC sobre el comportamiento reológico de la masa tiene lugar durante la etapa de deformación.

Efecto de la incorporación de HPMC en la fracción proteica

Con el objetivo de estudiar el efecto de la incorporación de HPMC en la fracción proteica se realizó una extracción secuencial de masa con ambas dosis del aditivo y luego se determinó el contenido de cada una de las fracciones y el precipitado obtenidos. Se profundizó en el análisis de los perfiles proteicos por electroforesis y se determinaron las densidades relativas de las bandas de la muestra del control y las masas con 2,5 % del aditivo.

En la figura 3.36.a se observa el perfil electroforético de las proteínas extraídas de masas sin aditivos y con HPMC en buffer fosfato. En el perfil de la muestra control, mediante la determinación del peso molecular de cada banda, se identificaron bandas pertenecientes a las subunidades α' (~80.000), α (~75.000) y β (~50.000) de la β -conglucina (7S) de la soja (Yamauchi et al. 1991); y a los polipeptidos A (entre 31.000 y 45.000 de masa molecular) y B (entre 21.000 y 25.000 de masa molecular) de la glicina (11S) (Staswick et al. 1984). También se observó un conjunto de bandas no resuelto entre 18.000 y 20.000 que puede asociarse con la fracción de albúminas de la harina de arroz. El resto de las proteínas que no pudieron ser solubilizadas durante la extracción permanecieron en el precipitado. De manera tal que en la figura 3.36.c en el carril de la muestra control se identificaron bandas de masa molecular cercana a 15.000 y 25.000 que pueden corresponder a las subunidades peptídicas α y δ de las globulinas presentes en gran proporción en la harina de arroz.

La muestra con un 2,5 % de HPMC antes del descanso refrigerado presentó un aumento del contenido de proteínas de la fracción F1, en relación al control (figura 3.37.a). Sin embargo, con una mayor cantidad de HPMC en la masa el contenido de proteínas de la F1 disminuyó significativamente hasta por debajo del control. En la F1 la muestra con 2,5 % de HPMC presentó bandas de menor intensidad entre los 55.000 y 20.000 (figura 3.36.a). A su vez, por densitometría se observó una disminución de la densidad relativa de las subunidades de masa molecular entre 55.000 y 29.000; mientras que hubo un aumento de las subunidades proteicas de masa molecular entre 28.000 y 10.000 (figura 3.38.a). La solubilidad de las subunidades de mayor masa molecular no se modificó con la presencia de HPMC. Esto revela que la incorporación de 2,5 % de HPMC promovió la formación de agregados de baja masa molecular que se solubilizaron en buffer fosfato.

En cuanto a las proteínas solubles en buffer fosfato y SDS, se observó que con el agregado de 2,5 % de HPMC un grupo de proteínas disminuyeron su solubilidad y por lo tanto permanecieron insolubles en el precipitado (figura 3.37.a). Frente a la presencia de una mayor dosis del hidrocoloide se observó un aumento significativo de la cantidad de proteínas que se solubilizaron en la F2 en relación a la muestra HPMC 2,5 %. Sin embargo, este aumento fue menor, aunque no de manera significativa, a la cantidad de proteínas de la F2 del control. Barcnas et al. (2009) observaron la misma tendencia en el contenido de proteínas de masas de harina de trigo con dosis crecientes de HPMC. El efecto observado cuando se incorporó una mayor cantidad de

HPMC puede explicarse, al igual que en el caso de la goma xántica, teniendo en cuenta la competencia por el agua entre el hidrocoloide y los demás componentes de la masa. Los grupos hidroxilo presentes en la estructura del hidrocoloide interactúan con las moléculas de agua a través de enlaces puente hidrogeno (Rosell et al. 2001). Esto posiblemente provoca que la cantidad de agua disponible para interactuar con las proteínas sea menor y por lo tanto la proporción de interacciones proteína-agua disminuye. Por otro lado, la presencia de moléculas de HPMC hidratadas en la matriz de la masa puede estar impidiendo la interacción entre un grupo de proteínas y por lo tanto se reordenan formando agregados de menor masa molecular. En la muestra HPMC 2,5 % se observó un aumento de la densidad relativa de las subunidades de masa molecular entre 28.000 y 10.000 en relación al control (figura 3.38.b).

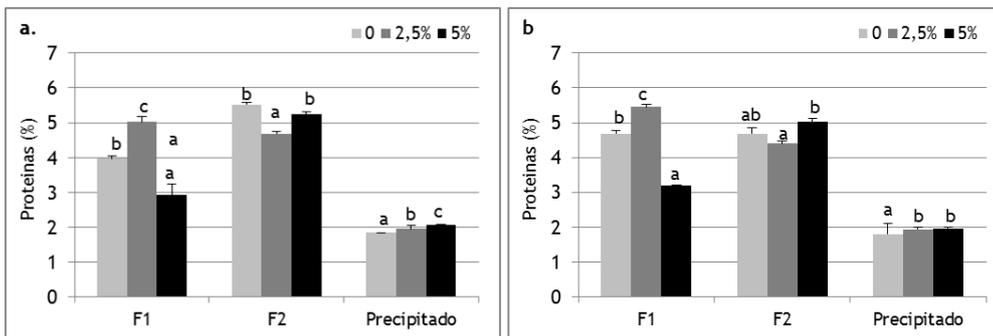


Figura 3.37 Contenido de proteínas de las fracciones de la extracción secuencial de masas LG sin aditivos y con HPMC. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. F1: fracción del sobrenadante en buffer fosfato, F2: fracción del sobrenadante en buffer fosfato+SDS.

Con el aumento de la concentración de HPMC presente en la formulación se observó un leve aumento significativo en la cantidad de proteínas que permanecieron insolubles en el precipitado, en relación al control (figura 3.37.a). Con la presencia de un 2,5 % del hidrocoloide se observó, por densitometría, un aumento de todas las subunidades proteicas del precipitado (figura 3.38.c).

Después del descanso refrigerado la muestra control presentó un aumento significativo de la cantidad de proteínas que se solubilizaron en buffer sin SDS y un aumento en la F2, mientras que no hubo un cambio en la cantidad de proteínas que permanecieron insolubles en el precipitado. El efecto del agregado de HPMC en las proteínas de la fracción F1 de masas sometidas al descanso refrigerado presentó la misma tendencia que en las masas sin tratamiento. Con la incorporación de una menor dosis del hidrocoloide se observó un aumento de las proteínas que se solubilizaron en buffer fosfato. Sin embargo, este efecto se invirtió con el aumento de la cantidad de aditivo en la formulación. En cuanto a las proteínas que se solubilizaron en buffer fosfato y SDS el agregado de ambas concentraciones no provocó cambios significativos en relación al control. Del mismo modo que en las masas sin descanso refrigerado, las muestras con ambas dosis de HPMC que se sometieron al tratamiento presentaron un leve y significativo aumento de las proteínas que permanecieron insolubles en el precipitado, en relación al control.

Las masas con ambas dosis de HPMC sometidas al descanso refrigerado no presentaron contenidos de proteínas significativamente diferentes a las muestras sin el tratamiento para ninguna de las fracciones y el precipitado. Esto revela que, al igual que en los sistemas con goma xántica, el HPMC amortigua en cierta medida el efecto del descanso refrigerado en la cantidad de proteínas de cada fracción y permite obtener contenidos similares antes y después del mismo.

Al comparar las densidades relativas de las bandas correspondientes a las proteínas de cada muestra antes y después del descanso refrigerado se observa como en la F1 del control hay una disminución de todas las subunidades proteicas luego del tratamiento. Mientras que en la muestra con un 2,5 % de HPMC no hubo cambios con el descanso refrigerado. En la F2 del control se observó una disminución de los subunidades de masa molecular entre 200.000 y 55.000 y un aumento de los de masa molecular entre 55.000 y 10.000. En la muestra HPMC 2,5 % no se observaron modificaciones en la densidad relativa de las subunidades luego del tratamiento. En cuanto a las proteínas que permanecieron en el precipitado, en el control se observó un aumento de las subunidades de masa molecular entre 55.000 y 28.000 y entre 28.000 y 10.000. Mientras que en la masa con 2,5 % del hidrocoloide la densidad relativa de todas las subunidades proteicas disminuyó luego del descanso refrigerado. Esto revela que el descanso refrigerado tuvo un efecto en la proporción de subunidades proteicas de cada fracción.

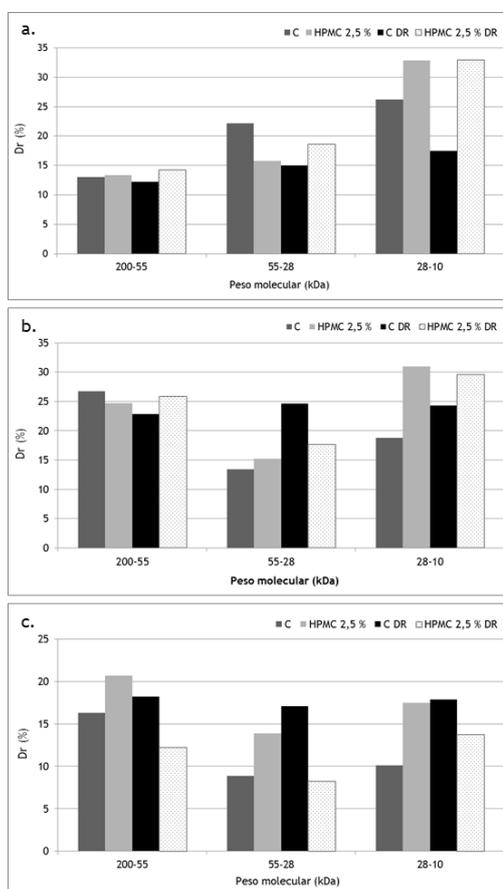


Figura 3.38 Densidad relativa (Dr) de las bandas proteicas de masas LG sin aditivos y con HPMC. **a.** F1 (sobrenadante en buffer fosfato). **b.** F2 (sobrenadante en buffer fosfato+SDS). **c.** Precipitado. C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

Movilidad del agua presente en el sistema

La señal de decaimiento obtenida para las masas con HPMC presentó una distribución compuesta de varias funciones (figura 3.39). Esto revela la presencia de un sistema heterogéneo con componentes que pueden ser asociados a diferentes regiones de movilidad. La deconvolución de la distribución de los tiempos de relajación T₂ permitió obtener la cantidad de poblaciones de agua con sus respectivos tiempos de relajación e intensidad (figura 3.40).

En las masas con ambas concentraciones de HPMC los tiempos de relajación T₂ se distribuyeron en cinco poblaciones (figura 3.40.a). La población A₄ no se correspondió con alguna de las poblaciones presentes en la muestra control, por lo que se la puede asociar con el agua unida a la HPMC incorporada. En la muestra HPMC 2,5 % la población A₄ presentó un T₂ menor a 20 ms por lo que puede considerarse como una población de baja movilidad. Cuando se agregó un 5 % de HPMC el T₂ fue mayor a 20 ms y se observó un leve aumento en la intensidad de la población. Esto puede estar asociado a un efecto de concentración del aditivo, al haber una mayor cantidad de HPMC hay más moléculas de agua unidas a su estructura y entonces el aumento de la movilidad se debe a un aumento en la cantidad de moléculas que presentan movilidad ante un estímulo.

Cuando se incorporaron ambas dosis de HPMC se observó una disminución de la intensidad de dos de las poblaciones con menor movilidad A₁ y A₃. Mientras que A₂ también de poca movilidad, vio aumentada su intensidad relativa conforme crecieron las cantidades de hidrocoloide y agua adicionadas. La población más móvil que presentaron las muestras, A₅, experimentó un aumento de su intensidad relativa conforme creció la dosis de hidrocoloide. Esto revela que la presencia de HPMC en la masa provocó una reorganización de las moléculas de agua entre los componentes de la masa, y por lo tanto algunos componentes se vieron más o menos hidratados o solvatados luego de la adición del hidrocoloide. Por otro lado, la incorporación de ambas dosis de HPMC provocó una disminución de los tiempos de relajación T₂ en relación al control (figura 3.39.a). Es decir que la presencia del hidrocoloide promovió una disminución en la movilidad de las poblaciones y estructuración del sistema.

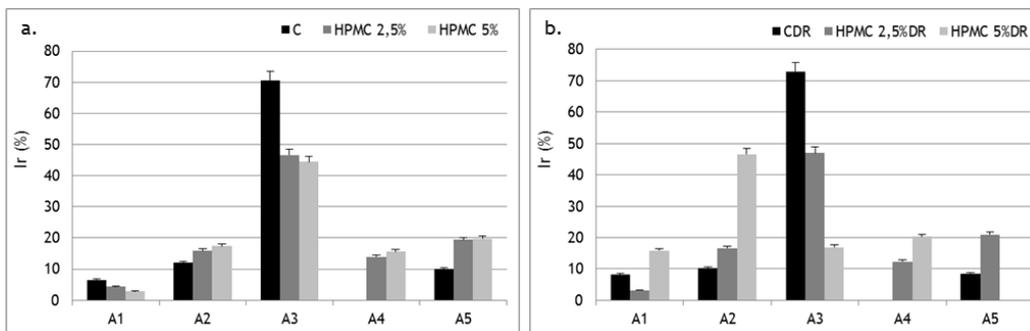


Figura 3.40 Intensidad relativa de las poblaciones de agua en masas LG sin aditivos y con HPMC. **a.** Antes del descanso refrigerado **b.** Después del descanso refrigerado. Ir: Intensidad relativa, A: población, C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

Las muestras sometidas a descanso refrigerado presentaron una distribución de los tiempos T₂ en cinco poblaciones en el caso de HPMC 2,5 % y de cuatro poblaciones para HPMC 5 % (figura 3.40.b). Al igual que las masas sin el tratamiento, la población A₄ presente en las muestras con hidrocoloide no se correspondió con alguna de las poblaciones presentes en el control, por lo que se la puede asociar con el agua unida a la HPMC. La desaparición de la población más móvil, A₅, en la muestra con 5 % de HPMC se condice con un gran aumento en la intensidad de A₂ y una disminución de A₃, ambas de menor movilidad. Esto puede relacionarse con que una mayor cantidad de HPMC interfiere en las interacciones entre el agua y el componente de la masa asociado a A₅; y por otro lado, posibilita otras interacciones entre el agua y otros componentes.

También se observó una disminución de los tiempos T₂, por lo que las poblaciones de agua en masas refrigeradas con hidrocoloide se presentaron más estructuradas en relación al control. Por otro lado, el comportamiento reológico de la estructura

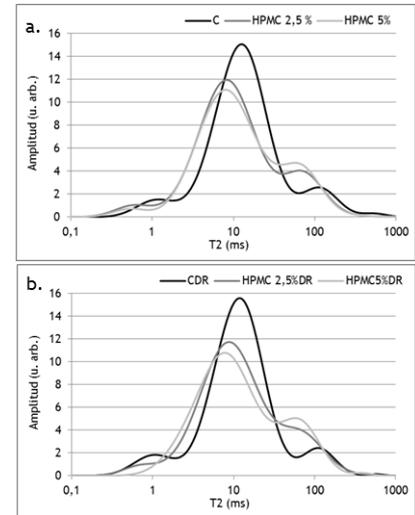


Figura 3.39 Distribución de los tiempos de relajación en masas LG sin aditivos y con HPMC. **a.** Antes del descanso refrigerado **b.** Después del descanso refrigerado. T₂: tiempo de relajación T₂, C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

después del descanso refrigerado presentó una mayor fluidez. De igual manera, Correa et al. (2014, 2010) observaron cierta incoherencia en el comportamiento de masa de harina de trigo con HPMC. La presencia del hidrocoloide provocó un aumento en la movilidad del sistema; mientras que, mediante técnicas microscópicas y reológicas, se observó una red de estructura más abierta y filamentosa con un comportamiento viscoso.

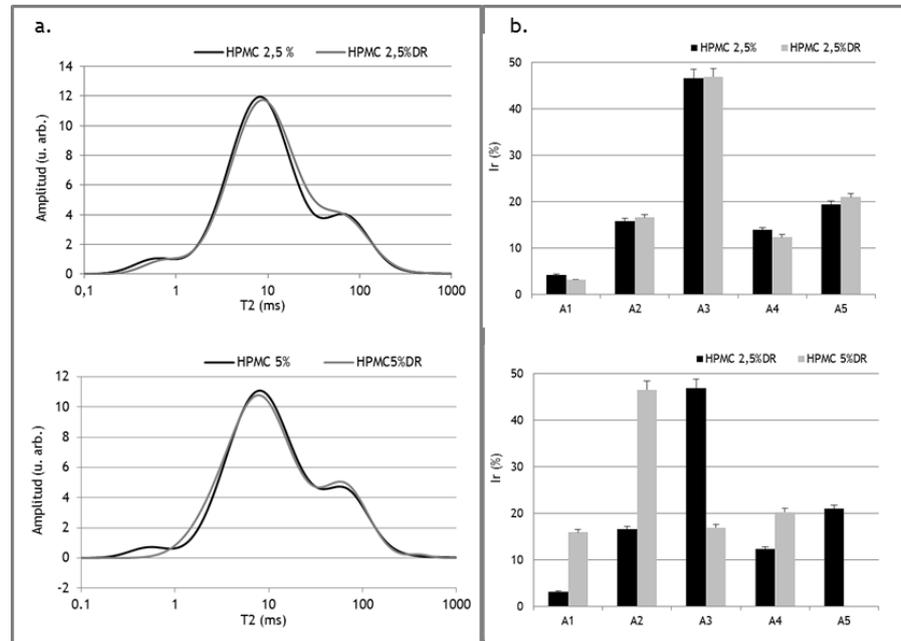


Figura 3.41 Efecto del descanso refrigerado en la movilidad del agua de masas LG sin aditivos y con HPMC. **a.** Distribución de los tiempos de relajación **b.** Intensidad relativa de las poblaciones de agua. T₂: tiempo de relajación T₂, Ir: Intensidad relativa, A: población, C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

En relación al efecto del descanso refrigerado sobre la movilidad del agua, no se observaron cambios en los tiempos de relajación T₂ de las masas con ambas dosis de HPMC (figura 3.41.a). Esto indica que el descanso refrigerado no tuvo un efecto en la movilidad del agua de las masas cuando se las comparó con la misma muestra antes del tratamiento. Al igual que en las masas con 2,5 % de goma xántica, lo observado a nivel de movilidad molecular no reflejó el efecto del descanso refrigerado a nivel supramolecular. Debido a que el descanso refrigerado en las muestras con HPMC no provocó cambios en la movilidad molecular y por lo tanto en la estructuración de las poblaciones de agua del sistema. Sin embargo, a nivel supramolecular las masas luego del descanso refrigerado se presentaron más fluidas y con un mayor carácter de líquido viscoelástico.

El descanso refrigerado no provocó cambios en la cantidad e intensidad de las poblaciones de las muestras con 2,5 % de HPMC (figura 3.41.b). En la muestra con 5 % de HPMC se observaron una población menos luego que la masa fue sometida al descanso refrigerado y cambios en las intensidades de las poblaciones. Esto revela que el descanso refrigerado también produce una reorganización de las moléculas de agua entre los distintos componentes en el sistema con una mayor concentración de HPMC.

Efecto del aumento de temperatura en la estructura de la masa

Comportamiento reológico durante el calentamiento

Las masas presentaron un módulo elástico mayor al viscoso durante todo el barrido de temperatura, lo cual permite asociar a las muestras con sistemas de propiedades viscoelásticas (figura 3.42). Los módulos G' de las muestras con HPMC fueron mayores al control durante el barrido de temperatura. Sin embargo, a temperaturas superiores a 80 °C no hubo diferencias en el comportamiento del G' del control y la muestra con la menor dosis del hidrocoloide. Mientras que la masa con 5 % por encima de los 60 °C presentó un módulo elástico menor al control. Esto revela que la incorporación de HPMC en ambas dosis promovió la formación de un sistema que al ser calentado presentó una estructura más compleja y entrelazada con mayor cantidad de puntos de contacto en comparación con el control. Sin embargo, las estructuras presentaron estas características hasta ciertas temperaturas por encima de las cuales su estructura experimentó cambios dependientes de la dosis de HPMC. Crockett et al. (2011) informaron un incremento en el G' en masas de harina de arroz y almidón de mandioca cuando incorporaron HPMC en 3, 4 y 5 %.

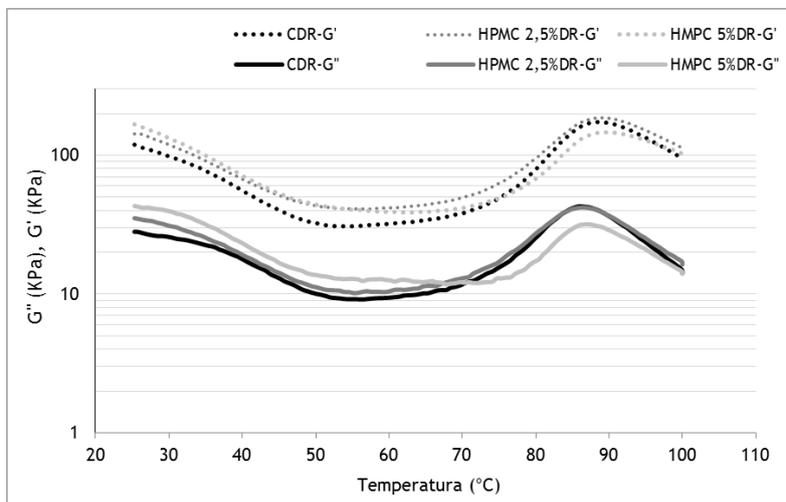


Figura 3.42 Barrido de temperatura de masas LG sin aditivos y con HPMC. G'' : módulo viscoso, G' : módulo elástico, C: muestra control.

En el intervalo de temperatura 25-50 °C el módulo G' de las tres muestras disminuyó. Seguidamente con el incremento de la temperatura se observó una región en donde G' permaneció relativamente constante. A partir de los 80 °C el módulo de elástico de las tres muestras aumentó y alcanzó un máximo. Al igual que en las muestras con goma xántica, la presencia del HPMC en el sistema provocó un aumento de la temperatura del máximo de la primera derivada de G' en relación al control (tabla 3.16), lo cual se asocia con retraso de la gelatinización. Por otro lado, en la masa con 5 % de HPMC se observó un menor valor del G' en relación a las otras muestras (tabla 3.16). La mayor cantidad de agua ligada al HPMC debido a un incremento en su dosis provocó una menor gelatinización del almidón.

En cuanto al efecto de la presencia de HPMC sobre la respuesta viscosa de la masa, la incorporación de un 2,5 % del hidrocoloide no provocó modificaciones significativas en el módulo G'' en relación al control durante el barrido de temperatura (figura 3.42). Mientras que cuando se agregó un 5 % de HPMC se observó un aumento significativo del G'' hasta aproximadamente los 70 °C. Esto puede estar relacionado a que durante el calentamiento la HPMC forma un gel termo reversible que se fortalece estructuralmente por encima de los 50 °C. Seguidamente el módulo G'' disminuyó por debajo del control, aunque al final del barrido no resultó significativamente diferente del control.

Al ponderar el peso de la componente viscosa sobre la elástica a través del cálculo de la $\tan \delta$ durante el barrido de temperatura se observó que, el agregado de 2,5 % de HPMC no provocó cambios significativos en la $\tan \delta$ de la masa durante el calentamiento, en relación al control (figura 3.43). Mientras que con una mayor dosis del aditivo se observaron algunas diferencias.

A bajas temperaturas, las moléculas de HPMC están hidratadas y existe poca interacción entre las cadenas de polímeros. A medida que se calienta el sistema, las moléculas pierden gradualmente parte del agua de hidratación y desciende la viscosidad. Cuando la temperatura del sistema alcanza la temperatura de formación de gel, la estructura del polímero se despliega debido a las interacciones con los diferentes polímeros. Cuando la temperatura disminuye por debajo del punto crítico, el gel se revierte y los polímeros vuelven a su estado original (Sarkar 1979). Haque y Morris (1993) estudiaron el comportamiento reológico de soluciones con un 2 % de HPMC mediante barridos de frecuencia y temperatura y contrastaron esos resultados con los encontrados en calorimetría diferencial de barrido. Estos autores observaron que el proceso de gelificación de la HPMC se caracterizaba reológicamente por presentar dos picos durante el barrido de temperatura. Un primer pico alrededor de los 50 °C, relacionado al desenrollamiento de las moléculas y la exposición al medio de los grupos metilo; lo cual causa un gran aumento de volumen de la molécula con el consiguiente aumento del G' del sistema. Y un segundo pico entre 65 y 75 °C.

Tabla 3.16 Parámetros del barrido de temperatura de masas LG con y sin HPMC después del descanso refrigerado

Parámetros		Control DR	HPMC 2,5 %DR	HPMC 5 %DR
G'	Max (KPa)	18,4 ^b	18,5 ^b	14,5 ^a
	T (°C)	88,6 ^a	89,5 ^a	89,8 ^a
d1, G'	Max (KPa)	15,5 ^b	15,1 ^{ab}	13,1 ^a
	T (°C)	82,6 ^a	84,5 ^a	85,1 ^a
$\tan \delta$	25 °C	0,24 ^a	0,25 ^b	0,26 ^c
	40 °C	0,31 ^{ab}	0,31 ^a	0,33 ^b
	60 °C	0,27 ^{ab}	0,27 ^a	0,32 ^b
	80 °C	0,30 ^b	0,30 ^b	0,26 ^a
	100 °C	0,15 ^{ab}	0,15 ^b	0,14 ^a
η^* (KPa.s)	25 °C	19,7 ^a	24,3 ^b	27,5 ^b
	40 °C	9,2 ^a	11,3 ^b	12,0 ^b
	60 °C	5,0 ^a	6,9 ^b	6,5 ^b
	80 °C	11,9 ^a	15,3 ^b	10,8 ^a
	100 °C	13,7 ^a	17,6 ^b	16,1 ^b

G' : módulo elástico, Max: valor máximo de G' , T: temperatura, d1 G' : primera derivada de G' , η^* : viscosidad compleja, DR: descanso refrigerado. Letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Ante la presencia de un 5 % del hidrocoloide se observó entre los 40 y 55 °C una disminución de la $\tan \delta$, al igual que en las otras dos muestras. Sin embargo, la masa con 5 % de HPMC presentó un máximo a los 60 °C que no se observó en el control y en la muestra HPMC 2,5 %. Seguidamente, entre los 60 y 80 °C la $\tan \delta$ disminuyó, lo cual indica un comportamiento de sólido viscoelástico y un fortalecimiento de la estructura. Este perfil observado en la muestra con 5 % de HPMC puede deberse a que se produjo la formación de un gel en la masa durante el calentamiento, mientras que en el sistema con una menor cantidad de hidrocoloide el proceso de gelificación fue incompleto o no tuvo lugar. Consecuentemente la masa con 5 % de HPMC presentó entre los 25 y 60 °C una viscosidad newtoniana levemente mayor al control e igual a HPMC 2,5 % (figura 3.44). Entre los 60 y 90 °C la viscosidad de HPMC 2,5 % fue

superior al control, mientras que con la mayor dosis la viscosidad fue menor. Al igual que como se observó con goma xántica, la mayor concentración del aditivo posiblemente impidió la hidratación e hinchamiento de los gránulos de almidón en relación al control. Concomitantemente con el aumento de temperatura se observó que el efecto de formación de una estructura tipo gel en la masa prevaleció por sobre la menor gelatinización y por lo tanto la viscosidad de HPMC 5 % fue significativamente mayor al finalizar el ensayo (tabla 3.16).

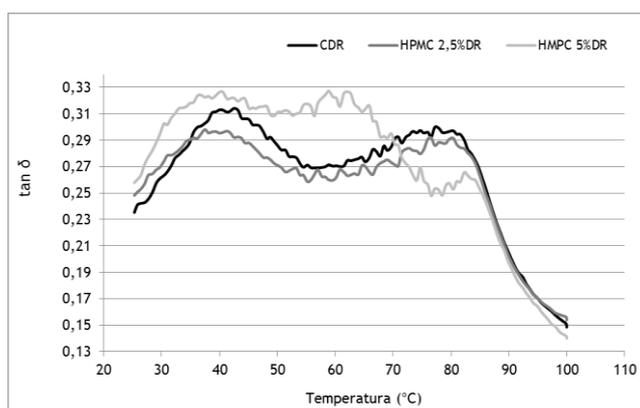


Figura 3.43 Efecto de la temperatura en la $\tan \delta$ de masas LG sin aditivos y con HPMC. C: muestra control

Las propiedades funcionales del HPMC dependen del grado de sustitución de los grupos metilo e hidroxipropilo. A lo largo de la cadena de celulosa, los grupos metilos constituyen zonas hidrofóbicas mientras que los grupos hidroxipropilos son más hidrofílicos. Variaciones en el nivel absoluto de grupos metoxilo e hidroxipropilo afectan a las propiedades físicas y químicas de la molécula en solución. Un alto grado de sustitución de los grupos hidroxilos por grupos metoxilos voluminosos reduce el número de enlaces puente hidrogeno que pueden ocurrir entre las moléculas e inhibe la adopción por parte de la macromolécula de una conformación compacta y cerrada (Grover 1982). De manera tal que los grupos voluminosos de bajo peso molecular le otorgan una menor viscosidad. En este caso, se utilizó una HPMC con una sustitución de 19 a 24 % de grupos metilo y de 7 a 12 % de grupos hidroxipropilo, por lo que es considerada como una celulosa de con un bajo grado de sustitución. Su estructura está formada por largas cadenas poliméricas con un peso molecular aproximadamente de 400 kDa, lo cual le otorga una alta viscosidad al sistema (4000 cP en soluciones acuosas al 2 %).

Si bien se observó que las piezas laminadas y los productos con ambas concentraciones de HPMC presentaron mayores valores de altura al final del laminado y del horneado, el crecimiento durante el proceso de producción fue mayor para la muestra HPMC 2,5 %. Las moléculas de HPMC poseen la capacidad de acumularse en la interfase aire-agua y aceite-agua. En el primer caso, se ha reportado que debido a cierta movilidad que poseen las moléculas de HPMC durante el calentamiento forman microgeles elásticos que coalescen alrededor de las micelas de aire y por lo tanto estabilizan el sistema (Coffey et al. 1995). En ambos casos hay un efecto del peso molecular del HPMC y del pH del medio. Algunos autores demostraron a pH 6 la formación de films con propiedades viscoelásticas y también observaron que HPMC de bajo peso molecular y con alta hidrofobicidad presentaban una mejor capacidad estabilizante alrededor de las micelas debido a la formación de films con mayor elasticidad (Camino et al. 2009, 2011).

Por lo tanto, el crecimiento de la estructura en la muestra con menor cantidad de HPMC puede estar asociado con la capacidad de este hidrocoloide de reforzar la integridad estructural de las micelas de grasa y de aire durante el horneado. Si bien el HPMC utilizado es de bajo peso molecular el efecto fortalecedor de las micelas tiene lugar, aunque en menor medida en comparación con un HPMC de alto peso molecular. En el sistema laminado de capas alternadas de grasa y masa, el aditivo impidió, en cierta forma, la migración de las capas de grasa hacia las capas de masa preservando la conformación de las mismas. Por otro lado, el hidrocoloide previno la coalescencia de las celdas de vapor de agua y por lo tanto promovió la expansión vertical del producto. De esta manera la muestra con 2,5 % de HPMC experimentó un mayor crecimiento que el control. Además la menor viscosidad de la muestra HPMC 2,5 % con respecto al control le permitió al sistema fluir en mayor medida en dirección vertical.

A una mayor dosis de HPMC, la muestra presentó mayor viscosidad y menor resistencia a la deformación por lo que la capacidad de la pieza de masa laminada para expandirse con la presión del vapor de agua generado disminuyó, experimentando un menor crecimiento que HPMC 2,5 % y dando como resultado un producto de estructura interna más firme.

Las muestras con HPMC presentaron una mayor viscosidad que el control hasta los 60 °C. Por encima de esta temperatura el comportamiento de las masas con hidrocoloide se mostró dependiente de la concentración. Una mayor dosis de HPMC provocó una disminución de la resistencia a fluir del sistema, en relación al control; probablemente debido a la formación de una estructura tipo gel con propiedades más bien elásticas. Mientras que una menor dosis de HPMC disminuyó la capacidad de fluir del sistema frente al calor.

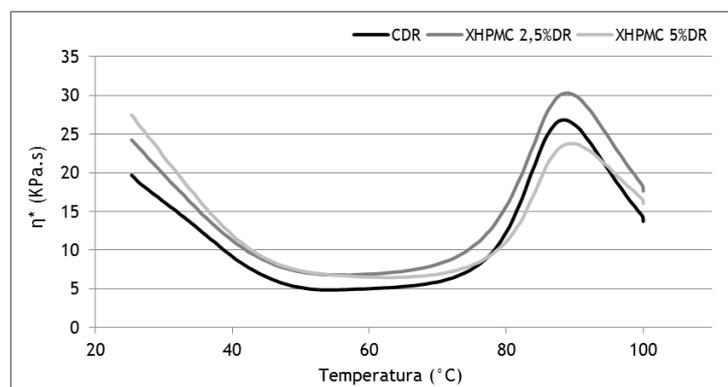


Figura 3.44 Efecto de la temperatura en la viscosidad compleja de masas LG sin aditivos y con HPMC. η^* : viscosidad compleja, C: muestra control.

Distribución del agua durante el calentamiento

La humedad total de la masa con un 2,5 % de HPMC sin descanso refrigerado fue significativamente mayor a la del control (tabla 3.17), debido a la mayor cantidad de agua adicionada en la formulación con el aditivo en relación al control. La curva de la derivada de pérdida de peso de la muestra con 2,5 % de HPMC se deconvolucionó en cinco curvas gaussianas (figura 3.45.a) con diferentes valores de temperatura máxima (tabla 3.14). Las poblaciones A1 y A2 se asociaron con agua débilmente entrampada ya que se encontraron por debajo de los 100 °C. A1 se correspondió en temperatura máxima con la población A1 presente en el control. Mientras que A2 no tuvo un pico correspondiente en la muestra sin aditivo, por lo que puede ser atribuida al agua unida

a la HPMC. Crockett et al. (2011 b) obtuvieron en masa LG de harina de mandioca y arroz con un 2 % de HPMC una población de agua a los 92 °C. Esta población estaba ausente en la masa sin el hidrocoloide y fue atribuida al agua unida al HPMC. Las poblaciones A₃, A₄ y A₅ se presentaron a temperaturas mayores a los 100 °C, por lo que se corresponden con agua fuertemente entrampada.

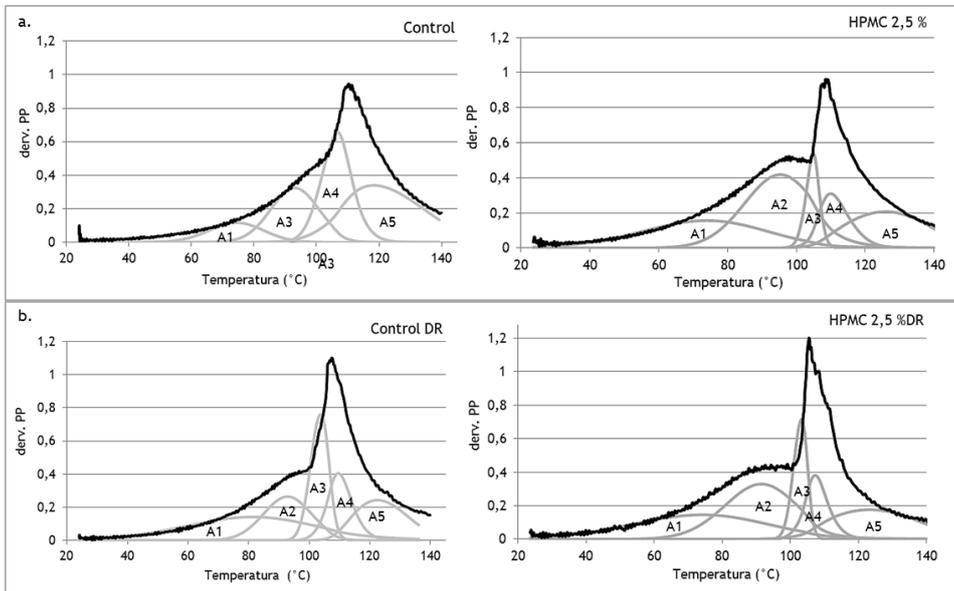


Figura 3.45 Termogramas de la derivada de la pérdida de peso de masas LG sin aditivos y con HPMC. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. Derv: primera derivada de la pérdida de peso, PP: pérdida de peso, A: población de agua, DR: descanso refrigerado.

La presencia del HPMC provocó una redistribución de las poblaciones de manera tal que luego de su incorporación hubo una mayor cantidad de agua (~63 %) que se evaporó más fácilmente por debajo de los 100 °C, en relación al control (~35 %). Esta cantidad de agua que se evapora más fácilmente ante la presencia del hidrocoloide puede relacionarse con el proceso de formación de gelificación que experimenta el HPMC. Durante el calentamiento las cadenas hidratadas del polímero liberan las moléculas de agua, y se promueven un mayor número de interacciones entre las cadenas del polímero. Por lo tanto, al igual que lo observado en el sistema con goma xántica, el agua que interacciona con el aditivo se evapora más fácilmente que la que se encuentra unida al almidón gelatinizado.

Tabla 3.17 Parámetros del análisis termogravimétrico de masas LG con y sin HPMC antes y después del descanso refrigerado

Muestra	Humedad total (%)	T _{pico} (°C)				
		A1	A2	A3	A4	A5
Control	(56±5) ^a	(77±1) ^a		(97±4) ^a	(112±1) ^a	(126±2) ^a
HPMC 2,5 %	(91±6) ^b	(74±2) ^a	(97±4)	(109±2) ^b	(115,7±0,8) ^b	(127,3±0,6) ^a
Control _{DR}	(79±5) ^a	(74±5) ^a	(94±2) ^a	(109±2) ^a	(119±3) ^b	(124±3) ^a
HPMC 2,5 % _{DR}	(87,6±0,6) ^a	(72±8) ^a	(93±2) ^a	(106,3±0,3) ^a	(111,7±0,5) ^a	(123,2±0,8) ^a

T: temperatura, A: población de agua, DR: descanso refrigerado. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras con y sin DR (p<0,05).

Las masas se sometieron a un descanso refrigerado y fueron nuevamente evaluadas bajo las condiciones anteriormente descritas. Al igual que en las masas sin el tratamiento, la humedad total del sistema con 2,5 % del aditivo fue mayor al control, aunque no de manera significativa (tabla 3.17). En la masa refrigerada con 2,5 % de HPMC se observaron cinco poblaciones, al igual que en el control sometido al descanso refrigerado. De la misma forma que en la masa sin descanso refrigerado, el hidrocoloide provocó una reorganización de las poblaciones de agua entre los componentes de la masa. Se observó como con la presencia de un 2,5 % de HPMC se modificaron las áreas relativas de cada población (figura 3.46.b), en relación al control. Las poblaciones A2 y A5 de la muestra HPMC 2,5 % presentaron un aumento y una disminución significativos, respectivamente, de sus intensidades relativas en relación al control. La cantidad de agua que se evaporó más fácilmente por debajo de los 100 °C en la muestra con 2,5 % de HPMC fue mayor (~55 %) que en el control (~32 %).

Mediante RMN se observó que la presencia de HPMC en ambas dosis disminuyó, en general, la movilidad de las poblaciones. Estas se presentaron inicialmente como menos móviles y estructuraron el sistema en relación al control, permitiendo un mejor laminado de la masa. Durante el calentamiento la formación de una estructura tipo gel en las masas con HPMC permitió obtener un sistema con mayores puntos de contacto y viscosidad que el control. Al igual que en la masa con goma xántica, durante el calentamiento una mayor proporción de agua se encontró menos atrapada y fue más fácilmente evaporada debido a la presencia de HPMC. Por lo tanto, la cantidad de agua disponible para que el almidón gelatinice fue menor y concomitantemente con ambas dosis hubo un retraso en la gelatinización durante el barrido de temperatura. Sin embargo, a diferencia del sistema con goma xántica, en este caso solo HPMC 5 % presentó un menor G' y η^* a la temperatura de gelatinización, lo cual indicó que este proceso ocurrió en menor medida.

Estas diferencias en el comportamiento entre las masas que contenían HPMC y el control permitió la obtención de productos LG de buenas características tecnológicas, las cuales se expresaron en mejor medida cuando el aditivo fue incorporado en una mayor dosis.

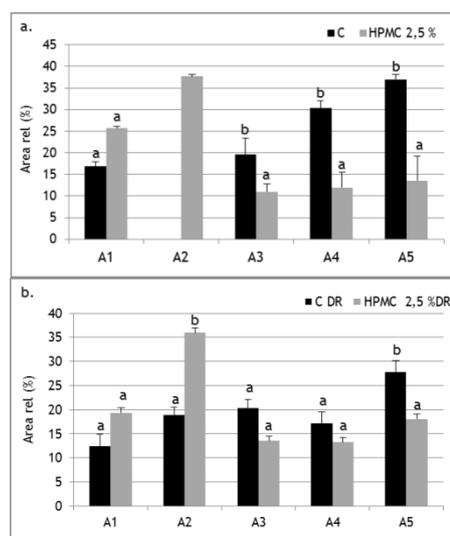


Figura 3.46 Áreas relativas de las poblaciones de agua de masas LG sin aditivos y con HPMC. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. A: población de agua, DR: descanso refrigerado. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre las poblaciones de cada muestra ($p \leq 0,05$).

3.2.4 Incorporación de *psyllium*

Efecto del *psyllium* en la calidad tecnológica de los panificados

Mediante la elaboración de productos laminados LG se estudió el efecto de la incorporación de *psyllium* en la calidad tecnológica de los panificados (figura 3.47). Las muestras con ambas dosis de *psyllium* presentaron caras laterales de aspecto exterior laminado, con la presencia de delgadas capas continuas. Mientras que en el control se observaron estratos gruesos y discontinuos. La vista superior de los productos evidenció que la presencia de *psyllium* en la formulación no provocó cambios en la forma del producto en relación al control, ya que no se observaron deformaciones como consecuencia de un excesivo crecimiento en dirección horizontal.

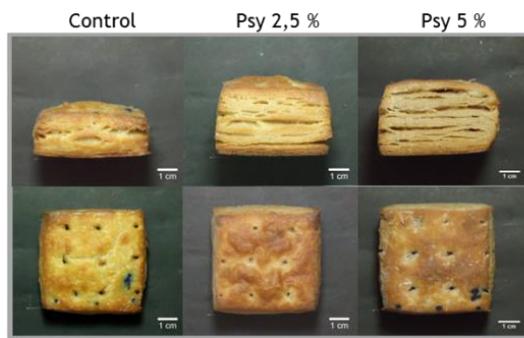


Figura 3.47 Panificados laminados de harinas LG sin aditivos (control) y con *psyllium*.

Los panificados con ambas dosis de *psyllium* finalizaron el proceso de laminado y hojaldrado con una mayor altura que el control (figura 3.48). Durante el horneado no se encontraron diferencias significativas entre los valores de relación de altura. Sin embargo, al finalizar el horneado los productos con el hidrocoloide fueron más altos que el control. Esto indica que las piezas de masa laminada que contenían *psyllium* en su formulación presentaron mejores propiedades elásticas que el control y por lo tanto se recuperaron en mayor medida de la presión ejercida durante el laminado e ingresaron al horneado con una mayor altura. Si bien durante la cocción crecieron en igual medida que el control, la mayor altura inicial les permitió finalizar la cocción con mayores valores de altura en relación al control. No se encontraron diferencias significativas en los valores de relación de ancho (tabla 3.18), es decir que la presencia de *psyllium* no provocó cambios en el crecimiento en dirección horizontal de la pieza de masa laminada durante el proceso de producción. Las muestras con ambas dosis del hidrocoloide presentaron mayores valores del factor de forma en relación al control (tabla 3.18). Es decir que los productos con *psyllium* al finalizar el horneado fueron más altos y presentaron menores valores de ancho y largo que el control. En cuanto al volumen específico, la incorporación de *psyllium* permitió obtener productos con mayor volumen específico que el control (tabla 3.19).

En general el color de la corteza de los panificados no se vio modificado por la incorporación de *psyllium* en la formulación (tabla 3.19). San Miguel (2013) estudió el efecto de la incorporación de *psyllium* en panes LG con diferentes niveles de hidratación (en base seca). Este autor observó que la interacción entre el nivel de agua y la cantidad de aditivo tenía un efecto lineal negativo sobre el parámetro L^* . En panes con un 4 % de *psyllium* y un 90 % de hidratación observaron cortezas más pálidas. A pesar de lo reportado anteriormente, en los productos laminados LG no se encontraron diferencias significativas para el parámetro que da cuenta de la

Muestra	Ra	FF
Control	1,01 ^a	0,44 ^a
Psy 2,5 %	1,01 ^a	0,60 ^b
Psy 5 %	1,00 ^a	0,66 ^c

Tabla 3.18 Relación de ancho (Ra) y factor de forma (FF) de panificados laminados LG. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

luminosidad de la corteza, aun en la muestra con un 5 % del aditivo y un mayor nivel de hidratación. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en la intensidad del color rojo entre las muestras analizadas. La intensidad del color amarillo no se vio alterada con la menor dosis del aditivo, mientras que con un 5 % de *psyllium* fue menor en relación al control.

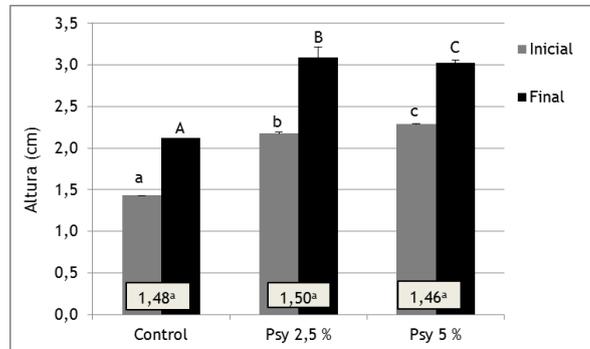


Figura 3.48 Altura y relación de altura de panificados laminados LG sin aditivos y con *psyllium*. En el recuadro Relación de altura. Letras diferente en cada columna indican diferencias significativas en cada muestra ($p \leq 0,05$)

La incorporación de *psyllium* no provocó cambios en la firmeza de los productos, ni en la masticabilidad de los mismos. En contraste con estos resultados, Mancebo et al. (2015) observaron un aumento en la firmeza de panes LG conforme se incrementó la cantidad de *psyllium* en la formulación, hecho que fue asociado por los autores con el bajo volumen del producto.

Tabla 3.19 Parámetros de calidad tecnológica de panificados laminados LG

Muestra	VE (cm ³)	L*	a*	b*	Firmeza (N)	Masticabilidad
Control	(64±4) ^a	(56±1) ^a	(12±1) ^a	(31,4±0,1) ^b	(62±4) ^a	(63±3) ^a
Psy 2,5 %	(88±5) ^b	(55,6±0,9) ^a	(12,6±0,5) ^a	(29±1) ^b	(66±1) ^a	(68±3) ^a
Psy 5 %	(93±4) ^b	(55±2) ^a	(13±1) ^a	(25,8±0,3) ^a	(58±15) ^a	(62±14) ^a

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

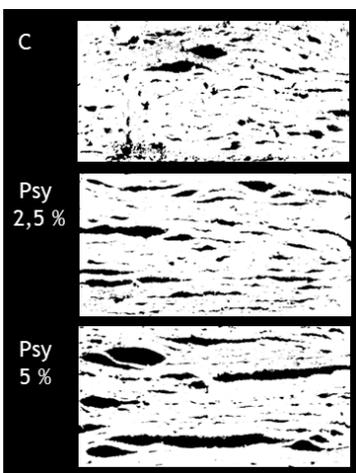


Figura 49 Imágenes binarizadas de la estructura interna de panificados laminados LG con y sin *psyllium*

Con la incorporación de *psyllium* en la formulación se observaron cambios en la conformación de la estructura interna de los panificados (figura 3.49). En las muestras con el hidrocoloide se observó la formación de espacios vacíos de conformación alargada y por consiguiente la formación de capas. Mientras que en el control la estructura fue más bien alveolada y similar a un pan. El agregado del hidrocoloide no provocó cambios en la homogeneidad de la estructura interna de los panificados (tabla 3.20). Las muestras con *psyllium* presentaron menores valores de contraste que el control, aunque solo para un 5 % del aditivo esta diferencia fue significativa. Esto revela la presencia de espacios de conformación más bien alargada en las muestras con *psyllium*, lo cual provoca una menor variación de la escala de grises en un pixel. No se encontraron diferencias significativas en los valores de entropía de las muestras. En cuanto a la dimensión fractal, la muestra con una menor dosis de *psyllium* no presentó un valor significativamente diferente al control. Sin embargo, cuando se agregó una mayor cantidad del aditivo, se observó un valor de dimensión fractal mayor al control. La mayor tortuosidad y rugosidad de las imágenes de la estructura interna de Psy 2,5 % se asoció con la presencia de láminas y espacios vacíos de conformación alargada (figura 3.50).

La incorporación de *psyllium* en ambas dosis permitió obtener panificados LG de mayor altura y volumen específico que el control. La presencia del hidrocoloide promovió la formación de una estructura interna de mayor tortuosidad debido a la presencia de láminas, que no presentó un aumento en su firmeza.

Tabla 3.20 Parámetros del análisis textural de imágenes de cortes transversales de los panificados laminados LG

Muestra	Homogeneidad	Contraste	Entropía	DF
Control	0,24 ^a	90,42 ^b	7,06 ^a	1,44 ^a
Psy 2,5 %	0,18 ^a	87,73 ^{ab}	6,92 ^a	1,47 ^a
Psy 5 %	0,19 ^a	75,2 ^a	7,15 ^a	1,56 ^b

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Evaluación de las interacciones en el sistema masa

Comportamiento reológico

La respuesta en términos de deformación de las muestras evaluadas durante el ensayo de deformación-relajación sin descanso refrigerado se observa en la figura 51. Las tres muestras presentaron un perfil correspondiente a un comportamiento viscoelástico típico. Con la incorporación de *psyllium* se observó que la curva de deformación en el tiempo presentó valores más grandes en relación al control. Durante la etapa de deformación en las masas con *psyllium* se observó un aumento de la pendiente de la curva en relación al control. Esto se asocia con un efecto del aditivo sobre la fluidez del sistema, la cual se vio aumentada y por lo tanto promovió la formación de un sistema con un mayor comportamiento de líquido viscoelástico, en relación al control. No se observaron diferencias significativas en las capacitancias instantáneas de las muestras (tabla 3.18). Mientras que los valores de capacitancia viscoelástica de las masas con *psyllium* en ambas dosis fueron mayores que en el control. Esto se relaciona con una mayor facilidad de las masas con el aditivo de ser deformadas en comparación con el control. La presencia de *psyllium* no generó cambios significativos en los tiempos de retraso de la componente Kelvin. La viscosidad del sistema tampoco se vio modificada por la incorporación del hidrocoloide. No se encontraron diferencias para la capacitancia máxima en relación al control. Esto revela que si bien la presencia de *psyllium* generó un cierto efecto de debilitamiento de la masa haciéndola menos resistente a la deformación; la estructura de las muestras con el aditivo fue capaz de amortiguar este efecto a lo largo del ensayo y finalmente presentaron la misma resistencia a la deformación que el control.

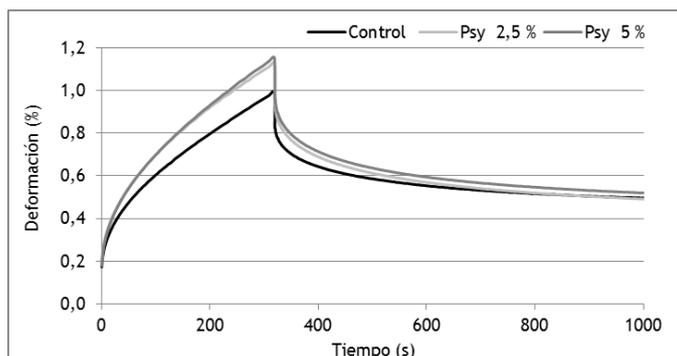


Figura 3.51 Deformación de masas LG sin aditivos y con goma xántica en función del tiempo antes del descanso refrigerado

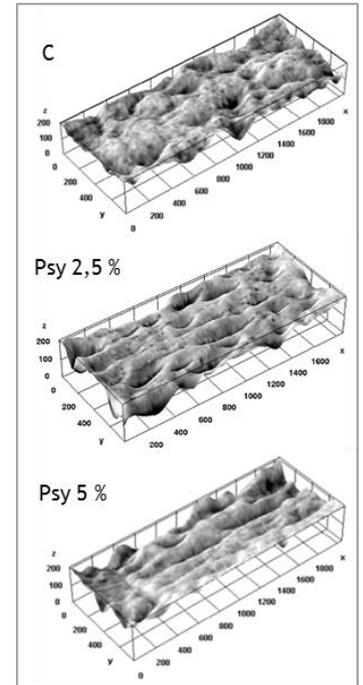


Figura 3.50 Gráficos de superficie de la estructura interna de panificados laminados LG con y sin *psyllium*

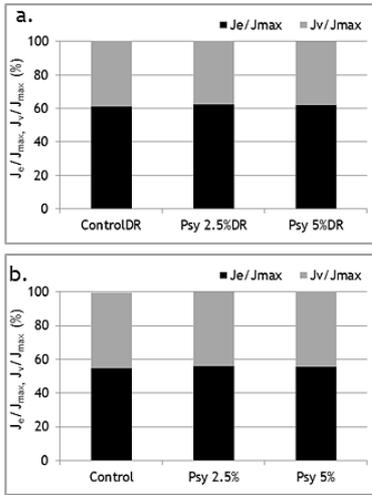


Figura 3.52 Porción relativa elástica (J_e/J_{max}) y viscosa (J_v/J_{max}) de la capacitancia máxima de masas LG sin aditivos y con *psyllium*. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. DR: descanso refrigerado.

Durante la relajación, una vez retirado el esfuerzo aplicado, no se observaron diferencias significativas en la capacitancia instantánea de las muestras (tabla 3.21). De la misma forma no hubo diferencias significativas en los valores de capacitancia viscoelástica entre el control y Psy 2,5 %. Mientras que el agregado de una mayor dosis del aditivo provocó un aumento de la capacitancia viscoelástica respecto al control. Esto indica que una vez retirado el esfuerzo aplicado, el sistema con 5 % de *psyllium* presentó una mayor deformación que el control y Psy 2,5 %, debido a su menor capacidad de resistir al esfuerzo aplicado. Sin embargo, las masas con ambas concentraciones necesitaron menor tiempo para alcanzar el equilibrio en relación al control y a la vez presentaron capacitancias leve pero significativamente mayores a la muestra sin aditivo. La incorporación de *psyllium* no generó cambios en la porción relativa elástica y viscosa de la capacitancia máxima durante la recuperación, en relación al control (figura 3.52.a).

Durante la etapa de deformación, en las masas con *psyllium* después del descanso refrigerado se observó un aumento de la pendiente de la sección recta de la curva en relación al control, lo cual se asocia con un aumento de la fluidez del sistema y un comportamiento de líquido viscoelástico (figura 3.53). No se observaron diferencias significativas en los valores de capacitancia instantánea entre la masa y las muestras con *psyllium* (tabla 3.21). Mientras que si hubo diferencias significativas entre el control y las muestras con el aditivo para los valores de capacitancia viscoelástica y capacitancia de máxima. Los mayores valores de estos parámetros para las masas con *psyllium* que en el control, indican una menor resistencia a la deformación y por lo tanto una mayor deformación del sistema. Este comportamiento fue acompañado por una disminución de la viscosidad en las masas con el hidrocoloide. No se observaron diferencias en los tiempos de relajación de la componente Kelvin de las masas sometidas al descanso refrigerado.

Tabla 3.21 Parámetros del ensayo de relajación-deformación de masas LG con y sin goma xántica antes y después del descanso refrigerado

		Etapa de deformación				
		J_0 (1/Pa)x10 ⁻⁶	J_1 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	λ_{ret} (s)	η_0 (Pa s) x 10 ⁷	J_{max} (1/Pa) x 10 ⁻⁵
Antes DR	Control	9,8 ^a	10,6 ^a	19,4 ^a	1,1 ^b	4,9 ^a
	Psy 2,5 %	10,4 ^a	12,5 ^b	19,9 ^a	1,0 ^{ab}	5,4 ^a
	Psy 5 %	9,8 ^a	12,5 ^b	18,6 ^a	0,9 ^a	5,8 ^a
Después DR	Control	6,1 ^a	6,6 ^a	20,8 ^a	2,5 ^b	2,5 ^a
	Psy 2,5 %	6,5 ^a	7,8 ^b	20,1 ^a	2,0 ^a	3,0 ^b
	Psy 5 %	6,0 ^a	7,6 ^{ab}	19,4 ^a	2,0 ^a	2,8 ^b

		Etapa de relajación			
		J_0 (1/Pa)x10 ⁻⁶	J_1 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	λ_{rec} (s)	Je_0 (1/Pa) x 10 ⁻⁵
Antes DR	Control	13,4 ^a	15,4 ^a	183,8 ^b	2,8 ^c
	Psy 2,5 %	14,1 ^a	15,9 ^{ab}	173,0 ^a	3,0 ^a
	Psy 5 %	14,6 ^a	17,3 ^b	169,0 ^a	3,2 ^a
Después DR	Control	7,8 ^a	7,4 ^a	192,9 ^b	1,5 ^a
	Psy 2,5 %	9,1 ^b	9,3 ^b	183,2 ^{ab}	1,8 ^b
	Psy 5 %	8,9 ^{ab}	9,4 ^b	170,8 ^{ab}	1,8 ^b

DR: descanso refrigerado, J_0 : capacitancia instantánea, J_1 : capacitancia viscoelástica, λ_{ret} : tiempo de retraso de la componente Kelvin, η_0 : viscosidad newtoniana, J_{max} : capacitancia máxima de deformación, λ_{rel} : tiempo de recuperación de la componente Kelvin, Je_0 : capacitancia del estado de equilibrio. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Durante la etapa de relajación se observó un aumento significativo de los valores de capacitancia instantánea, viscoelástica y del estado de equilibrio en las masas con *psyllium* en relación al control. Esto revela que la presencia del aditivo en el sistema disminuyó su capacidad de recuperación durante la relajación y por lo tanto finalizó el ensayo con una mayor deformación que el control. No se encontraron diferencias en los tiempos de recuperación de la componente Kelvin, por lo que las masas con *psyllium* necesitaron la misma cantidad de tiempo para alcanzar el equilibrio que el control. En cuanto a la porción relativa elástica y viscosa de la capacitancia máxima durante la recuperación, si bien no hubo diferencias entre el control y Psy 2,5 y 5 % las tres muestras presentaron una porción relativa elástica mayor a la porción viscosa (figura 3.52.b).

Contrariamente a los resultados obtenidos para este sistema con *psyllium*, Mancebo et al. (2015) observaron en masas LG con niveles de agua variables de acuerdo a la cantidad de *psyllium* adicionada, una disminución de las capacitancias del ensayo y por lo tanto el consiguiente aumento de la rigidez. Sin embargo, estos autores evaluaron sistemas en donde siempre hubo una determinada concentración de HPMC presente (4, 3 y 2 %), por lo que los resultados que reportan pueden estar afectados por la presencia de HPMC.

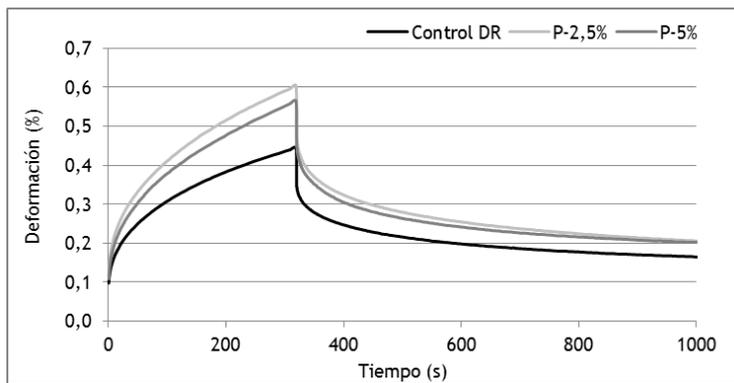


Figura 3.53 Deformación de masas LG sin aditivos y con *psyllium* en función del tiempo después del descanso refrigerado

El comportamiento reológico observado en las muestras cuando se agregó *psyllium* se asoció con un mejor laminado y hojaldrado de las masas en relación al control. Consecuentemente los panificados con el hidrocoloide presentaron mejores características tecnológicas que la muestra sin aditivos.

Efecto de la incorporación de *psyllium* en la fracción proteica

Con el objetivo de estudiar el efecto de la incorporación de *psyllium* en la fracción proteica se realizó una extracción secuencial de masa con ambas dosis del aditivo y luego se determinó el contenido de cada una de las fracciones y el precipitado obtenidos. Se profundizó en el análisis de los perfiles proteicos por electroforesis y se determinaron las densidades relativas de las bandas de la muestra del control y las masas con 2,5 % del aditivo.

La muestra con un 2,5 % de *psyllium* antes del descanso refrigerado presentó un aumento del contenido de proteínas que se solubilizaron en buffer fosfato en relación al control (figura 3.54.a). Sin embargo, con una mayor cantidad del aditivo en la masa el contenido de proteínas de la F1 disminuyó significativamente hasta por debajo del control. En la F1 de la muestra Psy 2,5 % se observó la aparición de una banda de masa

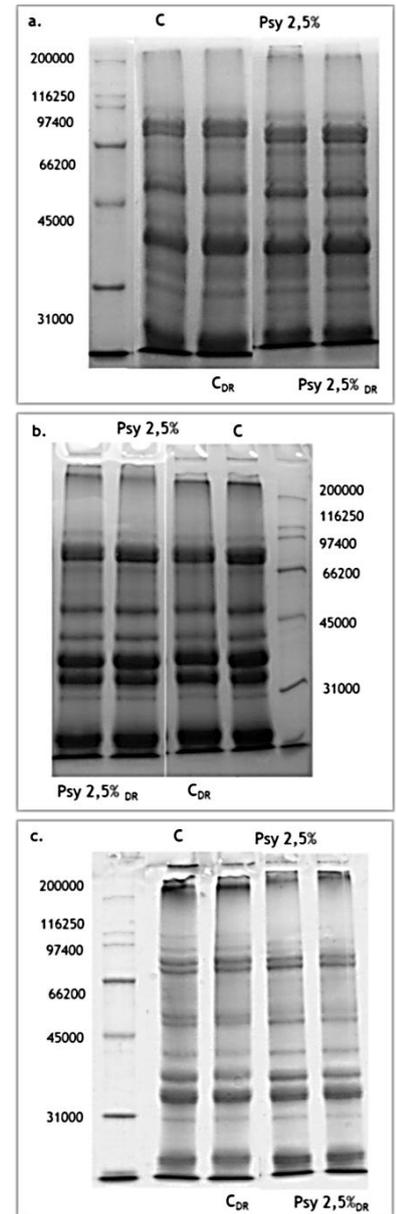


Figura 3.55 Perfil electroforético de las proteínas de las fracciones de la extracción secuencial de masas LG sin aditivos y con *psyllium* antes y después del descanso refrigerado. a. F1: fracción del sobrenadante en buffer fosfato. b. F2: fracción del sobrenadante en buffer fosfato+SDS. c. Precipitado. PM: marcador de peso molecular, C: control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

molecular de 200.000 que no estuvo presente en el control, como una mayor intensidad en una banda de masa cercana a 97.000 (figura 3.55.a).

En cuanto a las proteínas solubles en buffer fosfato y SDS, se observó que con el agregado de 2,5 % de *psyllium* un grupo de proteínas disminuyeron su solubilidad y por lo tanto permanecieron insolubles en el precipitado (figura 3.54.a). Frente a la presencia de una mayor dosis del hidrocoloide se observó un aumento no significativo de la cantidad de proteínas que se solubilizaron en la F2 en relación a la muestra Psy 2,5 %. Sin embargo, este aumento fue significativamente menor a la cantidad de proteínas de la F2 del control. En el perfil electroforético de Psy 2,5 % se observó una atenuación de la intensidad de la banda de masa molecular cercana a 200.000, en relación al control. A su vez por densitometría se observó una disminución de la densidad relativa de los agregados proteicos de masa molecular entre 200.000 y 55.000 en la masa con un 2,5 % del hidrocoloide (figura 3.56.b). Además tuvo lugar un aumento de la densidad relativa de los agregados de masa molecular entre 28.000 y 10.000.

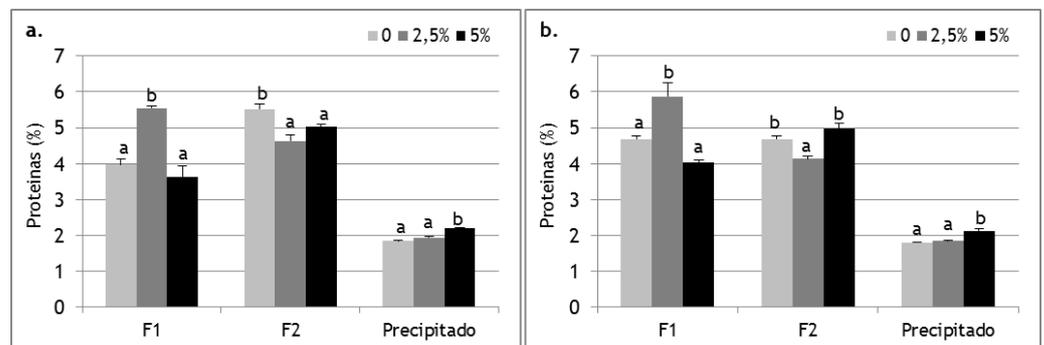


Figura 3.54 Contenido de proteínas de las fracciones de la extracción secuencial de masas LG sin aditivos y con *psyllium*. a. Antes del descanso refrigerado. b. Después del descanso refrigerado. F1: fracción del sobrenadante en buffer fosfato, F2: fracción del sobrenadante en buffer fosfato+SDS.

En la masa con un 2,5 % de *psyllium* no se observó un aumento significativo de la cantidad de proteínas que permanecieron insolubles en el precipitado, en relación al control (figura 3.54.a). Sin embargo, ante la presencia de un 2,5 % del aditivo se observó un aumento de la densidad relativa de las subunidades proteicas de masa molecular entre 55.000 y 28.000 y entre 28.000 y 10.000 (figura 3.56.c). Cuando se incorporó una mayor dosis se observó un leve y significativo aumento de las proteínas del precipitado (figura 3.54.a).

Después del descanso refrigerado la muestra control presentó un aumento significativo de la cantidad de proteínas que se solubilizaron en buffer sin SDS y un aumento en la F2, mientras que no hubo un cambio en la cantidad de proteínas que permanecieron insolubles en el precipitado. El efecto del agregado de *psyllium* en las proteínas de la fracción F1 de masas sometidas al descanso refrigerado presentó la misma tendencia que en las masas sin tratamiento. Con la incorporación de una menor dosis del hidrocoloide se observó un aumento de las proteínas que se solubilizaron en buffer fosfato.

Sin embargo, este efecto se invirtió con el aumento de la cantidad de aditivo en la formulación, y la muestra Psy 5 % presentó el mismo contenido de proteínas de la F1 que el control. En cuanto a las proteínas que se solubilizaron en buffer fosfato y SDS el agregado de la menor concentración del hidrocoloide provocó una leve y significativa disminución del contenido en relación al control. Mientras que una mayor dosis del aditivo aumento la cantidad de proteínas de la F2 igualándose al control. Del mismo

modo que en las masas sin descanso refrigerado, no se observaron diferencias significativas entre el contenido de proteínas del control y la muestra Psy 2,5 %. Mientras que un agregado de una mayor dosis del aditivo provocó un leve y significativo aumento de las proteínas que permanecieron insolubles en el precipitado, en relación al control.

Las masas con ambas dosis de *psyllium* sometidas al descanso refrigerado no presentaron contenidos de proteínas significativamente diferentes a las muestras sin el tratamiento para ninguna de las fracciones y el precipitado. Esto revela que, al igual que en los sistemas con goma xántica y HPMC, el *psyllium* amortigua en cierta medida el efecto del descanso refrigerado en la cantidad de proteínas de cada fracción y permite obtener contenidos similares antes y después del mismo.

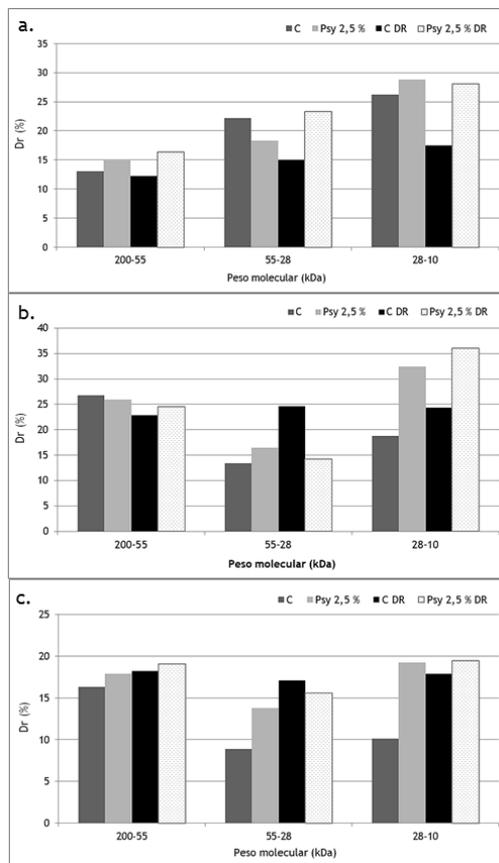


Figura 3.56 Densidad relativa (Dr) de las bandas proteicas de masas LG sin aditivos y con *psyllium*. **a.** F1 (sobrenadante en buffer fosfato). **b.** F2 (sobrenadante en buffer fosfato+SDS). **c.** Precipitado. C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

Al comparar las densidades relativas de las bandas correspondientes a las proteínas de cada muestra antes y después del descanso refrigerado se observa como en la F1 del control hay una disminución de todas las subunidades proteicas luego del tratamiento. Mientras que en la muestra con un 2,5 % de *psyllium*, con el descanso refrigerado, solo hubo un aumento en la cantidad de subunidades proteicas de masa molecular entre 55.000 y 28.000. En la F2 del control se observó una disminución de las subunidades de masa molecular entre 200.000 y 55.000 y un aumento de las de masa molecular entre 55.000 y 10.000. En la muestra Psy 2,5 % no se observaron modificaciones en la densidad relativa de las subunidades luego del tratamiento. En cuanto a las proteínas que permanecieron en el precipitado en el control se observó un aumento de las subunidades de masa molecular entre 55.000 y 28.000 y entre 28.000

y 10.000. Mientras que en la masa con 2,5 % del hidrocoloide la densidad relativa de las subunidades proteicas no se modificó luego del descanso refrigerado. Esto revela que el descanso refrigerado tuvo un efecto en la proporción de subunidades proteicas de cada fracción de la muestra control, mientras en la masa con *psyllium* no se observó este efecto.

Movilidad del agua presente en el sistema

Las masas con *psyllium* presentaron una señal de decaimiento integrada por varias funciones (figura 3.57), lo cual indica que se trata de sistemas heterogéneos con componentes asociados a diferentes regiones de movilidad. En las muestras sin descanso refrigerado con ambas concentraciones del hidrocoloide se observó una distribución de los tiempos de relajación en cinco poblaciones (figura 3.58.a). De la misma manera que ocurrió en las masas con goma xántica y HPMC, la población A₄ no se correspondió con alguna de las poblaciones presentes en la masa control; por lo que se la asocia con el agua unida al *psyllium* incorporado. La población A₄ presentó un T₂ menor a 20 ms en la masa con un 2,5 % de *psyllium*, por lo que es una población poco móvil. Cuando se agregó una mayor concentración del aditivo, A₄ apareció a un T₂ mayor a 20 ms y no hubo modificaciones en su intensidad relativa. Esto indica que una mayor cantidad del *psyllium* promovió una mayor retención de agua y movilidad de las moléculas.

Con la incorporación de ambas dosis de *psyllium* se observó una disminución de la intensidad relativa de las poblaciones menos móviles A₁ y A₃, y un aumento de A₂. Por otro lado, la población de mayor movilidad experimentó un aumento de su intensidad relativa (figura 3.58.a). Este efecto de reorganización de las poblaciones de agua fue igual al observado en las masas con HPMC. Además, la presencia de *psyllium* en el sistema generó una disminución global de los tiempos de relajación T₂ en relación al control (figura 3.57.a). Conforme aumento la cantidad de aditivo agregada la estructuración del sistema y la disminución de movilidad fue mayor.

Las masas sometidas al descanso refrigerado presentaron una distribución de los T₂ en cinco poblaciones (figura 3.58.b). Al igual que en las masas sin tratamiento, la población A₄ no se correspondió con alguna población presente en el control por lo que fue asociada al agua unida al *psyllium*. El agregado de las dos dosis del hidrocoloide provocó un efecto de redistribución de las poblaciones de agua, igual al que se observó en las muestras sin el tratamiento. Además se observó que las curvas de distribución de los T₂ de las masas con *psyllium* se desplazaron a menores valores en relación al control (figura 3.57.b). Esto revela que el sistema con descanso refrigerado que contenía el aditivo se vio más estructurado y sus poblaciones de agua presentaron menor movilidad.

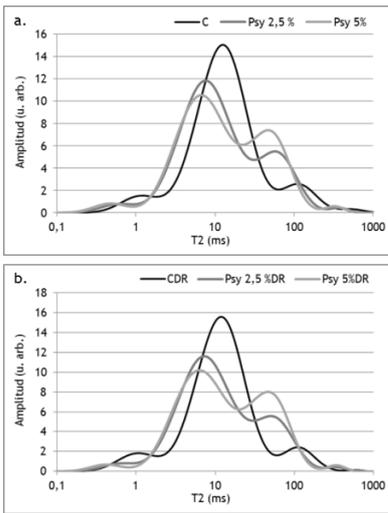


Figura 3.57 Distribución de los tiempos de relajación en masas LG sin aditivos y con *psyllium*. a. Antes del descanso refrigerado b. Después del descanso refrigerado. T₂: tiempo de relajación T₂, C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

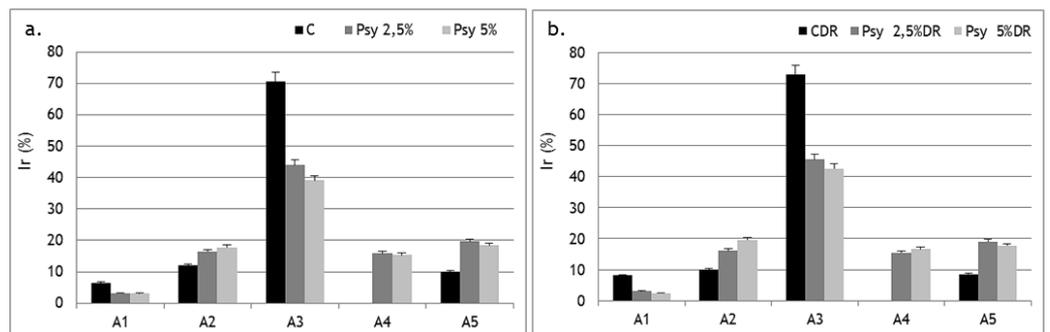


Figura 3.58 Intensidad relativa de las poblaciones de agua en masas LG sin aditivos y con *psyllium*. a. Antes del descanso refrigerado b. Después del descanso refrigerado. Ir: Intensidad relativa, A: población, C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

El descanso refrigerado no generó cambios en los tiempos de relajación de las muestras control y con *psyllium*, ya que no se observaron desplazamientos de las curvas de las muestras después del tratamiento en relación a las que no se habían sometido al mismo (figura 3.57.a). Las muestras con el aditivo al igual que el control, no presentaron cambios en la cantidad de poblaciones de agua y sus intensidades luego del tratamiento (figura 3.59.b).

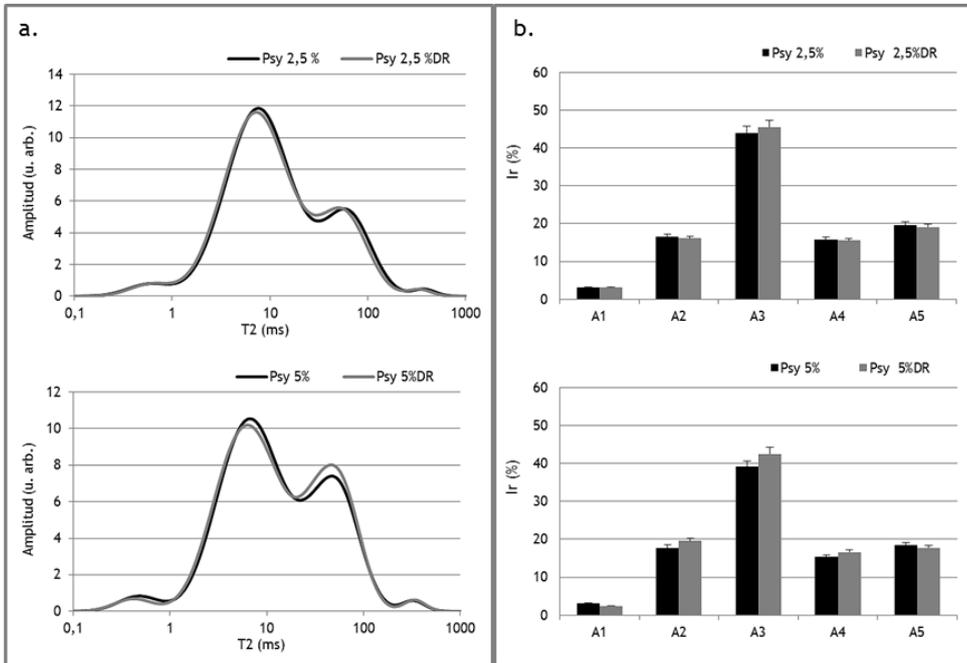


Figura 3.59 Efecto del descanso refrigerado en la movilidad del agua de masas LG sin aditivos y con *psyllium*. **a.** Distribución de los tiempos de relajación **b.** Intensidad relativa de las poblaciones de agua. T₂: tiempo de relajación T₂, Ir: Intensidad relativa, A: población, C: muestra control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

Entonces si bien mediante RMN se observó que la presencia de *psyllium* disminuyó en general la movilidad del sistema y promovió su estructuración, a nivel supramolecular hubo un aumento de la fluidez del sistema. Esto puede deberse, como ya se explicó anteriormente en el caso de la goma xántica, a una diferencia en el tipo de movimientos que reflejan cada uno de los parámetros obtenidos por los diferentes ensayos. La competencia establecida entre los componentes presentes en el sistema por el agua influye en la movilidad de las poblaciones. De la Hera et al. (2013) informaron una capacidad de absorción de agua de la harina de arroz entre 1,9 y 2,4 g/g, dependiendo del tamaño de partícula y del tipo de grano. Por otro lado, Aryee et al (2006) informaron para harina de mandioca una absorción de agua entre 13 y 20 g /g. Mientras que el *psyllium* también posee una gran capacidad de absorción de agua, entre 10 y 15 g /g, a temperatura ambiente (Cheng et al. 2009, Raymundo et al. 2014). Por lo que el agua en la masa con el aditivo se encontró más estructurada en relación al control debido a la presencia del *psyllium* y las interacciones que promueve.

Por otro lado, a pesar de que el comportamiento reológico de la estructura se asoció con el de un líquido viscoelástico, las masas con el aditivo soportaron en mejor medida el laminado y hojaldrado e iniciaron el horneado con una mayor altura que el control. Lo cual, a pesar de no crecer en una medida significativamente diferente, les permitió presentar mayores valores de altura al finalizar la cocción. Es decir que lo que ocurre en la masa durante el laminado y hojaldrado relaciona en mejor medida con el efecto del *psyllium* observado a nivel molecular sobre la reorganización y estructuración de las poblaciones de agua.

Efecto del aumento de temperatura en la estructura de la masa

Comportamiento reológico durante el calentamiento

Durante el barrido de temperatura las masas presentaron un módulo elástico superior al viscoso, por lo que se las asoció con muestras con propiedades viscoelásticas (figura 3.60). El G' de la muestra Psy 2,5 % fue menor al del control durante todo el barrido. Mientras que la masa con una mayor dosis del aditivo mostró un módulo elástico mayor al control hasta aproximadamente los 84 °C. Luego de esta temperatura el G' de Psy 5 % fue menor al del control hasta la finalización del ensayo. Esto indica que únicamente un 5 % de *psyllium* promovió la formación de un sistema con un mayor entrecruzamiento lo que generó un comportamiento más elástico que control hasta los 84 °C. Haque et al. (1993) observaron que el *psyllium* no se disuelve completamente en agua, pero absorbe agua y se hincha hasta formar una dispersión de aspecto mucilaginoso. Esta suspensión presentó un comportamiento del tipo "gel débil", con una respuesta elástica mayor a la viscosa durante un barrido de frecuencia.

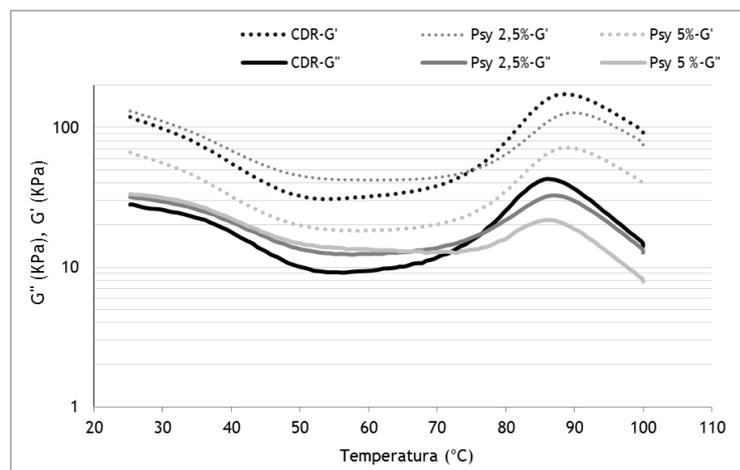


Figura 3.60 Barrido de temperatura de masas LG sin aditivos y con *psyllium*. G'' : módulo viscoso, G' : módulo elástico, C: muestra control, Psy: *psyllium*.

Alrededor de los 80 °C, el G' de las tres muestras comenzó a crecer. Si bien no hubo diferencias significativas entre las temperaturas del máximo de la derivada de G' , las masas con *psyllium* presentaron mayores valores (tabla 3.22). Esto se relaciona con un leve retraso en la gelatinización debido a la presencia del aditivo en el sistema. Concomitantemente debido a la menor gelatinización que tiene lugar en las masas con el aditivo, estas presentaron menores valores de G' que el control alrededor de los 88 °C (tabla 3.22). Al final del barrido se observó un decaimiento del G' en las tres muestras.

En cuanto al efecto de la presencia de *psyllium* sobre la respuesta viscosa de la masa, la incorporación de 2,5 % del aditivo provocó un aumento significativo del G'' entre los 50 y 70 °C en relación al control (figura 3.60). Mientras que a mayores temperaturas la muestra Psy 2,5 % presentó un G'' significativamente menor al del control. El agregado de una mayor cantidad de *psyllium* provocó el mismo efecto en la masa, aunque la disminución de G'' en relación al control fue mayor que la observada en Psy 2,5 %.

El perfil general de las curvas de $\tan \delta$ con ambas dosis de *psyllium* fue similar a la del control (figura 3.61). Se observó un aumento de la $\tan \delta$ entre los 25 y 40 °C, relacionado con un predominio de la componente viscosa en los tres sistemas. Seguidamente, la $\tan \delta$ disminuyó hasta los 60 °C con un mayor peso de la

componente elástica. En este punto la muestra Psy 5 % presentó un mayor carácter de líquido viscoelástico que el control y Psy 2,5 %. Entre los 60 y 80 °C las muestras presentaron un incremento de la $\tan \delta$, asociado a un predominio de la componente viscosa sobre la elástica debido al inicio de la gelatinización (tabla 3.22). Finalmente entre los 80 y 100 °C la $\tan \delta$ de las tres muestras disminuyó.

Tabla 3.22 Parámetros del barrido de temperatura de masas LG con y sin *psyllium* después del descanso refrigerado

Parámetros		Control DR	Psy 2,5 %DR	Psy 5 %DR
G'	Max (KPa)	18,4 ^c	12,6 ^b	7,7 ^a
	T (°C)	88,6 ^a	89,1 ^a	88,0 ^a
d1, G'	Max (KPa)	15,5 ^c	10,2 ^b	7,1 ^a
	T (°C)	82,6 ^a	84,9 ^a	84,1 ^a
tan δ	25 °C	0,24 ^a	0,24 ^a	0,24 ^{ab}
	40 °C	0,31 ^a	0,31 ^a	0,31 ^a
	60 °C	0,27 ^a	0,30 ^a	0,36 ^b
	80 °C	0,30 ^a	0,34 ^{ab}	0,38 ^b
	100 °C	0,15 ^a	0,17 ^b	0,18 ^c
η^* (KPa,s)	25 °C	20 ^a	22 ^a	22 ^a
	40 °C	9 ^a	11 ^b	11 ^b
	60 °C	5 ^a	7 ^b	6 ^b
	80 °C	12 ^b	11 ^b	7 ^a
	100 °C	14 ^b	12 ^b	7 ^a

G': módulo elástico, Max: valor máximo de G', T: temperatura, d1 G': primera derivada de G', η^* : viscosidad compleja, DR: descanso refrigerado. Letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Las masas con *psyllium* presentaron valores de viscosidad compleja leve y significativamente mayores al control entre los 25 y 60 °C (figura 3.62). La presencia de *psyllium* en la masa promovió una mayor resistencia de la misma a fluir durante el calentamiento hasta los 60 °C, debido posiblemente a la formación de una estructura con características de gel débil. Entre los 60 y 90 °C las muestras con el aditivo presentaron menores valores de viscosidad, debido a que el agregado de *psyllium* en la masa dejó menos agua disponible para la hidratación del almidón y la gelatinización ocurrió en menor medida en relación al control. Este efecto fue más marcado para la mayor concentración del aditivo, la cual presentó menor η^* que el control a temperaturas cercanas a los 90 °C. Con el consiguiente aumento de temperatura se observó que las masas con *psyllium* fueron menos viscosas que el control, debido posiblemente a que la formación de una estructura tipo gel ejerció una menor influencia sobre las propiedades reológicas en relación al efecto sobre la gelatinización.

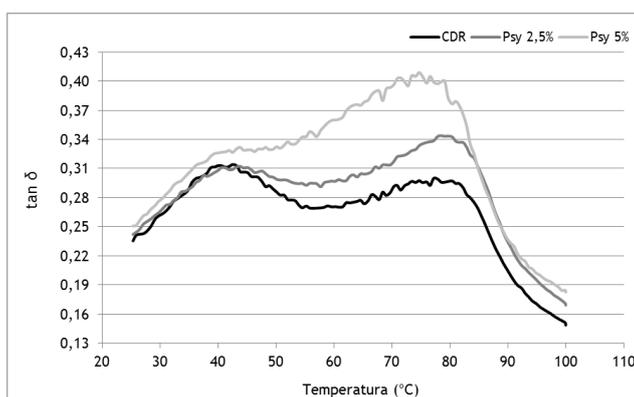


Figura 3.61 Efecto de la temperatura en la $\tan \delta$ de masas LG sin aditivos y con *psyllium*. C: muestra control, Psy: *psyllium*.

Si bien en la masa el agua disponible para que el hidrocóide se hidrate es mucho menor debido a la presencia de otros componentes, los resultados obtenidos indican que el *psyllium* forma una cierta estructura tipo gel, que se manifiesta más entrelazada que el control hasta los 50 °C y promueve un leve pero significativo aumento de la viscosidad del sistema. A pesar de que resiste el calentamiento de manera estructurada durante menos tiempo que, por ejemplo la masa con goma xántica; la pieza logra conservar su estructura y no expandirse en dirección lateral. Además las capas de masa no fluyen de manera tal que al finalizar el horneado se obtiene una estructura laminada.

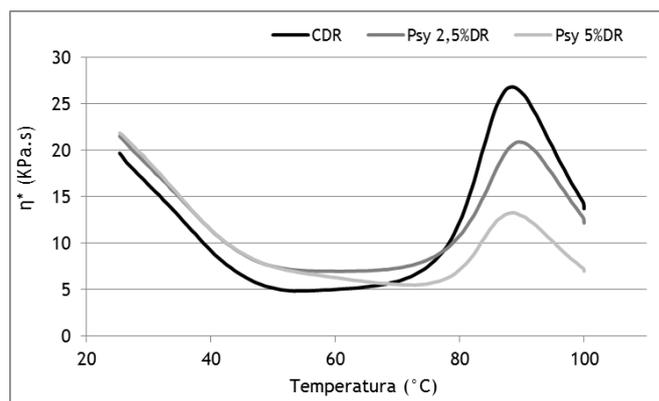


Figura 3.62 Efecto de la temperatura en la viscosidad compleja de masas LG sin aditivos y con *psyllium*. η^* : viscosidad compleja, C: muestra control, Psy: *psyllium*.

Distribución del agua durante el calentamiento

El contenido total de humedad de la muestra con un 2,5 % de *psyllium* antes del descanso refrigerado no fue significativamente diferente al control, a pesar de que la cantidad de agua incorporada en la formulación con el aditivo fue mayor (tabla 3.23). La curva de la primera derivada de la pérdida de peso de la muestra Psy 2,5 % se deconvolucionó, al igual que el control, en cuatro poblaciones (figura 3.63) con diferentes valores de temperatura máxima (tabla 3.23). Las poblaciones A1 y A2 se asociaron con agua débilmente atrapada ya que se presentaron por debajo de los 100 °C. Las poblaciones A3 y A4 se presentaron a temperaturas mayores a 100 °C, por lo que se corresponden con agua fuertemente atrapada.

La presencia de *psyllium* en la masa provocó una redistribución de las poblaciones de agua de manera tal que la cantidad de agua que se presentó como menos atrapada fue mayor (~49 %) que en el control (~35 %). Los grupos hidroxilos presentes en las moléculas de arabinosa y xilosa en la estructura del polisacárido interactúan con las moléculas de agua a través de puentes de hidrógeno, formando un gel (Temudo et al. 2008). Esto provoca que la cantidad de agua que puede ser evaporada más fácilmente sea mayor en la masa con el aditivo que en el control. En la figura 64 se observa como en la muestra Psy 2,5 %, está presente la población A2 débilmente atrapada, la cual no se corresponde con ninguna población del control. A su vez debido a la presencia del *psyllium*, el agua disponible para establecer interacciones con los otros componentes disminuye; y por lo tanto en Psy 2,5 % no se observó la población A5 fuertemente atrapada, la cual sí estuvo presente en el control.

Sin embargo, a pesar de la reorganización en las poblaciones de agua que provocó el aditivo, no se observaron diferencias significativas en los valores de humedad total entre los diferentes sistemas durante el calentamiento. Esto puede estar asociado a

que con *psyllium* en la masa se observa, en general, un aumento de las temperaturas de pico de las poblaciones, en relación al control (tabla 3.23). Es decir que su presencia en el sistema promovió un mayor entrapamiento del agua y por lo tanto la cantidad total de agua liberada no fue significativamente diferente al control a pesar de haber requerido más agua en la formulación.

Tabla 3.23 Parámetros del análisis termogravimétrico de masas LG con y sin *psyllium* antes y después del descanso refrigerado.

Muestra	Humedad total (%)	T _{pico} (°C)				
		A1	A2	A3	A4	A5
Control	(56 ±5) ^a	(77±1) ^a		(97±4) ^a	(112±1) ^a	(126±2)
Psy 2,5 %	(58,9±0,3) ^a	(84±6) ^b	(100±4)	(109±1) ^b	(118±1) ^b	
Control _{DR}	(79±5) ^b	(74±5) ^b	(94±2) ^a	(109±2) ^a	(119±3) ^a	(124±3)
Psy 2,5 % _{DR}	(68±3) ^a	(83±2) ^a	(96±1) ^a	(109±1) ^a	(119±2) ^a	

T: temperatura, A: población de agua, Psy: *psyllium*, DR: descanso refrigerado. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras con y sin DR ($p \leq 0,05$).

Luego de que las masas fueron sometidas al descanso refrigerado, la presencia de *psyllium* provocó que una mayor proporción de agua se encontrara más débilmente atrapada (~40 %) en relación al control (~32 %). Sin embargo, de los tres hidrocoloides evaluados el *psyllium* presentó el menor porcentaje de agua evaporable por debajo de los 100 °C. En este sentido, Psy 2,5 % se mostró más parecida al control, con una mayor proporción de agua fuertemente atrapada en relación a las masas con goma xántica y HPMC. Esto se expresó en panificados con *psyllium* de estructuras internas menos firmes y más blandas que las muestras con los demás hidrocoloides evaluados, mientras que no se diferenciaron del control.

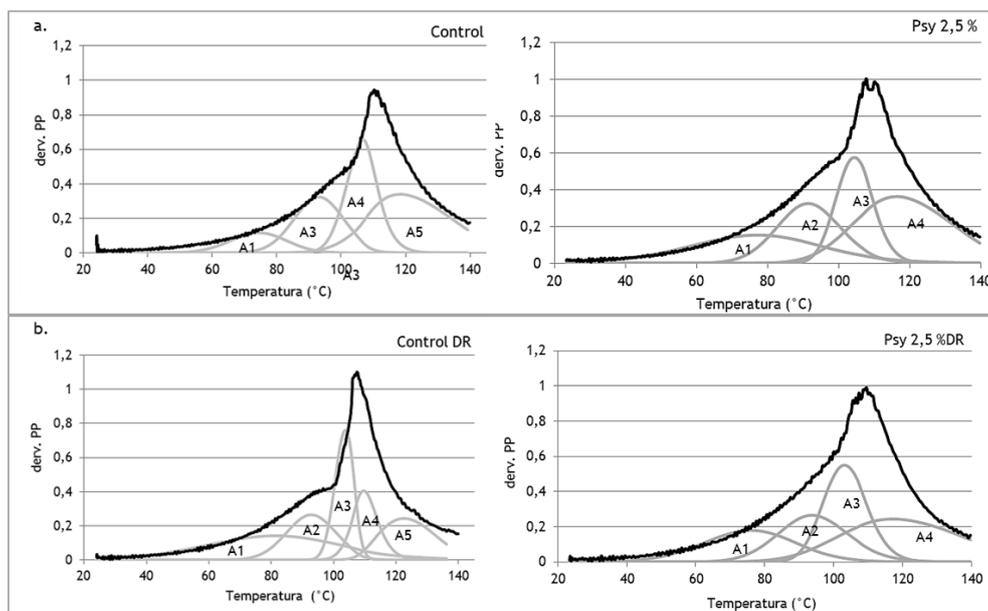


Figura 3.63 Termogramas de la derivada de la pérdida de peso de masas LG sin aditivos y con *psyllium*. a. Antes del descanso refrigerado. b. Después del descanso refrigerado. Derv: primera derivada, PP: pérdida de peso, A: población de agua, Psy: *psyllium*, DR: descanso refrigerado.

La utilización de hidrocoloides e ingredientes de altos contenidos de fibra provocan un efecto de suavizado de la estructura interna, especialmente en panificados LG; debido a la gran capacidad de absorber agua y retenerla durante el proceso de horneado. Particularmente los ingredientes que poseen altos contenidos de fibra soluble, como el *psyllium*, tienen un efecto positivo en la ternura de la miga de productos como el pan, ya que colaboran en la retención de la humedad de la estructura. Cappa et al. (2013) informaron una disminución de la firmeza de la miga en panes LG cuando se incorporó *psyllium*, con una gran capacidad de retención de agua, en relación a otros aditivos.

En la masa con *psyllium* no se observó un aumento general de las temperaturas de pico de las poblaciones, en relación al control, excepto en la población A1 (tabla 3.23). Sin embargo, la presencia de *psyllium* provocó un aumento del área relativa de A1, la cual se presentó más entrapada que antes del tratamiento y de A4, relacionada inicialmente con agua más entrapada. Esto puede haber provocado que durante el calentamiento, la cantidad de agua que se encontró más entrapada fuera mayor a la muestra con el aditivo antes del tratamiento y más similar al control con descanso refrigerado.

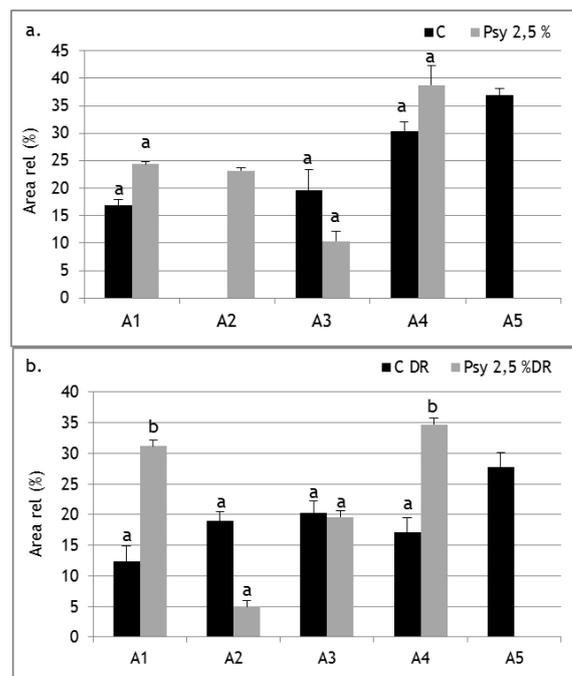


Figura 3.64 Áreas relativas de las poblaciones de agua de masas LG sin aditivos y con *psyllium*. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. A: población de agua, Psy: *psyllium*, DR: descanso refrigerado. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas entre las poblaciones de cada muestra ($p \leq 0,05$).

3.3. CONCLUSIONES

La presencia de los hidrocoloides modificó las propiedades de las masas y de las piezas laminadas, como así también las interacciones entre los componentes del sistema (figura 3.65). Mediante la incorporación de los hidrocoloides en ambas concentraciones se logró la obtención de panificados laminados LG de buenas características tecnológicas. En general, las muestras con los aditivos presentaron estructuras internas en donde primó la presencia de capas en lugar de alveolos, con

mayores valores de dimensión fractal y bajos de contraste. El agregado de hidrocoloides no provocó un crecimiento indeseable en dirección horizontal, y si bien no se observó un aumento en la relación de altura para los productos con aditivos; estos fueron más altos al finalizar el horneado y de mayor volumen específico que el control. La presencia de los hidrocoloides reforzó la estructura, la cual se presentó como más firme que el control. Se observó la necesidad de encontrar un equilibrio entre las propiedades de la masa y los parámetros de textura, que si bien por un lado impiden que el producto colapse durante el horneado, por otro lado ejercen un efecto negativo sobre la firmeza y masticabilidad del producto.

La **goma xántica** provocó una rigidización de la masa, que se presentó como más resistente a la deformación. Durante la relajación el sistema mostró una mayor capacidad elástica y grado de recuperación. La presencia de goma xántica en el sistema tuvo un efecto sobre la fracción proteica de la masa. A una menor concentración las moléculas del hidrocoloide interfirieron en las interacciones entre el agua y los otros componentes y entre los componentes presentes en la masa, como proteínas de soja y almidones. Mientras que a una mayor dosis la repulsión entre las cadenas del aditivo fue el efecto que mayormente dominó el comportamiento de la fracción proteica y por lo tanto su solubilización en las distintas fracciones. Con ambas dosis evaluadas se observó un aumento del contenido de proteínas que permanecieron retenidas en el precipitado por estar interaccionando a través de enlaces covalentes y estuvieron formadas en el caso de 2,5 % por subunidades de alta masa molecular.

Por otro lado, se logró asociar una población de agua con la fracción de agua unida a la goma xántica y se observó como la presencia de este aditivo provocó una mayor estructuración de las poblaciones de agua, como así también una reorganización de las mismas entre los componentes de la masa. Esto revela que la goma xántica compite por el agua presente en la masa y por lo tanto el/los componente/s asociados a las distintas poblaciones se ven hidratados en diferente medida según la dosis de hidrocoloide presentes en el sistema. La estructura discontinua de la masa LG sin aditivos se vio en cierta forma reforzada con la incorporación de goma xántica, a través de la formación de una matriz compuesta por proteínas hidratadas y el hidrocoloide, en donde los gránulos de almidón parcialmente hidratados fueron contenidos. Esta mayor estructuración de la masa permitió asociarla con un sólido viscoelástico de mayor rigidez en relación a la muestra sin aditivo. Lo cual hizo posible un mejor manejo de la misma durante el hojaldrado y laminado, obteniéndose así una pieza de masa laminada que inició el horneado con mayor altura que el control.

La incorporación de goma xántica en la masa generó un sistema, que durante el calentamiento, presentó una estructura más compleja y entrelazada que el control hasta aproximadamente los 80 °C. La mayor respuesta viscosa de la masa con el aditivo se asoció con la formación de una estructura de tipo "gel débil", a pesar de que seguramente la capacidad de hidratación del hidrocoloide se vio reducida debido a la competencia por el agua entre los componentes del sistema. Además la retención de agua por parte del aditivo generó un retraso de la gelatinización y la misma ocurrió en menor proporción; por consiguiente durante la gelatinización del almidón la masa con goma xántica fue menos viscosa que el control.

La mayor viscosidad compleja durante la mayor parte del calentamiento de la masa con goma xántica pudo asociarse con el menor crecimiento vertical de la pieza laminada durante el horneado en relación al control, el cual mostró una menor resistencia a fluir. Sin embargo, debido a la mayor altura inicial de los panificados, al finalizar el horneado estos fueron más altos y con mayores valores del factor de forma y volumen específico que el control. Por otro lado, la presencia de una estructura laminada de textura rugosa y compleja en el panificado con goma xántica, se

relacionó con una mayor viscosidad de la masa durante el calentamiento y el retraso en la gelatinización. La mayor resistencia a fluir debido a la presencia del aditivo y la menor gelatinización del almidón, promovió la preservación de la integridad de las capas de masa en el horneado.

En concordancia con estos resultados, en la masa con el aditivo una mayor proporción agua se encontró más débilmente atrapada y necesitó menor temperatura para ser liberada, por lo que el hidrocoloide debilitó o disminuyó el número de interacciones proteínas-agua y almidón-agua. Esto tuvo un efecto en la textura de los productos con hidrocoloide, los cuales resultaron más firmes y con mayores valores de masticabilidad que el control.

La incorporación de **HPMC** permitió obtener un sistema con mayor resistencia a la deformación que el control, pero que luego de ser sometido al descanso refrigerado presentó mayor fluidez y un comportamiento asociado al de un líquido viscoelástico. Las masas con este aditivo pudieron ser laminadas y hojaldradas en mejor medida que el control y presentaron valores de altura levemente mayores al control. El agregado de HPMC provocó un efecto en la fracción proteica de la masa, al igual que en el caso con goma xántica. Del mismo modo, se observó una estructuración de las poblaciones de agua en las masas con el aditivo.

Durante el calentamiento, la incorporación de HPMC en ambas dosis promovió la formación de un sistema de estructura más compleja y entrelazada con mayor cantidad de puntos de contacto en comparación con el control. El desarrollo de esta estructura ocurrió hasta diferentes valores de temperatura relacionados con la dosis de HPMC. Hubo un efecto del hidrocoloide en la gelatinización del almidón, la presencia del aditivo generó una menor disponibilidad del agua en el sistema para dar inicio a la gelatinización. También se observaron diferencias en el perfil de la $\tan \delta$ entre las masas con ambas dosis del aditivo, las cuales sugirieron la formación de una estructura tipo gel en la muestra con la mayor concentración. Mientras que en el sistema con una menor cantidad de hidrocoloide el proceso de gelificación fue incompleto o no tuvo lugar. Por lo tanto presentó, hasta aproximadamente los 60 °C, una menor viscosidad newtoniana que la masa con mayor cantidad de HPMC y el control. Por lo que el mayor crecimiento vertical de la pieza laminada con la dosis más pequeña del aditivo durante el horneado se pudo asociar con la menor viscosidad de la masa. Además la presencia de una estructura interna laminada, compleja y rugosa en los productos horneados denotó la capacidad del aditivo para reforzar la integridad estructural de las micelas de grasa y de aire durante el horneado. La masa con una mayor dosis de HPMC fue más viscosa y con una mayor resistencia a la deformación, por lo que la capacidad de la pieza de masa laminada para expandirse con la presión del vapor de agua generado disminuyó. Por lo tanto experimentó un menor crecimiento y dio como resultado un producto de estructura interna más firme.

El *psyllium* provocó un efecto en el comportamiento reológico de las masas similar al observado en las muestras con HPMC luego del descanso refrigerado. Se observaron sistemas con mayor fluidez y menor viscosidad newtoniana durante la deformación y una menor capacidad de recuperación durante la relajación. De la misma forma que con la incorporación de los otros hidrocoloides, se observó una mayor estructuración y reorganización de las poblaciones de agua. Las masas con el aditivo soportaron en mejor medida el laminado y hojaldrado e iniciaron el horneado con una mayor altura que el control. A pesar de que únicamente con la menor dosis el sistema creció en dirección vertical, con ambas concentraciones los productos fueron más altos que el control.

Durante el calentamiento únicamente la masa con una mayor dosis se presentó como un sistema más estructurado y elástico que el control. Ambas concentraciones

provocaron un leve pero significativo aumento de la viscosidad newtoniana del sistema debido a la formación de una estructura tipo gel entre los 25 y 60 °C. Por encima de esta temperatura el hidrocoloide provocó un leve retraso en la gelatinización del almidón lo cual provocó una menor viscosidad del sistema. Esto le permitió a las piezas de masa laminada conservar su estructura y no expandirse en dirección lateral obteniéndose una estructura laminada al finalizar el horneado. La presencia de *psyllium* en las masas generó una reorganización de las poblaciones de agua entre los componentes de la masa y una mayor proporción de agua se vio más débilmente atrapada en relación al control, por lo que la presencia del aditivo facilitó la evaporación del agua del sistema. Sin embargo, la proporción de agua retenida por encima de los 100 °C para la muestra con *psyllium* fue mayor a la cantidad observada en las muestras con los otros aditivos. Esto se relacionó con productos con *psyllium* de menor firmeza en relación a los otros aditivos.

Los hidrocoloides ejercieron un efecto en el sistema laminado LG, el cual guardó una estrecha relación con las estructuras moleculares y la conformación de las cadenas de cada uno de ellos. Esto determinó las interacciones en el sistema y el comportamiento reológico de la masa y consecuentemente influyó las características tecnológicas del panificado.

Parámetros		Efecto de la incorporación de		
		Goma Xántica	HPMC	Psyllium
Calidad tecnológica		<ul style="list-style-type: none"> ↑ altura de masa laminada después del hojaldrado Crecimiento durante el horneado: ↓ vertical = horizontal ↑ altura del producto ↑ factor de forma ↑ volumen específico ↑ firmeza y masticabilidad ↓ contraste ↑ dimensión fractal → presencia de láminas 	<ul style="list-style-type: none"> Leve ↑ altura de masa laminada después del hojaldrado Crecimiento durante el horneado: vertical ↑ 2,5%, ↓ 5% = horizontal ↑ altura del producto Factor de forma: ↓ 2,5%, ↑ 5% ↑ volumen específico ↑ firmeza y masticabilidad ↓ contraste ↑ dimensión fractal → presencia de láminas 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ altura de masa laminada después del hojaldrado Crecimiento durante el horneado: vertical ↑ 2,5%, ↓ 5% = horizontal ↑ altura del producto ↑ factor de forma ↑ volumen específico = firmeza y masticabilidad Contraste: = 2,5%, ↓ 5% Dimensión fractal: = 2,5%, ↑ 5% → presencia de láminas
		<ul style="list-style-type: none"> ↓ fluidez ↑ comportamiento sólido viscoelástico ↑ resistencia a la deformación ↑ viscosidad 	<ul style="list-style-type: none"> ↓ fluidez ↑ comportamiento sólido viscoelástico ↑ resistencia a la deformación ↑ viscosidad <p>Efecto mas marcado en 2,5%</p>	<ul style="list-style-type: none"> ↑ fluidez ↑ comportamiento líquido viscoelástico ↓ resistencia a la deformación = viscosidad
Comportamiento reológico frente a la aplicación de un esfuerzo	Antes del DR	<ul style="list-style-type: none"> 2,5%: = capacidad elástica 5%: ↓ capacidad elástica ↑ viscosidad 	= capacidad elástica	= capacidad elástica 5% ↓ resistencia a la deformación
	Después del DR	<ul style="list-style-type: none"> 2,5%: ↑ capacidad elástica ↓ tiempo de recuperación 5%: no se midió 	= capacidad elástica ↑ tiempo de recuperación	= capacidad elástica = tiempo de recuperación
Proteínas	Buffer fosfato	<ul style="list-style-type: none"> 2,5% > C: - sub. prot. de alta masa molecular 5% = C 	<ul style="list-style-type: none"> 2,5% > C: - sub. prot. de masa molecular < 28.000 5% < C 	<ul style="list-style-type: none"> 2,5% > C: - sub. prot. de masa molecular 97.000, aparición banda a 200.000 5% < C
	Buffer+SDS	<ul style="list-style-type: none"> 2,5% < C: -Xan compite por el H₂O → ↓ proteínas-H₂O -conformación extendida → reordenamiento de proteínas en interacciones mas fuertes - sub. prot. menores a 28.000 -efecto sobre interacciones no covalentes de los anillos hexagonales de los polip. A y B de la proteína de soja 5% > C: -efecto de repulsión entre Xan y proteínas de soja → cambio a conformación mas compacta → ↑ proteínas-H₂O 	<ul style="list-style-type: none"> 2,5% < C: -HPMC compite por el H₂O → ↓ proteínas-H₂O -moléculas hidratadas de HPMC impiden proteínas-proteínas → reordenamiento en agregados de menor masa molecular - sub. prot. menores a 28.000 5% > C 	<ul style="list-style-type: none"> 2,5% < C: - sub. prot. de masa molecular 200.000 2,5% < C (pero > 2,5%)
	Precipitado	<ul style="list-style-type: none"> 2,5% > C: - sub. prot. masa molecular entre 110.000-97.000 y < 45.000 5% > C 		2,5% = C
Movilidad del H ₂ O	Antes y después del DR	<ul style="list-style-type: none"> ↑ poblaciones → 5 poblaciones de H₂O (población A4 = H₂O-Xan) ↑ intensidades relativas de las poblaciones → reorganización de las moléculas de H₂O, ≠ grado de hidratación de los componentes ↓ tiempos de relajación T2 → ↑ estructuración y ↓ movilidad de las poblaciones 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ poblaciones → 5 poblaciones de H₂O (población A4 = H₂O-HPMC) ↑ intensidades relativas de las poblaciones → reorganización de las moléculas de H₂O, ≠ grado de hidratación de los componentes ↓ tiempos de relajación T2 → ↑ estructuración y ↓ movilidad de las poblaciones 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ poblaciones → 5 poblaciones de H₂O (población A4 = H₂O-Psy) ↑ intensidades relativas de las poblaciones → reorganización de las moléculas de H₂O, ≠ grado de hidratación de los componentes ↓ tiempos de relajación T2 → ↑ estructuración y ↓ movilidad de las poblaciones
Comportamiento reológico durante el calentamiento	Después del DR	<ul style="list-style-type: none"> -G' > G'' → comportamiento viscoelástico -G': 25-80°C: G'-Xan > G'-C → Xan= sistema con ↑ puntos de contacto 80-90°C: Temp-d1, G'-Xan > Temp-d1, G'-C → ↓ H₂O disponible para inicio de gelatinización por absorción de Xan y se retrasa el inicio de la gelatinización -G'': G''-Xan > G''-C → formación de estructura tipo gel débil -n*: 25-80°C: η*-Xan > η*-C → formación de estructura tipo gel débil 80-90°C: η*-Xan < η*-C → Xan retrasa la gelatinización y ocurre en menor proporción 90-100°C: η*-Xan > η*-C → prevalencia de la formación de estructura tipo gel por sobre la disminución de la gelatinización 	<ul style="list-style-type: none"> -G' > G'' → comportamiento viscoelástico -G': 25-80°C: G'-HPMC > G'-C → HPMC= sistema con ↑ puntos de contacto Temp > 80 °C: G'-2,5% = G'-C > 60 °C: G'-5% < G'-C Temp-d1, G'-HPMC > Temp-d1, G'-C → ↓ H₂O disponible para inicio de gelatinización por absorción de HPMC y se retrasa el inicio de la gelatinización -G'': 25-60°C: G''-2,5% = G''-C G''-5% > G''-C → formación de estructura tipo gel 60-100°C: G''-5% < G''-C -tan δ: 25-80°C: 2,5% y C → max a 40°C 5% → max a 40 y 60° (comportamiento tipico de gelificación de HPMC) -n*: 25-60°C: η*-5% = η*-2,5% > η*-C 60-90°C: η*-5% < η*-C → HPMC5% retrasa la gelatinización y ocurre en menor proporción 90-100°C: η*-5% > η*-C → prevalencia de la formación de estructura tipo gel por sobre la disminución de la gelatinización 	<ul style="list-style-type: none"> -G' > G'' → comportamiento viscoelástico -G': 25-80°C: G'-2,5% < G'-C G'-5% > G'-C Temp > 70 °C: G'-Psy < G'-C Temp-d1, G'-Psy > Temp-d1, G'-C → ↓ H₂O disponible para inicio de gelatinización por absorción de Psy y se retrasa <u>levemente</u> el inicio de la gelatinización -G'': 25-70°C: G''-Psy > G''-C → formación de estructura tipo gel 70-100°C: G''-Psy < G''-C -tan δ: 5% > 2,5% > C -n*: 25-60°C: η*-Psy > η*-C → formación de estructura tipo gel 60-90°C: η*-Psy < η*-C → Psy retrasa el inicio de la gelatinización y ocurre en menor proporción 90-100°C: η*-5% < η*-2,5% < η*-C
	Antes y después del DR	<ul style="list-style-type: none"> ↑ poblaciones → 5 poblaciones de H₂O (población A2 = H₂O-Xan) -Poblaciones A1,A2,A3 < 100°C → H₂O débilmente atrapada A4,A5 > 100°C → H₂O fuertemente atrapada ↑ áreas relativas de las poblaciones → reorganización de las moléculas de H₂O -%H₂O evaporada < 100°C: Xan > C → H₂O débilmente atrapada y ↑ facilidad para evaporar que el agua unida al almidón gelatinizado 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ poblaciones → 5 poblaciones de H₂O (población A2 = H₂O-HPMC) -Poblaciones A1,A2 < 100°C → H₂O débilmente atrapada A3,A4,A5 > 100°C → H₂O fuertemente atrapada ↑ áreas relativas de las poblaciones → reorganización de las moléculas de H₂O -%H₂O evaporada < 100°C: HPMC > C → H₂O débilmente atrapada y ↑ facilidad para evaporar que el agua unida al almidón gelatinizado 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ poblaciones → 4 poblaciones de H₂O (población A2 = H₂O-Psy) -Poblaciones A1,A2 < 100°C → H₂O débilmente atrapada A3,A4 > 100°C → H₂O fuertemente atrapada ↑ áreas relativas de las poblaciones → reorganización de las moléculas de H₂O -%H₂O evaporada < 100°C: Psy > C → H₂O débilmente atrapada y ↑ facilidad para evaporar que el agua unida al almidón gelatinizado Después: -%H₂O evaporada < 100°C: Psy > C pero ↑ diferencia en relación a los otros aditivos → hay ↑ H₂O retenida por encima de los 100°C vs. otros hidrocoloides

Figura 3.65 Cuadro comparativo del efecto de la incorporación de hidrocoloides en relación a la muestra sin aditivos. C: control, Xan: goma xántica, Psy: psyllium, ε: esfuerzo, sub. prot.: subunidades proteicas, Temp.: temperatura.

Capítulo 4

Efecto de la incorporación de enzimas y emulsionantes sobre las propiedades estructurales de las masas y la calidad tecnológica de los panificados

Las dificultades para elaborar panificados libres de gluten llevan al estudio continuo del efecto de una amplia variedad de aditivos, de manera tal de mejorar las propiedades de las masas y las características tecnológicas de los productos. La aplicación de enzimas ha sido evaluada como herramienta para modificar la funcionalidad de las proteínas de las harinas libres de gluten y mejorar sus características panaderas al promover la formación de redes proteicas. La mayoría de los estudios realizados abordan la aplicación de glucosa oxidasa, α -amilasa y transglutaminasa en productos como el pan. Mientras que el efecto de ciertas enzimas sobre el almidón contenido en el sistema, como la ciclodextrina glucano transferasa, ha sido poco estudiado. Por lo tanto, resulta interesante evaluar la capacidad de enzimas que actúan sobre la fracción almidonosa e indirectamente sobre la proteica. De manera tal de generar una estructura que presente buenas propiedades reológicas y genere un producto panificado laminado LG de características tecnológicas aceptables.

Por otro lado, los emulsionantes han sido considerados como agentes estructurantes en sistemas LG. Estos aditivos son ingredientes lipídicos que funcionan como estabilizantes de la masa, cuando interactúan con la fracción proteica de la misma, y como suavizantes de la miga cuando se acomplejan con el almidón gelatinizado durante el horneado (Goesaert et al. 2005). Los emulsionantes han sido utilizados en la industria de la panificación desde hace más de 60 años con el objetivo de retardar el endurecimiento de la miga (Pisesookbunternng y D'Appolonia 1983). Este efecto se relaciona con la habilidad de los emulsionantes para formar complejos insolubles con la amilosa durante el horneado. Autores como Onyango et al. (2009) evaluaron el efecto de diferentes emulsionantes sobre el endurecimiento de la miga en panes libres de gluten elaborados a partir de almidón pregelatinizado de mandioca y harina de sorgo. Sin embargo, no se han encontrado estudios sobre el efecto de la incorporación de enzimas y emulsionantes en panificados laminados libres de gluten.

4.1 MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó la combinación m2, compuesta por 35 % de harina de arroz, 45 % de almidón de mandioca y 20 % de harina de soja. Se evaluó la incorporación de enzimas y emulsionantes según la tabla 4.1. Previamente se realizaron ensayos de panificación con dos dosis de emulsionantes, 0,5 y 1 %; y se determinaron algunos parámetros de calidad tecnológica sobre los productos. Debido a la difícil maquinabilidad de las masas y la mala calidad de las muestras con la menor dosis, se decidió profundizar en el efecto de la incorporación de emulsionantes utilizando una dosis intermedia, 1 %, y una dosis, 2,5 %. En el caso de las enzimas, las dosis evaluadas se eligieron en función del trabajo realizado por otros autores como Steffolani et al. (2010) y Gujral et al. (2003a).

Tabla 4.1 Emulsionantes y enzimas empleados

Aditivo	Marca	Concentración (g/100 g harina)	Muestra
Estearoil Lactilato de Sodio	Alpha Emulsionantes	1 2,5	SSL1 % SSL 2,5 %
Ácidos Grasos del Ácido Diacetil Tartárico	Alpha Emulsionantes	1 2,5	Datem 1 % Datem 2,5 %
Glucosa Oxidasa (10000 U/g)	Novozymes	0,01 0,02	GOX 0,01 % GOX 0,02 %
Ciclodextrina Glucano Transferasa (3 KNU/g)	Novozymes	0,2 0,8	CGTase 0,2 % CGTase 0,8 %

4.1.1 Elaboración de panificados laminados salados libres de gluten

Los panificados laminados salados libres de gluten (LG) se elaboraron utilizando la formulación detallada anteriormente en la tabla 3.2 del capítulo 3. Se realizaron panificaciones con la incorporación de emulsionantes y enzimas según las dosis detalladas en la tabla 4.1 y sin aditivos (muestra control). La cantidad de agua incorporada en todas las muestras fue 50,5 % y se determinó experimentalmente de acuerdo a las condiciones de trabajo y en base a pruebas previas sobre la consistencia deseable de la masa luego del amasado. El procedimiento para la elaboración de los panificados se realizó según lo detallado anteriormente en el capítulo 3.

Se elaboraron al menos tres productos con cada emulsionante, enzima y sin aditivos, y el procedimiento se realizó por duplicado.

4.1.2 Estudio de las interacciones en el sistema masa

Se prepararon piezas de masa según la formulación descrita en la tabla 2 del capítulo 3 y con la incorporación de enzimas y sin aditivos. Las determinaciones se realizaron sobre piezas de masa sin laminar antes y después del descanso en heladera a 9 °C durante 24 h.

Análisis de la fracción proteica

El análisis de la fracción proteica se realizó sobre piezas de masa con ambas dosis de enzimas y sin aditivos.

Extracción de proteínas. Las proteínas se extrajeron secuencialmente a partir de 1 g de masa previamente liofilizada y deslipidizada según se describió previamente en el capítulo 3 (figura 3.1). A partir de la extracción secuencial se obtuvieron las fracciones de sobrenadante F1 y F2 y el precipitado. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

Contenido de proteínas. El contenido de nitrógeno de las muestras de masa, previamente liofilizadas y deslipidizadas, y de las fracciones F1, F2 y el precipitado se determinó de acuerdo al micro método de Kjeldahl modificado para ácido bórico, como se describió en el capítulo 1.

Electroforesis bajo condiciones reductoras. Cada fracción de la extracción secuencial de proteínas (F1 y F2) y el precipitado fueron analizadas por electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) bajo condiciones reductoras como se describió previamente en el capítulo 3.

Comportamiento reológico

El comportamiento reológico se determinó sobre piezas de masa con la menor dosis de ambas enzimas en estudio y sin aditivos.

Ensayo de deformación-relajación. La evaluación del carácter viscoelástico de las masas durante un período de tiempo se realizó mediante un ensayo de compresión-relajación. En el cual se empleó un reómetro de esfuerzo controlado RHEOPLUS/32 (Anton Paar, Alemania), con una geometría de platos paralelos (diámetro= 25 mm) y se ajustó una apertura de 2 mm. Las mediciones se realizaron según se describió en el capítulo 2. Los datos obtenidos fueron analizados según el modelo de Burgers. Las determinaciones se realizaron por triplicado y se evaluaron cuatro porciones de cada muestra de masa.

4.1.3 Estudio del efecto de la temperatura en la estructura de la masa

Se prepararon piezas de masa con la incorporación de la menor dosis de ambas enzimas según la tabla 4.1 y sin aditivos. Las determinaciones se realizaron sobre piezas de masa sin laminar después del descanso en heladera a 9 °C durante 24 h.

Comportamiento reológico

Barrido de temperatura. Las determinaciones se llevaron a cabo mediante un reómetro de esfuerzo controlado RHEOPLUS/32 (Anton Paar, Alemania) y se utilizó una geometría de platos paralelos (diámetro= 25 mm) y 2 mm de apertura. Se evaluaron piezas de masa sin laminar después del descanso en heladera a 9 °C durante 24 h. Las determinaciones se realizaron según se describió en el capítulo 2. De estos barridos se obtuvieron los módulos G' y G'' y la $\tan \delta$ en función de la frecuencia y la temperatura. Las determinaciones se realizaron por triplicado y se evaluaron cuatro porciones de cada muestra de masa.

4.1.4 Evaluación de la calidad tecnológica de los panificados

Cambio conformacional

El cambio conformacional que experimentó la pieza de masa durante el proceso de elaboración se evaluó a través de las dimensiones de la masa (altura, ancho y largo), al final del proceso de laminado y hojaldrado o inicio del horneado y sobre el producto final luego de 1 h de horneado. Se calcularon las relaciones de altura y ancho con los valores de estas dimensiones de las piezas de masas no fermentadas en relación a los valores de los productos horneados.

Factor de forma (FF)

El factor de forma de los productos panificados se calculó según lo descrito en el capítulo 1.

Volumen específico (VE)

El volumen específico de los panificados se determinó por desplazamiento de semillas de colza como se describió en el capítulo 1.

Los ensayos sobre las dimensiones de los panificados se realizaron por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra de harina.

Color de la corteza (Método 14-22.01, AACC, 2000)

El color de la corteza se determinó mediante un espectrofotómetro CM-700d/600d KONICA MINOLTA (Ramsey, EUA) según se describió anteriormente. El espectrofotómetro fue calibrado antes de cada ensayo con un plato estándar blanco,

se realizaron mediciones en tres puntos de la corteza de los panificados (en el extremo superior izquierdo, en el centro y en el extremo inferior derecho). La evaluación del color de la corteza de los panificados se realizó por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra.

Análisis del perfil de textura

El análisis del perfil de textura (TPA) se llevó a cabo mediante un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, MA, EUA), equipado con una sonda cilíndrica (diámetro= 25 mm) y una celda de compresión de 5 kg. Para la evaluación se tomó una porción longitudinal de 20 mm de espesor, luego de 1 h de horneado. Las determinaciones se realizaron según se describió en el capítulo 2. Se obtuvieron los siguientes parámetros a través del programa BluehillR 2.27 (Instron, EUA): firmeza, elasticidad y masticabilidad. Las determinaciones se realizaron por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra.

Análisis textural de imágenes

La medición de la textura de las imágenes de cortes transversales de los panificados se llevó a cabo como se describió previamente en el capítulo 1. Se aplicó el algoritmo de Matriz de Co-Ocurrencia en Escala de Grises (GLCM) y se obtuvieron los parámetros relacionados con la textura, como el contraste, la homogeneidad y la entropía. Mediante el método de conteo de cajas se calculó de la dimensión fractal.

Las imágenes en escala de grises de 8-bits de la estructura interna de cada una de las muestras se visualizaron en un gráfico de superficie en tres dimensiones. Los ensayos sobre evaluación de la calidad de los panificados se realizaron por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra de harina.

4.1.5 Análisis Estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó mediante el programa INFOSTAT (Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina). Las determinaciones experimentales fueron comparadas mediante un Análisis de la Varianza (ANAVA), en donde se utilizó la prueba de LSD Fisher para la comparación de medias y la relación entre las respuestas medidas se determinó mediante el coeficiente de regresión de Pearson con un p-valor $\leq 0,05$.

4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.2.1 Efecto de la incorporación de enzimas

Efecto de las enzimas en la calidad tecnológica de los panificados

La evaluación del efecto de la incorporación de enzimas en panificados laminados libres de gluten se realizó mediante la elaboración de los productos (figura 4.1) y la valoración de su calidad tecnológica. Las vistas laterales y superiores de los panificados evidencian que el agregado de las enzimas CGTase y GOX no provocó cambios en el aspecto externo de las muestras. Los productos con enzimas no presentaron láminas, sino más bien escasos estratos gruesos, al igual que el control. Del mismo modo, no se observó que la incorporación de enzimas haya provocado cambios en la altura de las muestras en relación al control.

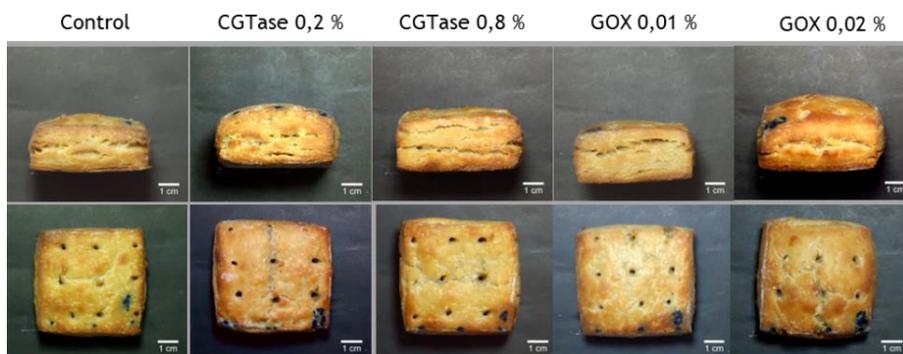


Figura 4.1 Panificados laminados salados libres de gluten con enzimas

Los productos elaborados con ambas enzimas no presentaron valores de altura al finalizar el proceso de laminado y hojaldrado significativamente diferentes al control (figura 4.2). Sin embargo, la tendencia observada mostró que las piezas de masa con enzimas fueron levemente más altas que el control. Del mismo modo la presencia de estos aditivos no provocó cambios en el crecimiento vertical de las muestras durante el proceso de producción, ya que no hubo diferencias significativas entre los valores de la relación de altura. Sin embargo, los productos con enzimas fueron más altos que el control al finalizar el horneado. Esto revela que la tendencia inicial observada con respecto a la altura de las muestras con enzimas le permitió a estos sistemas ser más altos que el control al finalizar la cocción; a pesar incluso de haber experimentado un menor crecimiento. En general el agregado de enzimas no provocó un crecimiento de la pieza de masa en dirección horizontal, excepto un 0,8 % de CGTase (tabla 4.2).

No se observaron diferencias significativas en el factor de forma de los productos cuando se agregaron enzimas (tabla 4.2). Las muestras con enzimas presentaron mayores valores de volumen específico que el control (tabla 4.3). Otros autores observaron el mismo efecto positivo de la CGTase sobre el volumen específico de panes LG de harina de arroz (Gujral et al. 2003b, Shim et al. 2007). En cuanto al color de la corteza, la presencia de las enzimas no provocó cambios en la luminosidad de la misma, únicamente con un 0,02 % de GOX se observó una leve disminución de la luminosidad de la corteza en relación al control (tabla 4.3). Los valores del parámetro a^* fueron positivos para todas las muestras y no se observaron diferencias significativas en la intensidad del color rojo con el agregado de enzimas. La misma tendencia se observó para el parámetro b^* , que da cuenta de la intensidad del color amarillo. La incorporación de CGTase y de un 0,01 % de GOX no provocó cambios en

Tabla 4.2 Relación de ancho (Ra) y factor de forma (FF) de panificados laminados LG. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Muestra	Ra	FF
Control	1,01 ^a	0,44 ^a
CGTase 0,2 %	1,03 ^{ab}	0,48 ^a
CGTase 0,8 %	1,06 ^b	0,46 ^a
GOX 0,01 %	1,02 ^{ab}	0,48 ^a
GOX 0,02 %	1,03 ^{ab}	0,48 ^a

la firmeza de los productos. Mientras que con una dosis mayor de GOX se observó una disminución de este parámetro. El efecto de la GOX ha sido establecido como dependiente del tipo de harina LG y de la dosis empleada. Algunos autores han observado una disminución de la firmeza de panes LG con la incorporación de la misma (Gujral y Rosell 2004b). En este estudio los bajos valores de firmeza fueron acompañados por una disminución del contenido de grupos sulfhidrilos libres y grupos aminos. Lo cual fue asociado con un aumento del grado de entrecruzamiento entre las proteínas de la harina de arroz y la formación de enlaces covalentes adicionales. Sin embargo, otros autores (Renzetti y Arendt 2009) informaron que la presencia de la enzima en panes elaborados con harina de maíz o sorgo generaba un efecto positivo en el volumen y la estructura de la miga. Mientras que una menor firmeza de la miga solo se observó en panes elaborados con harina de maíz. Por el contrario, estos autores no observaron efectos significativos de la GOX en panes con harina de arroz integral o harina de *teff*. En cuanto a la masticabilidad, la muestra GOX 0,01 % no presentó un valor diferente de este parámetro en relación al control (tabla 4.3). Mientras que una mayor cantidad de GOX y ambas dosis de CGTase provocaron una disminución de este parámetro que da cuenta de la fuerza requerida para desintegrar el producto.

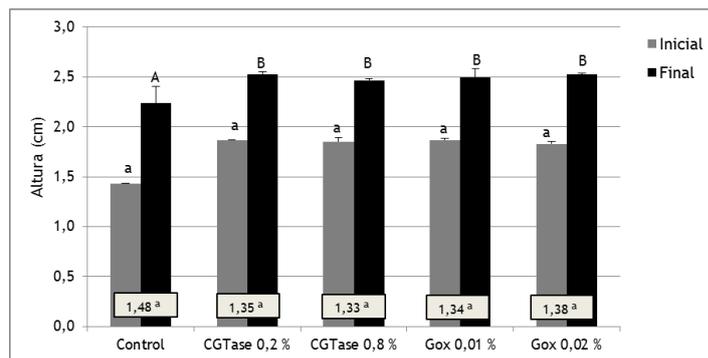


Figura 4.2 Altura y relación de altura de panificados laminados LG sin aditivos y con enzimas. En el recuadro : Relación de altura. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas en cada muestra ($p \leq 0,05$).

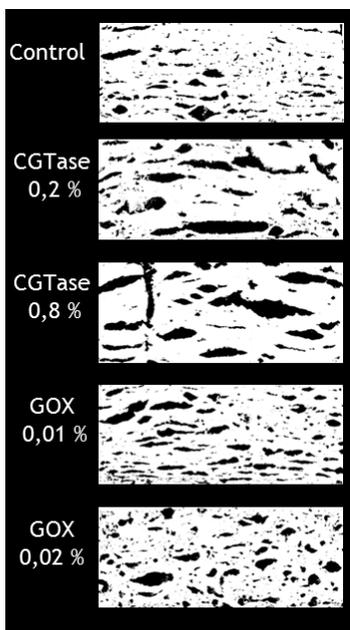


Figura 4.3 Imágenes binarizadas de la estructura interna de panificados laminados libres de gluten con enzimas

El efecto de la incorporación de enzimas en panificados laminados libres de gluten sobre la conformación de la estructura interna se evaluó mediante un análisis textural de imágenes. A partir de este ensayo se obtuvieron parámetros (tabla 4.4) que permiten caracterizar la estructura interna en términos de textura. La figura 4.3 muestra la estructura interna de las muestras elaboradas con las diferentes enzimas y el control. En las muestras con CGTase se observaron espacios vacíos de conformación más alargada que en el control y por lo tanto la presencia de algunas capas de gran espesor. Por otro lado, la incorporación de la menor dosis de GOX permitió obtener una miga con espacios vacíos de conformación levemente alargada. Sin embargo, no se observó la existencia de capas. El producto con la mayor cantidad de GOX presentó una estructura interna más similar al control, en la cual los espacios vacíos perdieron su conformación alargada y adoptaron más bien la forma de alveolos circulares.

Las muestras con enzimas presentaron una estructura interna menos homogénea que el control, aunque esta tendencia no fue significativa (tabla 4.4). Se observó una disminución del contraste con el agregado de enzimas, siendo esta tendencia más marcada cuando la CGTase estuvo presente en ambas dosis. Esto concuerda con el mayor carácter de estructura laminada observado en las muestras con CGTase en relación al control y GOX. La presencia de espacios de conformación más bien alargada provoca que la variación local de la escala de grises de los pixels de la región analizada sea menor cuanto mayor es la cantidad de capas formadas. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en los valores de entropía para las muestras analizadas. Lo cual revela que, si bien la presencia de CGTase generó cambios en la conformación y aspecto de la estructura interna del producto, esto no afectó la aleatoriedad de la distribución de la intensidad de la imagen. La presencia de enzimas permitió obtener estructuras internas con valores de dimensión fractal significativamente mayores al control. Esta tendencia fue más marcada con CGTase, por lo que las muestras con este aditivo se caracterizaron por poseer elementos estructurales de mayor que el control (figura 4.4).

Tabla 4.3 Parámetros de calidad tecnológica de panificados laminados LG

Muestra	VE (cm ³)	L*	a*	b*	Firmeza (N)	Masticabilidad
Control	(64±4) ^a	(56±1) ^{ab}	(12±1) ^a	(31,4±0,1) ^a	(62±4) ^b	(63±3) ^c
CGTase 0,2 %	(76±2) ^b	(56±1) ^b	(11,2±0,3) ^a	(31±1) ^a	(58,5±0,8) ^b	(29,69±0,05) ^{ab}
CGTase 0,8 %	(76±2) ^b	(57±0,5) ^b	(10±1) ^a	(32±2) ^a	(64±1) ^b	(18±1) ^{ab}
GOX 0,01 %	(70±1) ^{ab}	(57±2) ^b	(10±1) ^a	(31±2) ^a	(60±3) ^b	(60±11) ^c
GOX 0,02 %	(74±1) ^b	(53±1) ^{ab}	(12,6±0,2) ^a	(31,4±0,5) ^a	(49±2) ^a	(36±5) ^b

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

La incorporación de enzimas permitió obtener panificados laminados LG de mayor altura y volumen específico. Sin embargo, con la adición de GOX no observó una mejora de las características de la estructura interna. Mientras que la presencia de CGTase permitió obtener productos con una conformación interna rugosa y compuesta por capas, aunque estas características no se expresaron en la apariencia exterior de las muestras.

Tabla 4.4 Parámetros del análisis textural de imágenes de cortes transversales de los panificados laminados LG

Muestra	Homogeneidad	Contraste	Entropía	DF
Control	0,24 ^a	90,42 ^c	7,06 ^b	1,44 ^a
CGTase 0,2 %	0,19 ^a	79,90 ^a	7,21 ^a	1,56 ^c
CGTase 0,8 %	0,20 ^a	79,43 ^a	7,16 ^a	1,62 ^d
GOX 0,01 %	0,19 ^a	84,36 ^{ab}	7,17 ^a	1,49 ^b
GOX 0,02 %	0,19 ^a	81,83 ^{ab}	7,15 ^a	1,48 ^b

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Evaluación de las interacciones en el sistema masa

Efecto de la incorporación de enzimas sobre la fracción proteica

El efecto de la incorporación de CGTase en masas LG antes del descanso refrigerado sobre el contenido de proteínas de las fracciones y el precipitado de la extracción

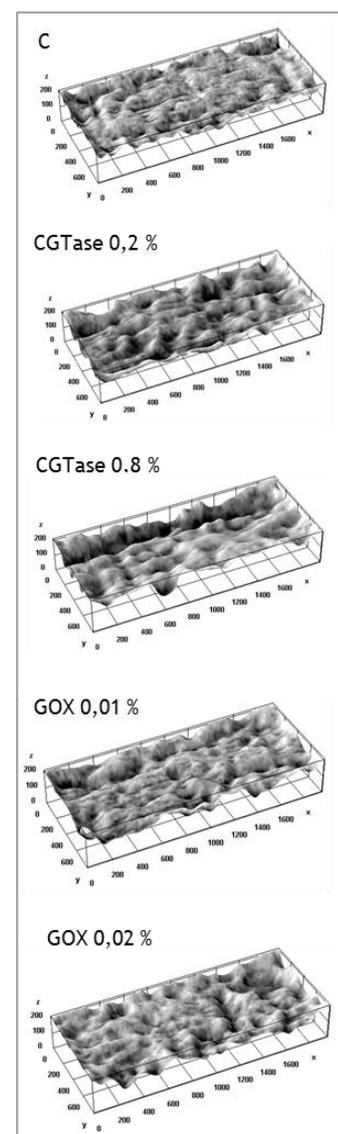


Figura 4.4 Gráficos de superficie de la estructura interna de panificados laminados LG

secuencial se observa en la figura 4.5.a. El contenido de proteínas de la fracción F1 no fue modificado por la presencia de un 0,2 % de CGTase en la masa. Mientras que una mayor dosis de la enzima provocó un leve y significativo aumento de las proteínas que se solubilizaron en estado nativo. Por otro lado, la incorporación de la menor dosis de CGTase generó un leve y significativo aumento de las proteínas que se solubilizaron en buffer fosfato+SDS. Concomitantemente se observó una mayor intensidad en las proteínas del carril correspondiente a CGTase 0,2% en relación al control (figura 4.7.a). El agregado de una mayor cantidad de la enzima provocó una disminución de las proteínas de la F2, igualándose al control. Finalmente, no se observaron modificaciones significativas en el contenido de proteínas del precipitado debido a la presencia de la CGTase. Sin embargo, hubo una disminución de la intensidad de las bandas proteicas con el agregado de la enzima (figura 4.8.a).

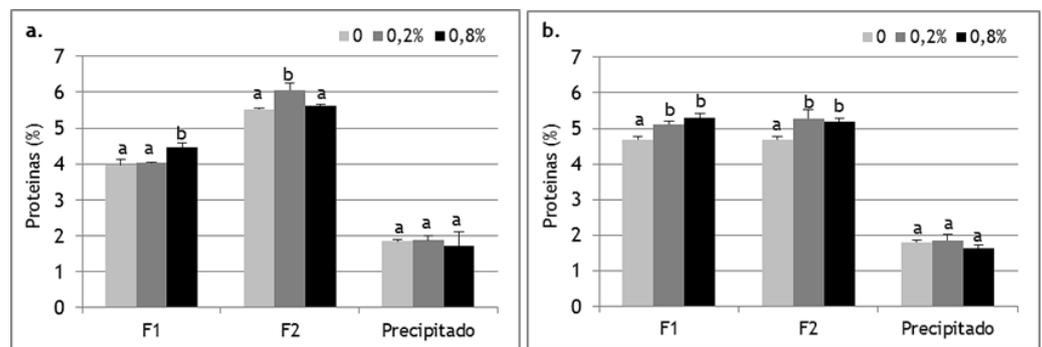


Figura 4.5 Contenido de proteínas de las fracciones de la extracción secuencial de masas LG sin aditivos y con CGTase. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. F1: fracción del sobrenadante en buffer fosfato, F2: fracción del sobrenadante en buffer fosfato+SDS.

Después del descanso refrigerado (figura 4.5.b) con el agregado de ambas dosis de CGTase se observó un aumento significativo de las proteínas que se solubilizaron en buffer fosfato, en relación al control. En cuanto a las proteínas que se encontraban formando enlaces no covalentes, ante la presencia de un 0,2 % de la enzima mostraron un aumento significativo en relación al control. Sin embargo, una mayor dosis de la enzima provocó una disminución, aunque este valor fue mayor al control. No hubo modificaciones significativas en la cantidad de proteínas retenidas en el precipitado con la presencia de la CGTase. Sin embargo, ante el agregado de CGTase se observó la existencia de subunidades proteicas de alto peso molecular que no estuvieron presentes en el control, y que incluso quedaron retenidas en el extremo superior del carril.

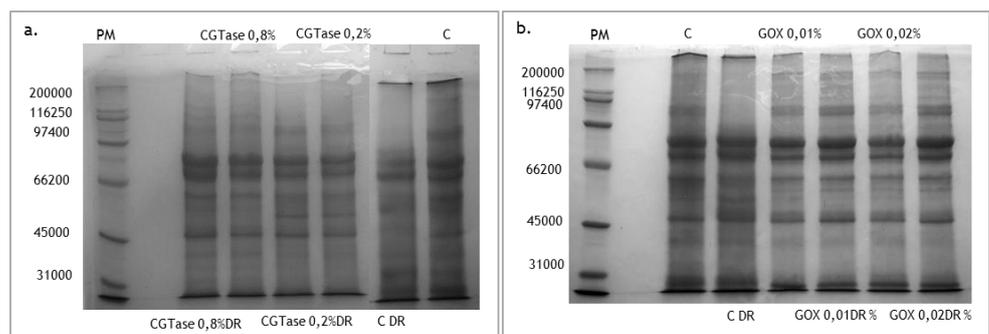


Figura 4.6 Perfil electroforético de las proteínas de las fracciones F1 (sobrenadante en buffer fosfato) de la extracción secuencial en masas LG sin aditivos y con enzimas, antes y después del descanso refrigerado. **a.** Muestras con CGTase. **b.** Muestras con GOX. PM: marcador de peso molecular, C: control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

Entre las reacciones que la CGTase cataliza, la formación de α -, β - y γ -ciclodextrinas (CD) utilizando al almidón como sustrato, ha sido relacionada por algunos autores con cambios en la fracción proteica de sistemas LG. Gujral et al. (2003a) postularon que durante el proceso de producción de pan LG se formaban complejos entre la cavidad interior hidrofóbica de las CD y las proteínas hidrofóbicas del arroz (globulinas y glutelinas). Esto provocó un aumento en la solubilidad de las proteínas. Por otro lado, Lee y Fennema (1991) estudiaron la formación de complejos de inclusión entre CD y proteínas globulares hidrofóbicas a 3 y 31 °C. Estos autores observaron que la interacción entre las CD y las proteínas generó un aumento de su solubilidad a 31 °C y mejoró su estabilidad durante el calentamiento. La CGTase requiere de ciertas condiciones de pH y temperatura para exhibir su máxima actividad. Shim et al. (2007) establecieron que la enzima posee un aumento de su actividad conforme aumenta el pH del medio y la temperatura, observándose un máximo a pH 6 y 50 °C. Luego la actividad disminuye conforme aumenta la temperatura. Tonkova (1998) informó un rango de temperatura de máxima actividad de la enzima comprendido entre 40 y 85 °C y un intervalo de pH entre 4,5 y 7.

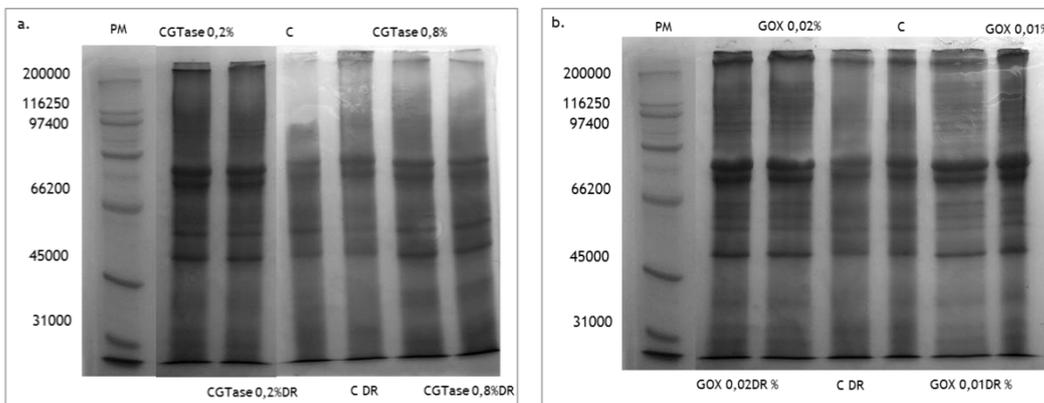


Figura 4.7 Perfil electroforético de las proteínas de las fracciones F₂ (sobrenadante en buffer fosfato+SDS) de la extracción secuencial en masas LG sin aditivos y con enzimas, antes y después del descanso refrigerado. **a.** Muestras con CGTase. **b.** Muestras con GOX. PM: marcador de peso molecular, C: control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

Si bien, las condiciones del medio (temperatura y pH) en las que se encontraba la masa cuando se realizaron las extracciones no son las condiciones de máxima actividad de la enzima, se observó que la enzima presentó cierta actividad que afectó a la fracción proteica del sistema. El aumento observado en la cantidad de proteínas de la F₁ en la masa con CGTase puede relacionarse con la formación de complejos entre las subunidades α' y α de la β -conglucina de la harina de soja, de naturaleza hidrofóbica, y las CD producidas por la enzima. La formación de estos complejos facilitó la solubilización de estas proteínas de la soja y concomitantemente se observó en el perfil electroforético de la F₁, un aumento de la intensidad de las bandas correspondientes (figura 4.6.a). Las bandas asociadas a las subunidades proteicas mayores a 45.000 fueron más intensas en las masas con CGTase (figura 4.7.a). Lo cual puede relacionarse con la formación de complejos entre estas proteínas y las CD, de manera tal que su solubilidad aumentó. Si bien no se observaron diferencias significativas en el contenido de las proteínas retenidas en el precipitado, el perfil electroforético (figura 4.8.a) de las muestras con CGTase presentó bandas de alta masa molecular de mayor intensidad que el control.

Los complejos CD-proteínas pueden ejercer un efecto de film protector, de manera tal de entrapar de manera más eficiente el vapor de agua generado durante el

horneado. Por lo tanto, los productos panificados con CGTase resultaron más altos y presentaron un mayor volumen específico y una estructura interna más laminada e igual de firme que el control. Si bien la CGTase es una enzima que actúa sobre el almidón, indirectamente genera un efecto sobre la fracción de proteínas del sistema, lo que provoca un efecto positivo en las características tecnológicas de panificados laminados LG. Cabe aclarar que otros autores (Jemli et al. 2007) determinaron el contenido de CD en porciones de productos panificados y corroboraron la producción de estos compuestos, principalmente durante la cocción. Además pudieron relacionar la presencia de complejos CD-proteínas con panes LG de mayor volumen y menor firmeza.

En las masas con GOX antes del descanso refrigerado no se observaron cambios significativos en el contenido de proteínas de las fracciones y el precipitado en relación al control (figura 4.9.a). Sin embargo, conforme aumentó la dosis de GOX se observó en la F1 una disminución de la intensidad de las bandas correspondientes a subunidades proteicas de alta masa molecular (globulinas) y a las albuminas de la harina de arroz, como también de las α' y α de la β -conglucina de la harina de soja (figura 4.6.b). Rocca et al. (2012) también observaron una disminución de la solubilidad de las proteínas en buffer fosfato cuando la GOX estuvo presente en masa de harina de soja y trigo. Sin embargo, estos autores asociaron este comportamiento a ciertas interacciones entre el polipéptido A (glicina 11S) y otras proteínas de la soja o del trigo.

Seguidamente, en el perfil electroforético de la F2 se observó un aumento de la intensidad de las bandas de las subunidades proteicas de alto peso molecular y de las α' y α de la β -conglucina en las muestras con GOX en relación al control (figura 4.7.b). Por otro lado, con la enzima se observó un incremento de la intensidad de las subunidades proteicas de masa molecular menor a 116.000 que permanecieron retenidas en el precipitado. Sin embargo, conforme aumentó la dosis de GOX la intensidad de las proteínas disminuyó.

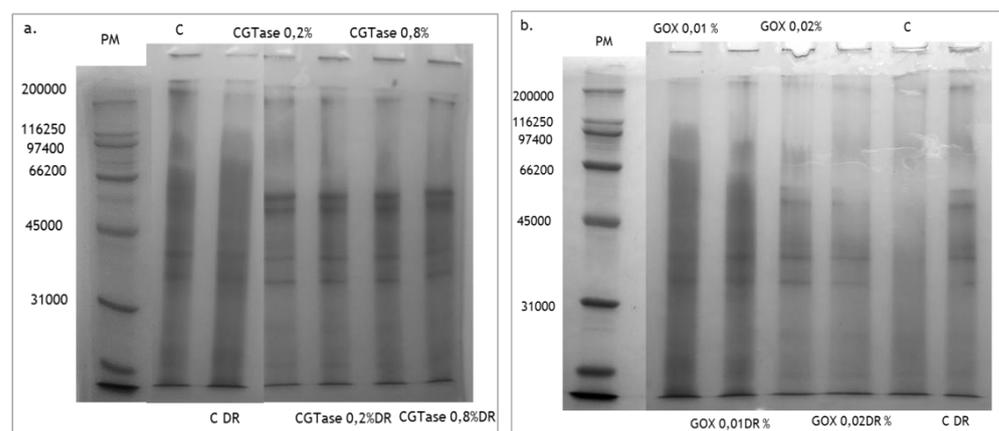


Figura 4.8 Perfil electroforético de las proteínas contenidas en el precipitado de la extracción secuencial de masas LG sin aditivos y con enzimas, antes y después del descanso refrigerado. **a.** Muestras con CGTase. **b.** Muestras con GOX. PM: marcador de peso molecular, C: control, DR: muestras sometidas al descanso refrigerado.

En las masas con GOX sometidas al descanso refrigerado hubo una disminución del contenido de proteínas que se solubilizaron en la F1, en relación al control (figura 4.9.b). La cual fue significativa únicamente para la menor dosis de la enzima. Al igual que en el perfil electroforético de las muestras antes del descanso refrigerado, se observó una disminución de la intensidad de ciertas proteínas de harina de soja y arroz, lo cual confirma la interacción entre ellas (figura 4.6.b). En la fracción siguiente

(F2) se observó un aumento significativo del contenido de proteínas que se solubilizaron con el agregado de GOX. En el perfil electroforético, ambas dosis de GOX presentaron bandas de masa molecular superior a 62.000 de mayor intensidad que el control (figura 4.7.b). La GOX ejerció un efecto sobre la fracción proteica, de manera tal que una mayor cantidad de agregados proteicos se solubilizaron en buffer fosfato+SDS. No se observaron diferencias significativas en el contenido de proteínas que se encontraban formando grandes agregados proteicos unidos por enlaces covalentes y permanecieron insolubles en el precipitado. Sin embargo, hubo un efecto positivo de la enzima sobre la intensidad de las proteínas de masa molecular menor a 116.000.

Por lo tanto, la obtención de productos horneados con mejores características tecnológicas que el control se pudo asociar con el efecto de la enzima sobre la formación de agregados proteicos solubles en buffer fosfato+SDS. La menor dosis de la enzima generó productos con mayor volumen específico, menor firmeza y una estructura levemente más laminada que el control. Y la mayor concentración de GOX permitió obtener panificados de mayor volumen específico y menor firmeza, aunque su estructura interna fue de tipo más bien alveolada.

Rasiah et al. (2005) informaron acerca de un impacto de la GOX sobre las interacciones no covalentes y covalentes entre las proteínas del trigo solubles en agua (albúminas y globulinas) por sobre un efecto en las proteínas formadoras de gluten. Además relacionaron el efecto de la enzima sobre las interacciones entre las proteínas con mejoras en la estructura interna de *croissants*, aunque remarcaron la necesidad de interacciones covalentes entre las proteínas formadoras del gluten para obtener productos de mayor volumen. Otros autores (Sciarini et al. 2012b, Gujral y Rosell 2004b) observaron la polimerización de ciertas proteínas debido a la presencia de GOX, pero los panes LG obtenidos fueron de menor volumen; aunque se observó un efecto positivo en la firmeza.

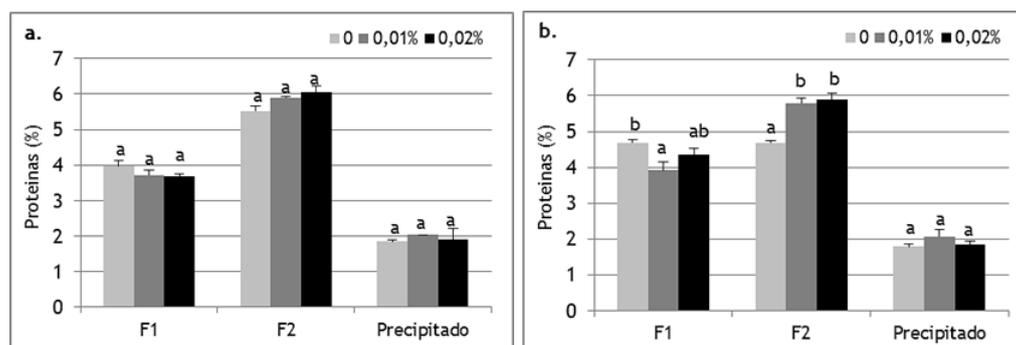


Figura 4.9 Contenido de proteínas de las fracciones de la extracción secuencial de masas LG sin aditivos y con GOX. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. F1: fracción del sobrenadante en buffer fosfato, F2: fracción del sobrenadante en buffer fosfato+SDS.

Comportamiento reológico

El estudio de las propiedades reológicas de las masas se realizó únicamente con las menores dosis de ambas enzimas, ya que en el caso de la CGTase con la menor cantidad se obtuvieron panificados de mejores características que el control. Mientras que con la GOX no se obtuvo una mejora significativa con ninguna de las dosis evaluadas. La figura 4.10 muestra el efecto de la incorporación de enzimas en masas libres de gluten antes del descanso refrigerado sobre el comportamiento reológico durante el ensayo de deformación-relajación. Las muestras analizadas presentaron un comportamiento viscoelástico típico.

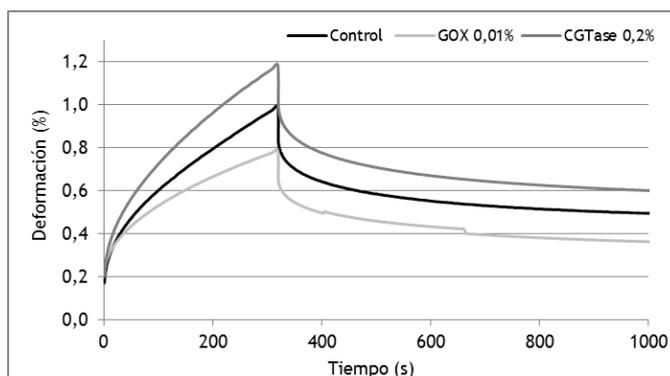


Figura 4.10 Deformación de masas LG sin aditivos y con enzimas en función del tiempo antes del descanso refrigerado

Durante la deformación, la presencia de un 0,2 % de CGTase en la masa sin descanso refrigerado provocó un aumento de la pendiente de la sección recta de la curva, en relación al control. Los valores de capacitancia instantánea y viscoelástica de la muestra CGTase 0,2 % fueron significativamente mayores al control (tabla 4.4). Estos resultados revelan que la presencia de la menor dosis de la enzima generó un aumento de la fluidez del sistema y este se presentó con un mayor comportamiento de líquido viscoelástico. Por lo tanto, la muestra tuvo una menor capacidad elástica y presentó una gran deformación, correspondiente con un valor de capacitancia máxima más grande. La viscosidad del sistema disminuyó leve pero significativamente con la CGTase. No se observaron diferencias significativas en los tiempos de retraso de la componente Kelvin de las muestras.

Una vez retirado el esfuerzo aplicado, la presencia de CGTase no provocó cambios significativos en los parámetros del ajuste. Aunque se observó un leve y significativo aumento de la porción relativa viscosa de la capacitancia máxima en relación al control (figura 4.11.a). Este efecto puede asociarse con que la formación de complejos de CD-proteínas interfirió en las interacciones entre las proteínas de soja y el almidón, dejando más cantidad de almidón disponible para hidratarse, aunque sea parcialmente y en el transcurso del tiempo; de manera tal de aumentar la respuesta viscosa del sistema.

Después del descanso refrigerado las masas presentaron perfiles correspondientes al de un comportamiento viscoelástico típico (figura 4.12). Durante la deformación la enzima CGTase provocó el mismo efecto que en la masa sin descanso refrigerado. Hubo un aumento de la fluidez del sistema en relación al control y un aumento de los valores de capacitancia viscoelástica y máxima. El comportamiento reológico de la masa con CGTase puede estar asociado con la acción de la enzima sobre la fracción de almidón dañado. Si bien la enzima presenta una actividad óptima a mayores temperaturas que las del proceso de producción, evidentemente ejerce cierto efecto sobre la masa. Este puede estar relacionado con otra de las reacciones que esta enzima cataliza, la hidrólisis del almidón. Debido a que durante el ensayo no se aplica calor sobre el sistema y este se encuentra bajo condiciones de agua limitadas, el acceso de la enzima a las cadenas de amilosa y amilopectina se ve restringido. Por lo tanto, es de esperar que la enzima actúe sobre el almidón que se presenta más disponible por el daño físico ocasionado sobre su estructura durante la molienda, es decir el almidón dañado. Gujral et al. (2003a) informaron una disminución del carácter de sólido viscoelástico de sistemas LG debido a la presencia de CGTase y su efecto hidrolítico sobre el almidón. Los valores de los parámetros reológicos encontrados en la muestra con CGTase después del descanso refrigerado fueron menores al de la

masa antes del tratamiento. Lo cual revela una cierta rigidización del sistema como consecuencia del reposo y las bajas temperaturas.

Tabla 4.4 Parámetros del ensayo de relajación-deformación de masas LG con y sin enzimas antes y después del descanso refrigerado

		Etapa de deformación				
Muestra		J_0 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	J_1 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	λ_{ret} (s)	η_0 (Pa s) x 10 ⁷	J_{max} (1/Pa) x 10 ⁻⁵
Antes DR	Control	9,8 ^b	10,5 ^b	19,4 ^a	1,1 ^b	4,9 ^b
	CGTase 0,2 %	11,2 ^c	11,8 ^c	19,4 ^a	0,9 ^a	5,7 ^c
	GOX 0,01 %	8,5 ^a	9,3 ^a	20,4 ^a	1,4 ^c	4,0 ^a
Después DR	Control	6,1 ^{ab}	6,6 ^a	20,8 ^a	2,5 ^b	2,5 ^a
	CGTase 0,2 %	6,4 ^b	7,5 ^b	20,8 ^a	1,9 ^a	2,8 ^b
	GOX 0,01 %	5,5 ^a	6,0 ^a	21,6 ^a	2,5 ^b	2,3 ^a

		Etapa de relajación			
Muestra		J_0 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	J_1 (1/Pa) x 10 ⁻⁶	λ_{rec} (s)	Je_0 (1/Pa) x 10 ⁻⁵
Antes DR	Control	13,4 ^b	15,4 ^b	183,8 ^a	2,8 ^b
	CGTase 0,2 %	14,1 ^c	15,4 ^b	178,2 ^a	2,9 ^b
	GOX 0,01 %	11,0 ^a	10,8 ^a	178,6 ^a	2,1 ^a
Después DR	Control	7,8 ^a	7,4 ^{ab}	192,9 ^b	1,5 ^a
	CGTase 0,2 %	8,1 ^a	8,2 ^b	171,1 ^a	1,6 ^b
	GOX 0,01 %	7,2 ^a	7,1 ^a	175,9 ^a	1,5 ^a

DR: descanso refrigerado, J_0 : capacitancia instantánea, J_1 : capacitancia viscoelástica, λ_{ret} : tiempo de retraso de la componente Kelvin, η_0 : viscosidad newtoniana, J_{max} : capacitancia máxima de deformación, λ_{rel} : tiempo de recuperación de la componente Kelvin, Je_0 : capacitancia del estado de equilibrio. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Durante la relajación la masa con CGTase no presentó valores de capacitancia instantánea y viscoelástica significativamente diferentes al control. Es decir que la incorporación de la misma no modificó la capacidad del sistema para resistir a la deformación y por consiguiente recuperarse. Sin embargo, en el estado de equilibrio la muestra con CGTase alcanzó una mayor deformación que el control y necesito menos tiempo para llegar a ese estado. Esta tendencia y el leve y significativo aumento de la porción relativa viscosa de la capacitancia máxima (figura 4.11.b) de la masa con la enzima, dan cuenta de una mayor capacidad del almidón para hidratarse y aumentar la viscosidad del sistema, en relación al control. Lo cual se asocia con el efecto anteriormente descrito sobre de la presencia de los complejos CD-proteínas en el sistema.

Por otro lado, la incorporación de GOX provocó una disminución de la fluidez del sistema antes del descanso refrigerado. La masa con GOX presentó menores valores de capacitancia instantánea, viscoelástica y máxima en relación al control (tabla 4). Conjuntamente se observó un aumento de la viscosidad cuando la enzima estuvo presente en el sistema. La rigidización de la masa con GOX puede estar relacionada con las interacciones entre las proteínas promovidas por la enzima. Esto le otorgó al sistema un mayor comportamiento de sólido viscoelástico con mayor resistencia a la deformación. Durante la relajación se observó una disminución de los valores de capacitancia instantánea, viscoelástica y del equilibrio en la masa con GOX. Por lo tanto, la enzima le otorgó al sistema una mayor capacidad de recuperación durante la

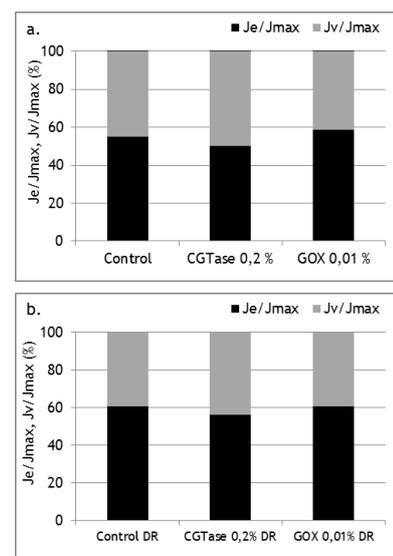


Figura 4.11 Porción relativa elástica (J_e/J_{max}) y viscosa (J_v/J_{max}) de la capacitancia máxima de masas LG sin aditivos y con enzimas. **a.** Antes del descanso refrigerado. **b.** Después del descanso refrigerado. DR: descanso refrigerado.

relajación, en relación al control. Lo cual también se evidenció en una porción relativa elástica significativamente mayor que la muestra sin aditivo (figura 4.11.a).

Después del descanso refrigerado la muestra con GOX presentó un comportamiento similar al control, no se observaron diferencias significativas entre los parámetros del ajuste. Durante la relajación la masa con la enzima no mostró valores de capacitancia instantánea y viscoelástica significativamente diferentes al control. Es decir que su presencia no modificó la capacidad del sistema para resistir a la deformación y recuperarse, por consiguiente en el equilibrio se deformó en igual medida que el control. Al igual que en el sistema antes del descanso refrigerado, la masa con GOX mostró un aumento leve y significativo de la porción relativa elástica de la capacitancia máxima (figura 4.11.b).

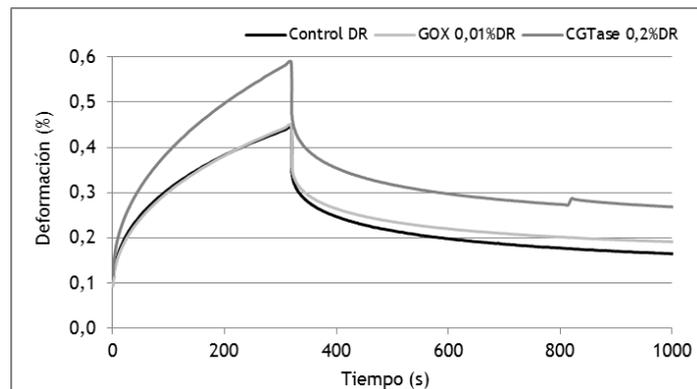


Figura 4.12 Deformación de masas LG sin aditivos y con enzimas en función del tiempo después del descanso refrigerado

Estudio del efecto de la temperatura en la estructura de la masa

Comportamiento reológico

Durante el barrido de temperatura las muestras de masa presentaron propiedades viscoelásticas, con valores del módulo elástico mayores a los valores del módulo viscoso (figura 4.13). La muestra con CGTase no presentó diferencias significativas en su respuesta elástica en relación al control hasta los 70 °C. Entre los 70 y 90 °C hubo un aumento del módulo G' . Sin embargo, la masa con CGTase presentó un menor G' en relación al control (tabla 4.4). Conjuntamente se observó una disminución de la η^* en la muestra con la enzima durante este intervalo de temperatura (figura 4.15). Gujral et al. (2003a, 2004a) evaluaron el efecto de la CGTase sobre las propiedades de *pasting* de harinas de arroz y trigo, y relacionaron la acción hidrolítica de la enzima sobre el almidón con la disminución de la viscosidad de la pasta. Con el consiguiente aumento de temperatura hasta la finalización del ensayo, la respuesta elástica y la viscosidad compleja de la masa con la enzima fueron levemente menores a las del control.

Por otro lado, la muestra con GOX presentó un G' significativamente mayor al control después de los 40 °C y hasta cerca de los 70 °C (figura 4.13). Entre los 70 y 90 °C la masa con la enzima disminuyó su respuesta elástica por debajo del control, aunque a temperaturas mayores el G' volvió a incrementarse. La viscosidad compleja presentó la misma tendencia (figura 4.15).

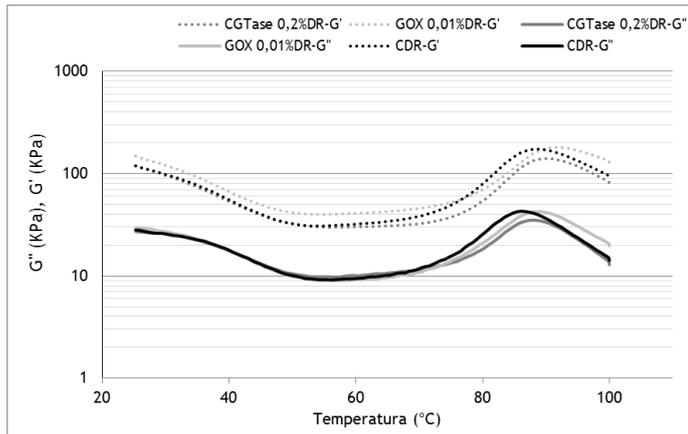


Figura 4.13 Barrido de temperatura de masas LG sin aditivos y con enzimas. G'' : módulo viscoso, G' : módulo elástico.

La incorporación de las enzimas no provocó cambios en la respuesta viscosa de la masa, en relación al control hasta los 70 °C. En el intervalo de temperatura durante el cual tuvo lugar la gelatinización (70-90 °C) la muestra con CGTase presentó un G'' levemente menor pero significativo en relación al control, mientras que para GOX esta disminución ocurrió aun en menor medida. Seguidamente, la muestra CGTase 0,2 % y el control no se diferenciaron, mientras que GOX 0,01 % presentó un G'' significativamente mayor. Las masas con enzimas no presentaron valores de $\tan \delta$ significativamente diferentes del control. Sin embargo, en el intervalo de temperatura comprendido entre los 60 y 80 °C la muestra CGTase 0,2 % presentó una tendencia caracterizada por mayores valores de $\tan \delta$ en relación al control. Lo cual indica que la presencia de CGTase aumentó levemente el carácter de líquido viscoelástico del sistema, probablemente por la acción de la enzima sobre el almidón en ese intervalo de temperatura.

Tabla 4.5 Parámetros del barrido de temperatura de masas LG con y sin enzimas después del descanso refrigerado

Parámetros		Control DR	CGTase 0,2%DR	GOX 0,01%DR
G' (KPa)	Max	18,4 ^b	14,0 ^a	18,1 ^b
	T (°C)	88,6 ^a	90,7 ^b	91,8 ^b
d_1, G' (KPa)	Max	15,5 ^b	13,1 ^a	15,6 ^{ab}
	T (°C)	82,6 ^a	85,2 ^b	85,9 ^b
$\tan \delta$	25 °C	0,24 ^a	0,23 ^a	0,23 ^a
	40 °C	0,31 ^a	0,33 ^a	0,31 ^a
	60 °C	0,27 ^a	0,34 ^a	0,27 ^a
	80 °C	0,30 ^a	0,34 ^a	0,30 ^a
	100 °C	0,15 ^a	0,16 ^{ab}	0,17 ^b
η^* (KPa,s)	25 °C	20 ^a	20 ^a	24 ^a
	40 °C	9 ^a	9 ^a	11 ^a
	60 °C	5 ^a	5 ^a	7 ^b
	80 °C	12 ^a	9 ^a	11 ^a
	100 °C	14 ^a	13 ^a	21 ^b

G' : módulo elástico, Max: valor máximo de G' , T: temperatura, $d_1 G'$: primera derivada de G' , η^* : viscosidad compleja, DR: descanso refrigerado. Letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

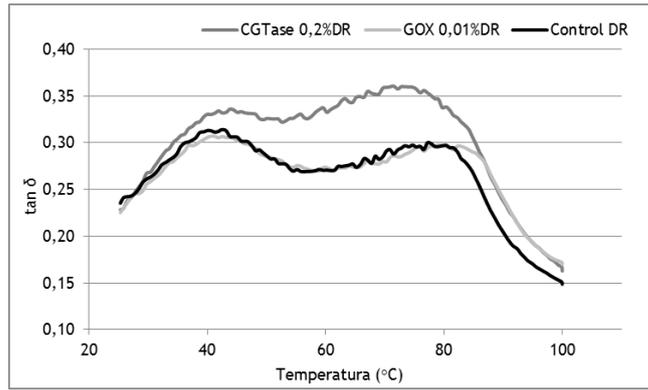


Figura 4.14 Efecto de la temperatura en la $\tan \delta$ de masas LG sin aditivos y con enzimas

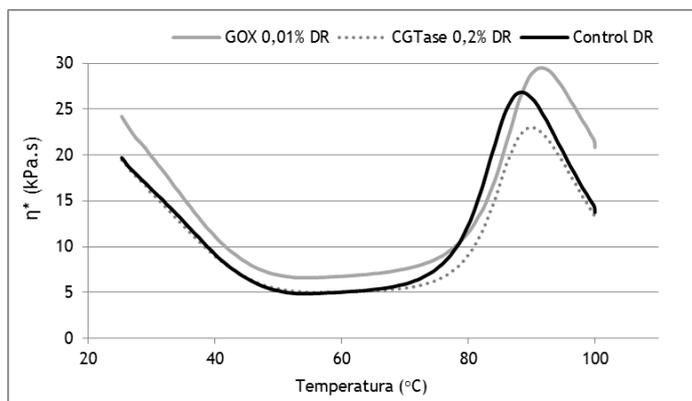


Figura 4.15 Efecto de la temperatura en la viscosidad compleja de masas LG sin aditivos y con enzimas. η^* : viscosidad compleja.

4.2.2 Efecto de la incorporación de emulsionantes

Efecto de los emulsionantes en la calidad tecnológica de los panificados

La figura 4.16 muestra los panificados laminados LG elaborados con emulsionantes. En general los productos con estos aditivos no presentaron una apariencia externa laminada. Únicamente con la incorporación de 2,5 % de Datem se observó la presencia de algunas capas. Las imágenes de la vista superior revelaron que las muestras con 1 % de SSL y 2,5 % de Datem crecieron levemente en dirección lateral en relación al control. Consecuentemente la forma otorgada durante la etapa de corte de las piezas de masa se vio afectada.

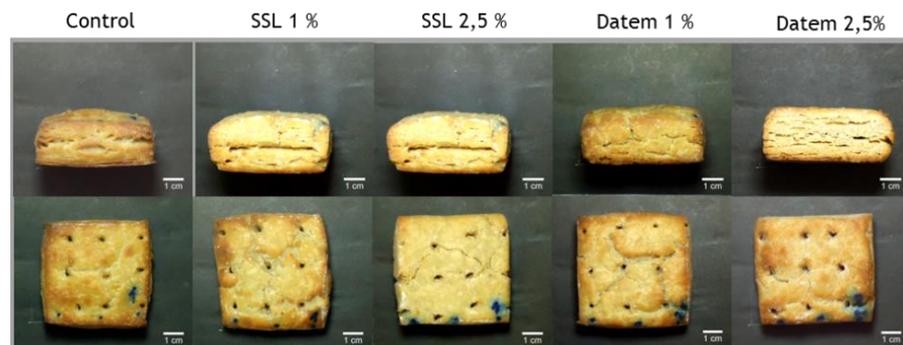


Figura 4.16 Panificados laminados salados libres de gluten con emulsionantes

Las piezas de masa laminadas con emulsionantes fueron inicialmente más altas que el control (figura 4.17). Esto revela que la incorporación de estos aditivos permitió obtener una estructura laminada que resistió en mejor medida el proceso de laminado y hojaldrado. Sin embargo, durante el horneado el control experimentó el mayor crecimiento y no hubo diferencias significativas en los valores de altura entre las muestras al final del horneado. La presencia de emulsionantes en la formulación no provocó cambios en la expansión lateral de las piezas de masa durante el horneado, ya que no se encontraron diferencias significativas entre los valores de relación de ancho (tabla 4.6). Por otro lado, tampoco se encontraron diferencias significativas en los valores del factor de forma entre las muestras evaluadas.

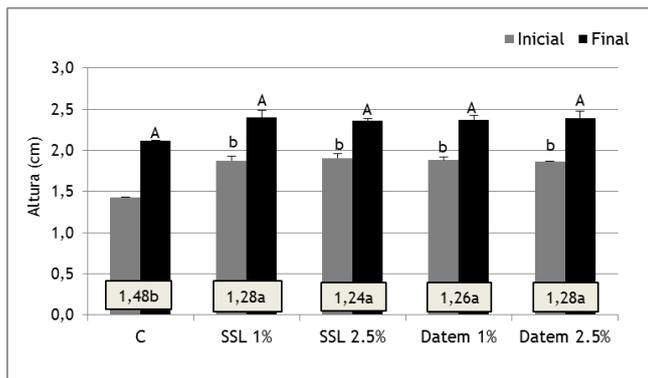


Figura 4.17 Altura y relación de altura de panificados laminados LG sin aditivos y con emulsionantes. En el recuadro \square : Relación de altura. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas en cada muestra ($p \leq 0,05$).

La incorporación de emulsionantes tuvo un efecto sobre el volumen de los panificados. Las muestras SSL 2,5 % y Datem 1 % y 2,5 % presentaron mayores valores de volumen específico que el control (tabla 4.7). Sciarini et al. (2012b) estudiaron la incorporación de 1 % de Datem y SSL en panes LG con un 65 % de agua. Estos autores observaron que la masa con Datem presentó la menor resistencia a la penetración y no modificó su volumen específico, en relación al control. Mientras que la masa con SSL fue más resistente que el control y presentó un menor volumen específico. Esta tendencia observada en sistemas LG con emulsionantes de estructura alveolada resultó opuesta a la encontrada en muestras LG de conformación laminada. En este tipo de sistemas una mayor altura de la pieza de masa laminada al inicio del horneado, como consecuencia de una mayor resistencia a la presión ejercida durante el proceso de producción, permitió la obtención de panificados de mayor volumen específico que el control.

En cuanto al color de la corteza, la presencia de emulsionantes en la formulación no provocó cambios en la luminosidad de las mismas. Mientras que si se observó un efecto sobre el parámetro a^* . Las cortezas con ambas dosis de SSL y 1 % de Datem presentaron una disminución de la intensidad del color rojo en relación al control. Los valores de b^* fueron positivos para todas los productos analizados y la muestra SSL 2,5 % presentó una corteza con una intensidad del color amarillo levemente menor al control y el resto de las muestras.

El agregado de emulsionantes tuvo un efecto en los parámetros texturales de los productos (tabla 4.7). La estructura laminada se vio fortalecida con la incorporación de los aditivos, aunque solo con las mayores dosis de SSL y Datem se obtuvieron estructuras laminadas con valores de firmezas significativamente mayores al control. Del mismo modo, la presencia de emulsionantes provocó un aumento significativo de la masticabilidad de los productos en relación al control. Onyango et al. (2009)

Tabla 4.6 Relación de ancho (Ra) y factor de forma (FF) de panificados laminados LG. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Muestra	Ra	FF
Control	1,01 ^a	0,44 ^a
SSL 1 %	1,03 ^a	0,46 ^a
SSL 2,5 %	1,01 ^a	0,46 ^a
Datem 1 %	1,01 ^a	0,45 ^a
Datem 2,5 %	1,04 ^a	0,45 ^a

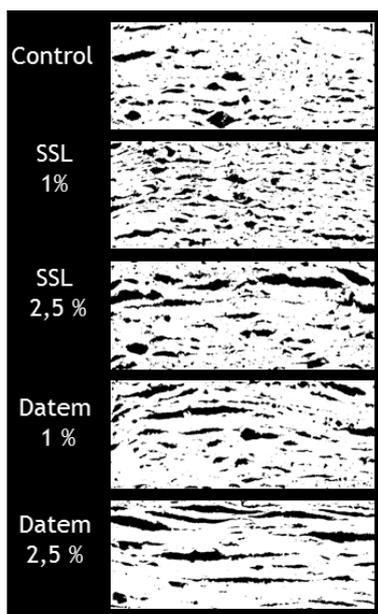


Figura 4.17 Imágenes binarizadas de la estructura interna de panificados laminados libres de gluten con emulsionantes

informaron un aumento en la firmeza de panes LG de harina de mandioca, sorgo y soja; conforme aumentó la dosis de Datem incorporada. Sciarini et al. (2012b) observaron un aumento de la firmeza en panes de harina de arroz cuando se agregó Datem y SSL a la formulación.

Tabla 4.7 Parámetros de calidad tecnológica de panificados laminados LG

Muestra	VE (cm ³)	L*	a*	b*	Firmeza (N)	Masticabilidad
Control	(64±4) ^a	(56±1) ^{ab}	(12±1) ^c	(31,4±0,1) ^b	(62±4) ^a	(63±3) ^c
SSL 1 %	(70±1) ^{ab}	(57,4±0,6) ^a	(9,8±0,3) ^b	(31,4±0,8) ^b	(79±4) ^{ab}	(58±2) ^a
SSL 2,5 %	(70,4±0,6) ^b	(60±3) ^a	(7±1) ^a	(28,2±0,4) ^a	(96±10) ^{bc}	(63±14) ^a
Datem 1 %	(70±2) ^b	(58,5±0,8) ^a	(9,4±0,4) ^b	(31,0±0,1) ^b	(75±6) ^{ab}	(56±6) ^a
Datem 2,5 %	(72,1±0,6) ^b	(59±1) ^a	(11,3±0,2) ^{bc}	(31±1) ^b	(109±22) ^c	(74±4) ^a

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

En la estructura interna de los panificados con la menor dosis de SSL se observó la presencia de pequeños alveolos, mientras que la incorporación de una mayor cantidad del aditivo generó una estructura con espacios de conformación más alargada (figura 4.17). En la muestra con 1 % de Datem se observaron algunos espacios de conformación más bien alargada que delimitaron la formación de capas gruesas en la parte superior de la estructura. Con una mayor cantidad de Datem hubo formación de algunas láminas gruesas que se presentaron de manera continua en la estructura. Las muestras con emulsionantes presentaron una distribución de los elementos estructurales, alveolos o espacios de conformación más alargada según cada caso, menos homogénea en relación al control (tabla 4.8). Excepto en la muestra con 2,5 % de Datem en donde se observó un aumento en la homogeneidad. La incorporación de SSL en ambas dosis y la menor de Datem no provocaron cambios significativos en el contraste de las muestras. Mientras que la mayor dosis de Datem permitió obtener productos de estructura interna con un menor valor de contraste, lo cual confirma la presencia de capas en la muestra. Sin embargo, la menor cantidad de láminas observadas en los productos con emulsionantes en relación a los productos con otros aditivos, impidió que las muestras crecieran durante el horneado y fueran más altas que el control al finalizar el horneado. No se encontraron diferencias significativas entre los valores de entropía del control y los panificados con emulsionantes, excepto para SSL 2,5 %. Esta muestra mostró una mayor aleatoriedad en la distribución de la intensidad de la imagen, lo cual permite asociarla con una estructura interna más compleja. Las menores dosis de los emulsionantes no provocaron cambios significativos en la dimensión fractal en relación al control. Mientras que una mayor cantidad de SSL y Datem generó productos cuyos elementos estructurales presentaron mayor tortuosidad en comparación con el control, lo cual se asoció con la presencia de capas y espacios vacíos de conformación alargada.

Tabla 4.8 Parámetros del análisis textural de imágenes de cortes transversales de los panificados

Muestra	Homogeneidad	Contraste	Entropía	DF
Control	0,24 ^b	90,42 ^b	7,06 ^a	1,44 ^a
SSL 1 %	0,17 ^a	90,56 ^b	6,99 ^a	1,48 ^{ab}
SSL 2,5 %	0,18 ^a	92,06 ^b	7,42 ^b	1,57 ^c
Datem 1 %	0,19 ^a	81,97 ^b	7,08 ^a	1,48 ^{ab}
Datem 2,5 %	0,32 ^c	45,30 ^a	7,01 ^a	1,53 ^{bc}

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Con la incorporación de las mayores dosis de SSL y Datem se observó una mejora en algunas de las características tecnológicas de los panificados en relación al control. Hubo un aumento del volumen específico cuando el SSL y Datem estuvieron presentes, aunque no provocaron un efecto positivo sobre la altura final de los panificados. Las estructuras con las mayores dosis de aditivos fueron más firmes y presentaron una estructura interna de conformación compleja y textura rugosa. Sin embargo, la incorporación de emulsionantes tuvo un efecto positivo solo en ciertas características tecnológicas de los panificados, las cuales no se expresaron en una mejoría general del producto. Por lo tanto, se decidió no continuar con el estudio de las propiedades reológicas de las masas y las interacciones del sistema.

4.3 CONCLUSIONES

La incorporación de ambas **enzimas** generó cambios en las interacciones del sistema LG. La presencia de CGTase generó en la masa un aumento de la solubilidad de las proteínas en buffer fosfato posiblemente debido a la formación de complejos con CD. Mientras que la GOX promovió la formación de agregados proteicos que se solubilizaron en buffer fosfato+SDS. Concomitantemente se observó un efecto sobre las propiedades reológicas de la masa. La muestra con CGTase se presentó menos rígida ante la deformación, pero durante la relajación mostró una mayor respuesta viscosa. Esto y sumado a un posible efecto de film protector de los complejos CD-proteínas permitió obtener estructuras laminadas, que si bien fueron levemente más altas que el control, luego del horneado generaron panificados laminados de buenas características tecnológicas.

La GOX permitió la mayor formación de agregado proteicos solubles en buffer fosfato+SDS. Estos se asociaron con una masa menos fluida y más viscosa y que durante la relajación presentó con una mayor respuesta viscosa que el control. Durante el calentamiento el sistema mostró mayor resistencia a fluir que la muestra sin aditivos. Sin embargo, la presencia de la enzima no fue capaz de otorgar a la masa las características necesarias para generar una estructura laminada; sino más bien una de tipo alveolar. Esto se asoció con valores de contraste y dimensión fractal cercanos al control y con migas menos firmes.

La incorporación de las mayores dosis de los **emulsionantes** evaluados generó un efecto positivo sobre ciertas características tecnológicas de los panificados, como un mayor volumen y la presencia de una estructura levemente laminada. Sin embargo, estos cambios no resultaron significativos en la calidad tecnológica integral de los productos laminados LG.

Capítulo 5

Evaluación del efecto combinado de aditivos y metodologías de conservación sobre la calidad tecnológica de los panificados

La evaluación del efecto sinérgico de la combinación de aditivos sobre los parámetros de calidad de panificados ha sido ampliamente utilizada en el desarrollo y optimización de estos productos. A través de la evaluación de la contribución relativa de diferentes variables sobre los parámetros predictivos del producto se determinan los niveles óptimos de los ingredientes a utilizar (Mancebo et al. 2015, Crowley et al. 2001). De manera tal de obtener un panificado de ciertas características tecnológicas.

El envejecimiento de los productos de panificación está definido como la disminución de la aceptación por parte del consumidor causada por cambios que no resultan de la acción de microorganismos dañino (Betchel 1955). Entre las alteraciones que se producen en productos como el pan se destacan el endurecimiento de la miga, los cambios en el sabor y el aroma y la pérdida de crujibilidad de la corteza (Cauvian 1998). El desarrollo de la dureza de la miga con el tiempo es un fenómeno en el que influyen diversos factores. La pérdida de humedad de la miga junto con la recristalización del almidón son los dos mecanismos admitidos como básicos.

En la actualidad se utilizan diferentes metodologías para conservar sin alteraciones durante más tiempo las características tecnológicas y sensoriales de los panificados. Una de las metodologías ampliamente utilizada incluye la aplicación de frío, a través de la congelación y el almacenamiento congelado. La calidad de las masas congeladas se deteriora gradualmente durante la conservación en estado congelado, hecho que se atribuye a la pérdida en la capacidad de retener gases de la masa. Este cambio se debe principalmente a una disminución de la fuerza de la masa, y a la pérdida gradual de la actividad y la viabilidad de las levaduras. El efecto de la aplicación de estas metodologías está ampliamente estudiado en productos panificados libres de gluten como el pan y las galletitas. Sin embargo, no hay precedentes de trabajos sobre sistemas laminados libres de gluten.

5.1 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1.1 Efecto combinado de los aditivos

Selección de variables y planteo del diseño experimental

A partir del estudio del efecto individual de cada aditivo sobre la calidad de los productos laminados salados libres de gluten, se seleccionaron tres aditivos, goma xántica, *psyllium* y CGTase, a fin de estudiar el efecto combinado sobre los parámetros de calidad de los productos laminados salados. Los aditivos seleccionados como variables fueron elegidos a partir de los resultados obtenidos en los capítulos anteriores. La presencia de goma xántica permitió obtener panificados con buenas propiedades tecnológicas pero con valores de firmeza excesivamente grandes; por lo que se consideró la combinación con *psyllium* y CGTase. Estos últimos dos aditivos también generaron estructuras laminadas, mientras que se observó un efecto opuesto sobre la firmeza de la estructura interna.

Tabla 5.1 Dosis de los aditivos empleados en diseño de superficie de respuesta

Aditivo	Dosis	
	mínima (%)	máxima (%)
Xan	0,1	0,5
Psy	0,1	0,5
CGTase	0,05	0,25

Tabla 5.2 Diseño experimental

Muestra	Xan (%)	Psy (%)	CGTase (%)
1	0,3	0,3	0,15
2	0,5	0,3	0,05
3	0,5	0,3	0,25
4	0,1	0,5	0,15
5	0,3	0,3	0,15
6	0,5	0,1	0,15
7	0,1	0,3	0,05
8	0,3	0,1	0,25
9	0,3	0,5	0,05
10	0,3	0,5	0,25
11	0,3	0,3	0,15
12	0,1	0,1	0,15
13	0,5	0,5	0,15
14	0,3	0,1	0,05
15	0,1	0,3	0,25

Con el objetivo de determinar la dosis empleada en la optimización se realizaron los siguientes ensayos preliminares:

Elaboración de los panificados: se elaboraron productos laminados salados LG según la metodología descrita en el capítulo 3. Se incorporó 2,5 % de goma xántica, 2,5 % de *psyllium* y 0,2 % de CGTase.

Propiedades viscosimétricas: se evaluaron las propiedades viscosimétricas a través de un Viscoanizador Rápido (RVA) según se describió previamente en el capítulo 1. El ensayo de RVA se realizó por duplicado sobre soluciones de 2,5 % de goma xántica y *psyllium* y sobre las combinaciones de ambos hidrocoloides en las siguientes proporciones 2,5, 1,5 y 0,5 %.

A partir de estos ensayos se definieron las dosis definitivas a evaluar (tabla 5.1). Mediante la metodología de regresión de superficie de respuesta (Statgraphics plus 5.0, EUA) se evaluó el efecto sinérgico de los aditivos seleccionados sobre las propiedades tecnológicas de los panificados. Se utilizó un diseño central compuesto rotatable (Box-Behnken) con tres factores y cinco niveles, el cual permitió estudiar el efecto de los tres factores (aditivos) a través de 15 panificaciones (tabla 5.2). El diseño de Box-Behnken es rotatable de segundo orden, y posee tres niveles en cada factor lo que permite estimar efectos de tipo cuadrático, además de interacciones y efectos lineales. Debido a que se desconoce la localización del punto óptimo, la propiedad de rotabilidad permite realizar estimaciones precisas en todas las direcciones. El orden de los experimentos fue totalmente aleatorio para evitar efectos de variables ocultas. Se hicieron cuatro réplicas del punto central que permitió la estimación del error puro mediante la suma de cuadrados.

Elaboración de los productos laminados y evaluación de la calidad tecnológica

Se elaboraron los productos laminados salados de acuerdo a las 15 formulaciones obtenidas mediante el diseño planteado en el punto anterior y siguiendo el metodología detallada en el capítulo 3.

La calidad tecnológica de los panificados se evaluó mediante la determinación de las dimensiones de los productos elaborados (altura antes de la fermentación y después de la fermentación y el horneado), se calcularon las relaciones de ancho y altura y factor de forma. El volumen específico se evaluó por desplazamiento de semilla de colza. Se llevó a cabo un análisis del perfil de textura utilizando un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, EUA) equipado con una sonda cilíndrica (diámetro= 25 mm) y una celda de compresión de 5 kg. Para la evaluación se tomó una porción longitudinal de 20 mm de espesor, luego de 1 h de horneado. Se obtuvieron los siguientes parámetros a través del programa BluehillR 2.27 (Instron, EUA): firmeza, elasticidad y masticabilidad. Las determinaciones se realizaron por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra.

Se determinaron los parámetros de color (Lab, CIELAB 1976) según se describió en el capítulo 1. Se evaluaron las características de la estructura interna (uniformidad, entropía, complejidad, contraste y dimensión fractal), por medio del análisis de imágenes de cortes transversales de los productos como se describió previamente en el capítulo 1. Las determinaciones se realizaron por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra.

Tratamiento de los resultados y evaluación de las ecuaciones predictoras.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante el método de regresión múltiple. La calidad de los modelos ajustados se evaluó utilizando un ANOVA (Statgraphics plus

5.0) y para el ajuste de cada modelo de los datos experimentales se obtuvo el coeficiente de determinación R^2 . Se desarrollaron ecuaciones de regresión múltiple solo con coeficientes significativos ($p \leq 0,05$). Se generaron gráficos de superficie de respuestas bidimensionales para cada parámetro de calidad.

5.1.2 Optimización de la formulación

El cálculo de las condiciones en la que se combinan los factores para una respuesta optimizada se realizó a partir del método de respuestas múltiples (Statgraphics plus 5.0, EUA), a través de la función de conveniencia (*desirability function*) (Ferreira et al. 2007). La función de conveniencia es un método que asigna una "puntuación" a un conjunto de respuestas y elige la combinación de factores que maximizan esa puntuación para alcanzar la conveniencia global máxima.

Mediante la optimización se calcularon las dosis de goma xántica, *psyllium* y CGTase necesarias para obtener un producto laminado LG de máxima relación de alto, factor de forma, luminosidad (L^*) y dimensión fractal y de mínima relación de ancho y firmeza. Una vez determinados los niveles de los factores para la respuesta óptima se realizaron los ensayos de panificación y se determinaron las características de los productos obtenidos con el propósito de corroborar los valores predichos por las ecuaciones para las variables de respuesta: relación de altura y ancho, luminosidad, dimensión fractal, factor de forma y firmeza. Estas determinaciones se realizaron según lo descrito anteriormente.

5.1.3 Evaluación de metodologías de conservación

El efecto de la implementación de diferentes metodologías de conservación se evaluó sobre productos elaborados a partir de la formulación optimizada en el inciso anterior y en muestras sin aditivos (control). Las metodologías evaluadas se observan en la figura 5.1.

En el caso de la tecnología de masa precocida, una vez que se obtuvieron las piezas de masa laminada estas fueron horneadas a $210\text{ }^\circ\text{C}$ en un horno a convección Beta 107 IPA (Pauna, Argentina), durante un tiempo correspondiente a un 75 % del tiempo de cocción total (7 min). De esta manera se logró fijar la estructura sin formar la corteza de los productos. Seguidamente las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se congelaron a $-40\text{ }^\circ\text{C}$ hasta que la temperatura en su interior alcanzó los $-22\text{ }^\circ\text{C}$. Posteriormente las muestras se empaquetaron en bolsas de plástico y se almacenaron a $-18\text{ }^\circ\text{C}$ durante 60 días. La valoración de la calidad tecnológica de los panificados se realizó a los días 0, 1, 2, 15, 30 y 60. Previamente a la determinación de los parámetros tecnológicos las piezas de masa precocida se descongelaron, en primer lugar, dentro de sus envases a temperatura ambiente durante 20 min. En una segunda instancia se colocaron en una cámara a $30\text{ }^\circ\text{C}$, con 80 % de humedad relativa durante 35 min. Finalmente las muestras fueron horneadas hasta completar el tiempo total de cocción (9:30 min). Luego de 1 h de enfriamiento se realizaron las determinaciones relacionadas a la calidad tecnológica.

Por otro lado, las piezas de masa laminada sometidas a la metodología de masa congelada fueron congeladas a $-40\text{ }^\circ\text{C}$ hasta que la temperatura en su interior alcanzó los $-22\text{ }^\circ\text{C}$. Seguidamente se empaquetaron en bolsas de plástico y se almacenaron a $-18\text{ }^\circ\text{C}$ durante 60 días. Al igual que en el caso anterior, la evaluación de la calidad tecnológica se realizó a los días 0, 1, 2, 15, 30 y 60. Previamente las muestras se descongelaron dentro de sus envases en una cámara a $30\text{ }^\circ\text{C}$, con 80 % de humedad relativa durante 35 min. Luego se hornearon a $210\text{ }^\circ\text{C}$ durante 9:30 min y después de 1 h de enfriamiento se sometieron a la evaluación de los parámetros de calidad.

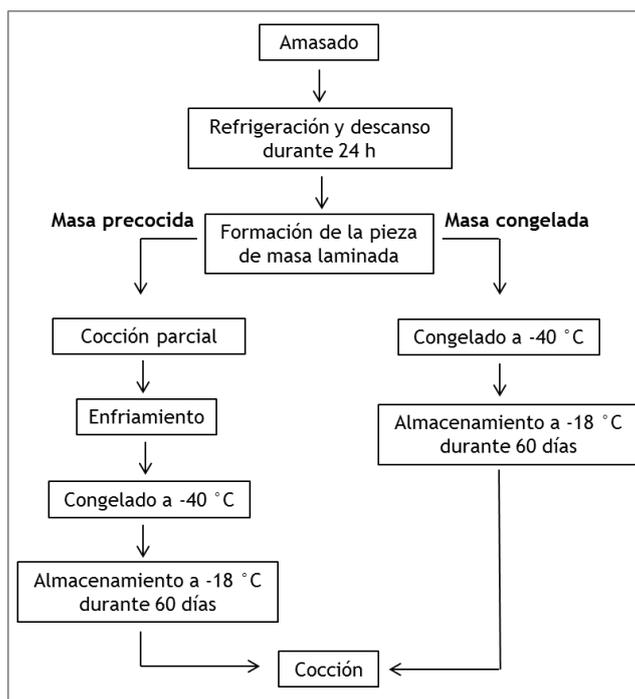


Figura 5.1 Metodologías de conservación evaluadas en panificados laminados LG

Evaluación de la calidad de los panificados

Los productos fueron sometidos a ensayos de calidad durante el período de almacenamiento. Las mediciones se realizaron los días 0, 1, 2, 15, 30 y 60. El cambio conformacional que experimentó la pieza de masa durante el proceso de elaboración se evaluó a través de las dimensiones de la masa (altura, ancho y largo), al final del proceso de laminado y hojaldrado o inicio del horneado y sobre el producto final luego de 1 h de horneado. Se calcularon las relaciones de altura y ancho con los valores de estas dimensiones de las piezas de masas no fermentadas en relación a los valores de los productos horneados y el factor de forma. El volumen específico se evaluó por desplazamiento de semilla de colza. Se llevó a cabo un análisis del perfil de textura utilizando un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, EUA). Se determinaron los parámetros de color (Lab, CIELAB 1976). Además, se evaluaron las características de la estructura interna (uniformidad, entropía, complejidad, contraste y dimensión fractal), por medio del análisis de imágenes de cortes transversales de los productos como se describió previamente. Las determinaciones se realizaron por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra.

5.1.4 Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó mediante el programa INFOSTAT (Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina). Las determinaciones experimentales fueron comparadas mediante un Análisis de la Varianza (ANAVA), en donde se utilizó la prueba de LSD Fisher para la comparación de medias y la relación entre las respuestas medidas se determinó mediante el coeficiente de regresión de Pearson con un p -valor $\leq 0,05$.

5.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.2.1 Ensayos preliminares

La masa elaborada con 2,5 % de goma xántica y *psyllium* y 0,02 % de CGTase no presentó buenas características para ser laminada y hojaldrada. Su elevada consistencia y pegajosidad dificultó el proceso de obtención de una pieza de masa laminada. Luego del horneado los productos permanecieron crudos en su interior y muy pegajosos. La presencia conjunta de goma xántica y *psyllium* en un 2,5 % provocó una excesiva retención de agua del sistema, la cual no pudo ser evaporada una vez finalizada la cocción.

Debido a estos resultados se realizó un ensayo de RVA para determinar las propiedades viscosimétricas de estos dos aditivos en conjunto. La hidratación de cada uno de ellos durante el ensayo es diferente comparada con la que experimentan cuando se encuentran en la masa, por lo que los resultados observados mediante RVA no se pueden relacionar directamente con su comportamiento en el sistema. Sin embargo, este análisis se realizó para evaluar el efecto relativo y combinado de ambos aditivos sobre la viscosidad, de manera tal de elegir un rango de los mismos en el diseño en bloque cuyo comportamiento viscosimétrico fuera similar al de la combinación (m1) de la formulación base.

La figura 5.2 muestra los perfiles de viscosidad de soluciones de goma xántica y *psyllium* en diferentes concentraciones. Durante el calentamiento (figura 1.a) se observó que las muestras presentaron comportamientos diferentes. En el rango comprendido entre los 0 y 30 °C, la muestra Xan1,5:Psy1,5 presentó una mayor viscosidad, seguida de la muestra más concentrada y de Xan0,5:Psy0,5. Entre los 30 y 90 °C se observó un leve aumento en el perfil de la muestra menos concentrada, mientras que Xan2,5:Psy2,5 experimentó un brusco aumento de viscosidad y presentó un perfil superior a Xan1,5:Psy1,5. La cual a su vez, en este intervalo de temperatura disminuyó su viscosidad con respecto al perfil que exhibió en los primeros minutos del ensayo.

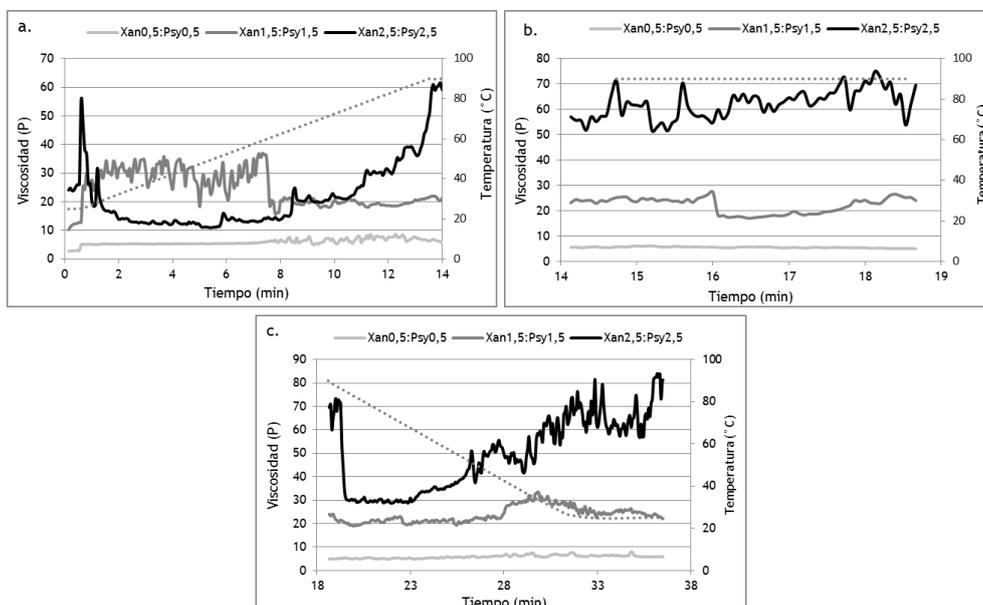


Figura 5.2 Perfiles de viscosidad de soluciones de goma xántica y *psyllium*. a. Calentamiento 25-90 °C. b. Isotherma a 90 °C. c. Enfriamiento 90-25 °C.

En la isoterma a 90 °C, la viscosidad de las soluciones permaneció constante (figura 5.1.b). La muestra Xan_{2,5}:Psy_{2,5} presentó un viscosidad significativamente mayor a las soluciones menos concentradas. Cuando la temperatura disminuyo se observó un descenso brusco de la viscosidad de Xan_{2,5}:Psy_{2,5}, mientras que en el caso de Xan_{1,5}:Psy_{1,5} fue gradual. Esto revela una mayor facilidad de la estructura tipo gel formada en la muestra más concentrada para desintegrarse, por la acción de la temperatura y las fuerzas de cizalla. Sin embargo, con el consiguiente descenso de la temperatura, la viscosidad de las tres muestras volvió a aumentar, aunque en diferente magnitud. Xan_{2,5}:Psy_{2,5} mostró la mayor viscosidad final, seguida de Xan_{1,5}:Psy_{1,5} y Xan_{0,5}:Psy_{0,5}. Este comportamiento resultó consecuente con las concentraciones de los hidrocoloides en cada solución. Sin embargo el aumento de viscosidad en este punto del ensayo denota la capacidad de los aditivos de gelificar con el descenso de temperatura.

Las muestras Xan_{1,5}:Psy_{1,5} y Xan_{0,5}:Psy_{0,5} presentaron valores de viscosidad cercanos a los obtenidos por la combinación m₁ (figura 3.8, capítulo 3). Por lo que los niveles mínimo y máximo elegidos para los hidrocoloides en el diseño fueron 0,1 y 0,5 %, respectivamente, y para la enzima CGTase fueron 0,05 y 0,25 %.

5.2.2 Efecto combinado de los aditivos sobre las características tecnológicas de los panificados

A partir del estudio del efecto individual de cada aditivo sobre la calidad de los productos, se seleccionaron dos hidrocoloides y una enzima con el objetivo de estudiar el efecto combinado sobre los parámetros de calidad de los productos laminados salados LG. La tabla 5.3 muestra los resultados de los parámetros de calidad evaluados en las 15 formulaciones y la muestra sin aditivos (control).

La mayoría de las formulaciones evaluadas, excepto las muestras 3, 4, 6, 10 y 13, presentaron valores de la relación de altura iguales o menores al control. Lo cual indica que en general las combinaciones de aditivos ensayadas no generan un efecto positivo en el crecimiento en dirección vertical de la estructura durante el proceso de producción, en relación al control.

Los gráficos tridimensionales de superficie de respuesta permiten evaluar el efecto combinado de un conjunto de factores, aditivos, sobre la respuesta de una variable, en este caso los parámetros de calidad tecnológica. La figura 5.2.a muestra los gráficos de superficie de respuesta para la relación de altura, en donde se observa que las combinaciones de hidrocoloides y la enzima tuvieron un efecto sobre la relación de altura. El mayor crecimiento en dirección vertical del sistema se vio promovido por altas concentraciones de goma xántica y CGTase y concentraciones mínimas y máximas de *psyllium*. Como se observó en los capítulos anteriores valores más grandes de la relación de altura no se asocian directamente con productos más altos al finalizar el horneado. Hay otros factores que influyen en la altura final del producto, como las propiedades de la masa. Piezas de masa que resisten en mejor medida el laminado y hojaldrado, como consecuencia de su extensibilidad, son más altas al inicio y final de la cocción. Sin embargo, el efecto observado en la figura 5.3.a permite visualizar concentraciones de los aditivos que generan una mejora en el crecimiento del sistema en dirección vertical.

En cuanto a la expansión en dirección lateral de las muestras, en general las combinaciones evaluadas no presentaron una mejora con respecto al control, y en

algunos casos hasta mostraron un aumento de los valores del parámetro (tabla 5.3). En el caso de productos de estructura laminada se busca que se expandan lateralmente lo menos posible durante el proceso de producción. Las dosis más altas de goma xántica y *psyllium* y las menores dosis de CGTase generaron un efecto positivo en la relación de ancho (figura 5.3.b). La presencia de goma xántica en la masa promueve la formación de una estructura más entrelazada con un mayor comportamiento viscoso durante el calentamiento. Lo cual impide que el sistema se expanda en menor medida en dirección lateral. El mismo efecto se observó en el barrido de temperatura para masas que contenían *psyllium*. Mientras que, con la menor dosis de CGTase evaluada en el capítulo 4 (0,2 %), la cual es cercana a la dosis máxima de la optimización, se observó una disminución de la viscosidad compleja de la masa durante el calentamiento. Por lo que resulta lógico que para promover una menor expansión horizontal del sistema la dosis de la enzima sea menor.

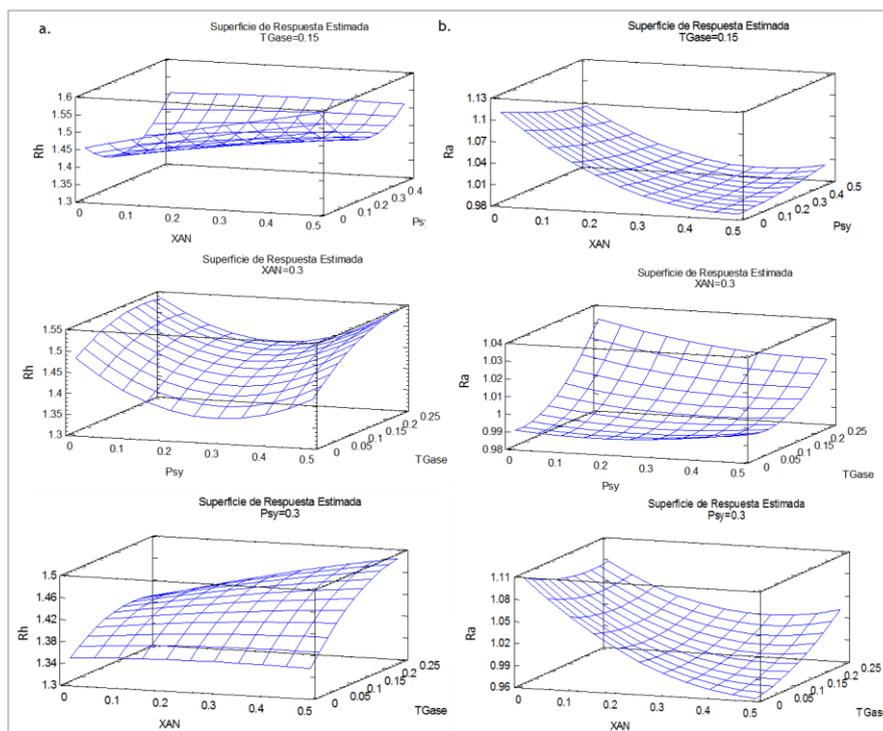


Figura 5.3 Gráficos de superficie de respuesta. a. Relación de altura (Rh). b. Relación de ancho (Ra).

Los productos panificados de las combinaciones obtenidas en el diseño de respuesta presentaron mayores valores del factor de forma en relación a la muestra sin aditivos (tabla 5.3). La incorporación combinada de goma xántica, *psyllium* y CGTase en las dosis ensayadas permitió obtener productos de mayor altura y menor ancho. Un aumento en las dosis de los hidrocoloides evaluados generó un incremento en el factor de forma de las muestras (figura 5.4.a). Mientras que el incremento de CGTase en la formulación de los panificados fue conveniente hasta un cierto valor crítico, por encima del cual se observó una disminución del factor de forma conforme aumentó la dosis de la enzima.

Durante la configuración del diseño de respuesta se minimizó la variable firmeza debido a los altos valores para este parámetro que presentaron las muestras elaboradas con los aditivos de manera individual (goma xántica: 115-119 N, *psyllium*: 58-66 N, CGTase: 58-64 N). La incorporación combinada de los aditivos permitió obtener productos con estructura interna de menor firmeza que las muestras

elaboradas con los aditivos por separado. En relación al control, algunas combinaciones fueron menos firmes mientras que otras presentaron mayores valores del parámetro de textura (tabla 5.3). Resulta necesario un equilibrio entre las propiedades texturales de los productos al final del horneado y las propiedades de la masa que le otorgan mayor resistencia a la deformación. En este sentido, el aumento de las dosis de aditivos provocó un incremento de la firmeza de la estructura hasta un cierto valor, el cual fue mayor al del control (figura 5.4.b). Por encima de este punto, la firmeza disminuyó. Por lo tanto la combinación de goma xántica con *psyllium* y CGTase logró disminuir los altos valores de este parámetro obtenidos principalmente con el empleo individual de goma xántica.

Tabla 5.3 Respuesta experimental de los parámetros de calidad tecnológica de panificados laminados LG

Muestra	Rh	Ra	FF	Firmeza (N)	L*	DF
1	1,43	0,97	0,68	70,21	52,47	1,67
2	1,36	0,97	0,58	59,35	53,92	1,43
3	1,49	1,04	0,61	55,17	56,90	1,61
4	1,49	1,03	0,57	55,21	50,58	1,62
5	1,43	1,00	0,59	65,48	51,56	1,68
6	1,54	0,99	0,64	73,37	55,22	1,62
7	1,38	1,04	0,54	67,92	57,83	1,58
8	1,46	1,02	0,59	54,01	56,83	1,65
9	1,48	1,00	0,57	62,02	51,68	1,59
10	1,52	1,01	0,61	53,32	50,62	1,66
11	1,47	1,02	0,58	66,46	52,74	1,67
12	1,42	1,06	0,52	40,07	51,99	1,62
13	1,53	1,00	0,64	68,38	51,72	1,70
14	1,46	0,99	0,58	63,87	51,46	1,62
15	1,45	1,05	0,52	36,20	55,06	1,63
Control	1,48	1,01	0,44	62,40	56,10	1,44

Rh: relación de altura, Ra: relación de ancho, FF: factor de forma, L*: luminosidad, DF: dimensión fractal.

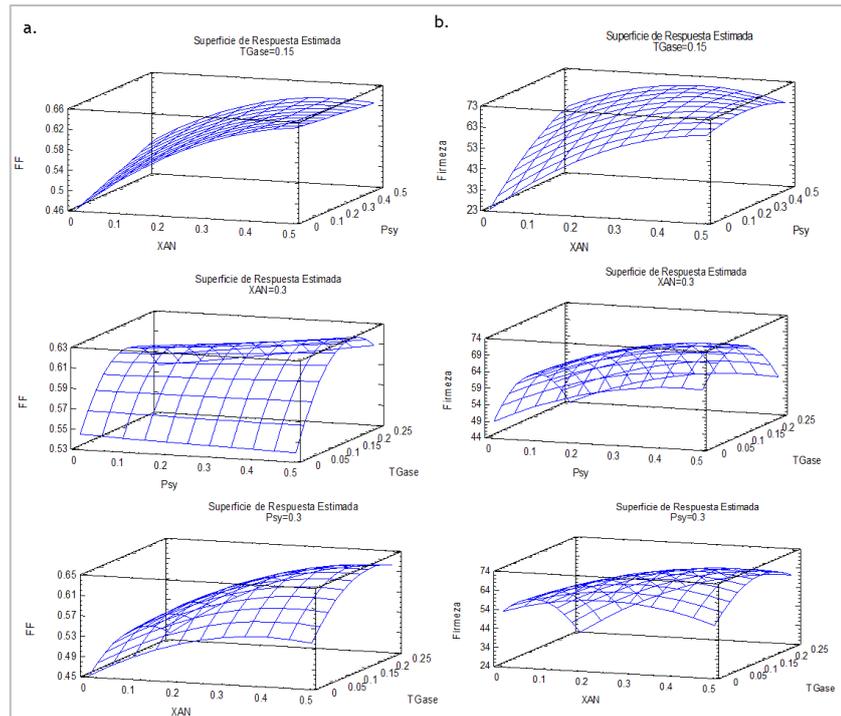


Figura 5.4 Gráficos de superficie de respuesta. **a.** Factor de forma (FF). **b.** Firmeza (N).

En general la presencia conjunta de los tres aditivos permitió obtener productos de estructura interna laminada (figura 5.5). Sin embargo, en el producto obtenido de la combinación 2 se observó una estructura interna de tipo más bien alveolar y semejante al control. Esto se condice con los mayores valores de dimensión fractal obtenidos por las combinaciones ensayadas, excepto para la muestra 2, en relación al control (tabla 5.3). En general la presencia conjunta de los aditivos permitió un arreglo geométrico de los elementos estructurales más complejo y de mayor rugosidad morfológica que el control, lo cual puede asociarse con una estructura más laminada. Con el incremento de goma xántica y CGTase en la formulación se observó un aumento de la dimensión fractal hasta un cierto valor (figura 5.6.a). El consiguiente aumento de las dosis de estos aditivos provocó una disminución del parámetro textural de la imagen. Mientras que el agregado de las dosis mínimas y máximas de *psyllium* permitió obtener estructuras internas con altos valores de dimensión fractal, lo cual indicó la existencia de un mayor nivel de laminado.

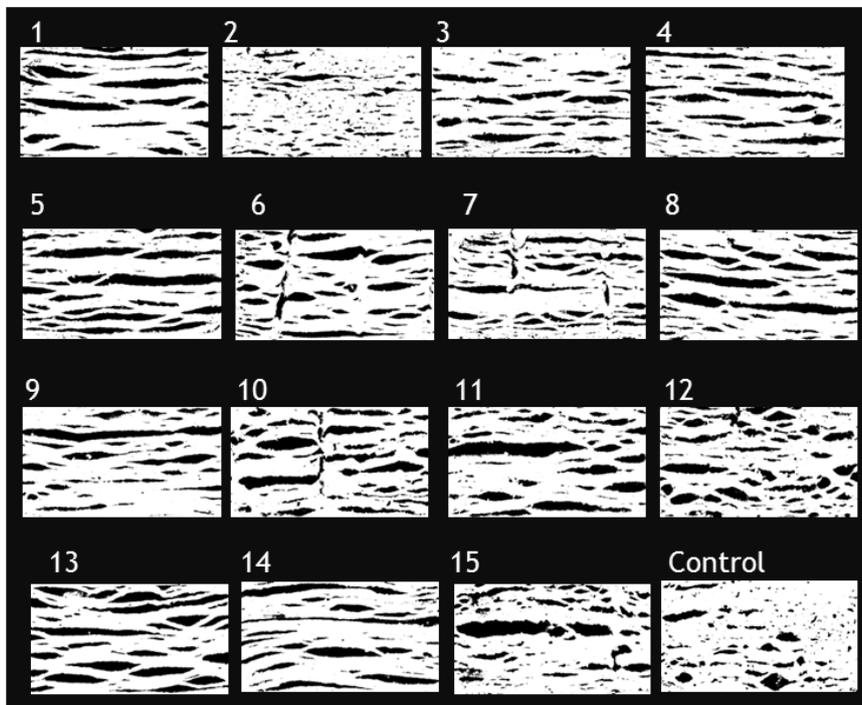


Figura 5.5 Imágenes binarizadas de la estructura interna de panificados laminados LG

En general las cortezas de los productos obtenidos de las combinaciones presentaron valores de L^* más bajos que el control, excepto las muestras 3, 7 y 8 (tabla 5.3). Por lo que la presencia combinada de los hidrocoloides y la enzima promovió la obtención de cortezas más oscuras en relación al producto sin aditivos. Las dosis mínimas y máximas de goma xántica y CGTase provocaron un efecto positivo en el parámetro L^* , obteniendo mayores valores (figura 5.6.b). Mientras que el incremento en la dosis de *psyllium* generó una respuesta positiva hasta un cierto valor, por encima del cual el sucesivo aumento del hidrocoloide provocó la disminución en la luminosidad.

La tabla 5.4 muestra los coeficientes de regresión significativos de las ecuaciones de los modelos ajustados para los parámetros de calidad tecnológica de panificados laminados LG. La CGTase presentó un efecto lineal positivo y el *psyllium* un efecto cuadrático positivo sobre la relación de alto. Es decir que a medida que se incrementa la cantidad de CGTase y *psyllium* adicionados la expansión vertical del producto durante el horneado es mayor. Las masas con diferentes dosis de *psyllium* presentaron

un comportamiento similar durante el calentamiento en el barrido de temperatura (capítulo 3). Sin embargo, por encima de los 60 °C la muestra con la mayor dosis del hidrocoloide fue la menos viscosa. En este sentido, se espera que una masa de menor viscosidad fluya en mayor medida durante el horneado y por lo tanto la estructura experimente un mayor crecimiento en dirección vertical. Del mismo modo, la masa con CGTase presentó una menor viscosidad que el control por encima de los 70 °C en el barrido de temperatura (capítulo 4).

La goma xántica mostró un efecto lineal negativo sobre la relación de ancho y un efecto lineal positivo sobre el factor de forma. Estos resultados indican que aumentos en la cantidad de goma xántica incorporada promueven una menor expansión en dirección horizontal de la pieza de masa durante el proceso de producción. A su vez, el producto panificado obtenido presenta mayor altura y menor ancho. La goma xántica forma una estructura de tipo "gel débil", la cual provoca el aumento de la respuesta viscosa de la masa y puede asociarse con una mayor resistencia del sistema a fluir. La goma xántica también mostró un efecto lineal positivo sobre la firmeza de la estructura interna de los panificados. Esto puede relacionarse con la menor expansión en dirección vertical del sistema laminado cuando la goma xántica está presente lo cual se traduce luego del horneado en productos que, si bien son más altos que el control, presentan una estructura interna compuesta por láminas y espacios vacíos de conformación alargada que imparten una mayor resistencia a la deformación.

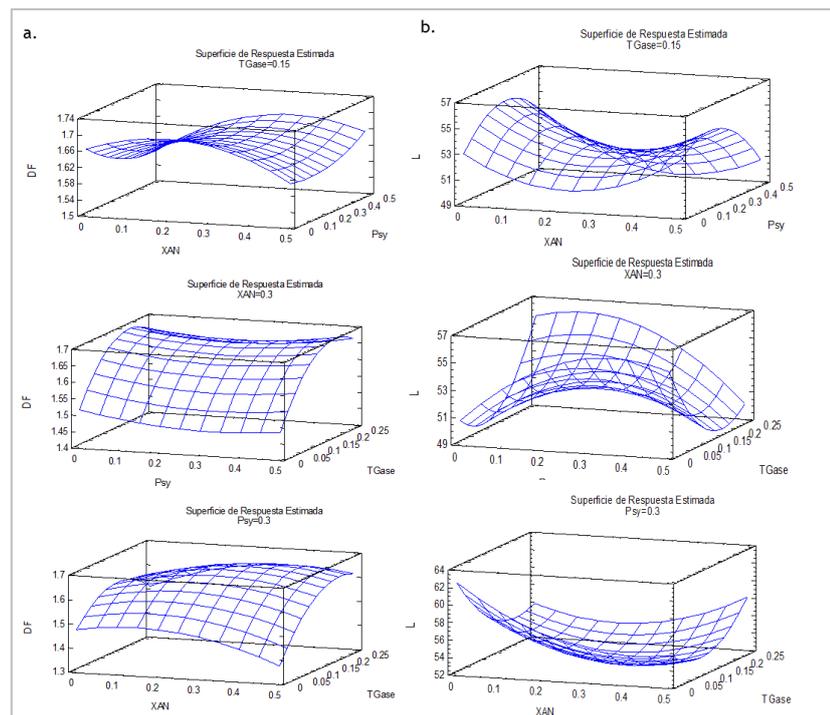


Figura 5.6 Gráficos de superficie de respuesta. a. Dimensión fractal (DF). b. Luminosidad (L^*)

Los tres aditivos incorporados mostraron un efecto sobre el parámetro de color. El *psyllium* tuvo un efecto lineal positivo, la goma xántica y CGTase presentaron efectos cuadráticos positivos y la interacción *psyllium*-CGTase un efecto cuadrático negativo sobre la luminosidad de las cortezas. Esto indica que los aditivos de manera individual promueven la obtención de cortezas más claras. Mientras que la presencia conjunta en el sistema de *psyllium* y la enzima produce un oscurecimiento de la corteza. San Miguel (2013) observó que el agregado de *psyllium* contribuyó de manera positiva en

la luminosidad de la corteza de panes de harina de arroz. Por otro lado, informó a cerca de una interacción entre los niveles de *psyllium* y agua incorporados en la masa, la cual presentó un efecto significativo cuadrático negativo sobre el parámetro L*. Barrera et al. (2016) observaron un efecto negativo del contenido de almidón dañado de harinas de trigo sobre la luminosidad de la corteza de los panes. En este sentido podemos asumir que el oscurecimiento de las cortezas con la incorporación conjunta de *psyllium* y la enzima se relaciona con la mayor absorción de agua debido a los efectos que estos aditivos generan sobre los componentes del sistema. La CGTase actuó sobre el almidón, el cual posiblemente se encontró más disponible para absorber agua debido a los complejos CD-proteínas. Por otro lado, como se observó mediante el análisis termogravimétrico, la presencia de *psyllium* disminuyó la cantidad de agua disponible para interactuar con otros componentes presentes en la masa.

La enzima mostró un efecto lineal positivo y la interacción goma xántica-CGTase un efecto cuadrático negativo sobre la dimensión fractal. El efecto que ejerce la enzima sobre la preservación de la estructura laminada debido a la formación de complejos CD-proteínas permite obtener estructuras internas de conformación rugosa y compleja. La interacción con goma xántica favoreció la presencia de una estructura laminada rugosa hasta un cierto valor de las dosis incorporada de ambos aditivos. Los consiguientes aumentos fueron en detrimento de la dimensión fractal. Como se observó anteriormente la presencia de goma xántica en una mayor dosis provocó una disminución de la solubilidad de las proteínas en buffer fosfato+SDS, debido a un efecto de repulsión del hidrocoloide; el cual provocó que las proteínas experimentaran un cambio conformacional hacia una forma más compacta. Por lo tanto podemos asumir que las proteínas se encontraron menos disponibles para formar complejos con las CD. De manera tal que el efecto positivo sobre la preservación de la estructura laminada observado con la CGTase se vio afectado cuando la goma xántica estuvo presente y se expresó en un coeficiente negativo.

Tabla 5.4 Coeficientes de regresión significativos de las ecuaciones de los modelos ajustados para los parámetros de calidad tecnológica de panificados laminados LG

Factor	Rh	Ra	FF	Firmeza (N)	L*	DF
Constante	1,43	1,13	0,42	36,65	56,18	1,58
A:Xan	ns	-0,63	0,58	109,97	ns	ns
B:Psy	ns	ns	ns	ns	32,84	ns
C:CGTase	0,44	ns	ns	29,49	ns	1,36
AA	ns	ns	ns	ns	42,55	ns
AB	ns	ns	ns	ns	ns	ns
AC	ns	ns	ns	ns	ns	-3,00
BB	1,41	ns	ns	ns	ns	ns
BC	ns	ns	ns	ns	-80,28	ns
CC	ns	ns	ns	ns	196,87	ns
R ²	84,54	85,62	74,48	85,38	90,00	89,69

Rh: relación de altura, Ra: relación de ancho, FF: factor de forma, L*: luminosidad, DF: dimensión fractal, ns: no significativo ($p > 0,05$).

5.2.3 Optimización de la formulación de panificados laminados LG

Los resultados obtenidos al evaluar la incorporación conjunta de los aditivos seleccionados demostraron un efecto positivo sobre los parámetros de calidad tecnológica de los panificados. Seguidamente a través de un procedimiento de optimización se calculó la combinación más adecuada de las variables (aditivos) para

obtener un producto de óptimas características. Es decir, un panificado laminado LG caracterizado por una estructura interna de gran complejidad topográfica debido a la presencia de láminas y espacios vacíos de conformación alargada, de firmeza intermedia y de altos valores de altura. Por lo que en la optimización se buscó maximizar la relación de alto, el factor de forma, el parámetro de color L^* y la dimensión fractal. La relación de ancho fue minimizada y se fijaron valores intermedios de firmeza. Los resultados obtenidos establecieron la siguiente combinación de variables como la más adecuada: 0,38 % de goma xántica, 0,10 % de *psyllium* y 0,23 % de CGTase.

Se elaboraron los panificados con las concentraciones establecidas en la optimización y se evaluó su calidad en relación al control y a las muestras elaboradas con los aditivos de manera individual. La optimización presentó una altura al inicio del horneado significativamente mayor al control y a la masa con CGTase (figura 5.7). Esto indica que la pieza de masa laminada resistió en mejor medida el laminado y hojaldrado en relación al control, debido a sus propiedades de extensibilidad. Durante el horneado no se observaron diferencias significativas en el crecimiento en dirección vertical entre las muestras evaluadas. Si bien el producto obtenido mediante la optimización presentó una relación de altura levemente menor al control, al finalizar el horneado fue significativamente más alto. Se observó un efecto positivo de la combinación de los aditivos en la altura de los productos en relación a la muestra con CGTase. Mientras que en comparación con los productos con hidrocoloides, la muestra optimizada fue levemente más baja.

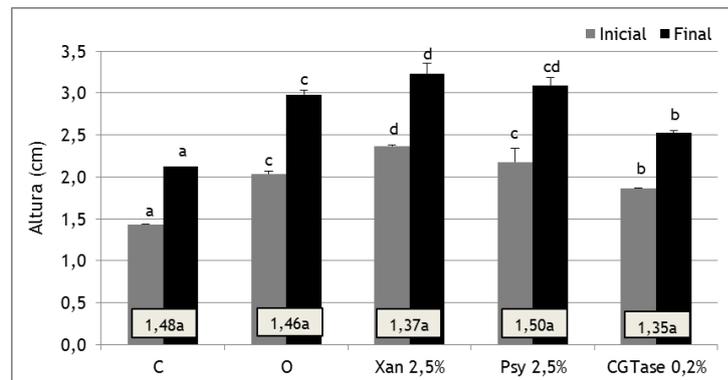


Figura 5.7 Altura y relación de altura de panificados laminados LG. \square : Relación de altura. C: control, O: optimización. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas en cada muestra ($p \leq 0,05$).

No se encontraron diferencias significativas entre los valores de relación de ancho de la optimización, el control y las muestras con los aditivos individuales (tabla 5.5). El empleo de los aditivos de manera combinada no tuvo un efecto sobre la expansión de la pieza de masa en dirección horizontal durante el horneado. Los productos optimizados presentaron un factor de forma mayor al control y la muestra con CGTase, es decir que fueron más altos y menos anchos. La presencia conjunta de los aditivos representó, en general, una mejora en la evolución conformacional de las piezas de masa y los productos. Aunque este efecto siempre fue menor al producido por la goma xántica.

La combinación y optimización de los aditivos no afectó la luminosidad de la corteza de los panificados. Si bien se observó una leve disminución de L^* en relación al control y las muestras con aditivos incorporados de manera individual, esta no resultó significativa. Se observó una disminución significativa de la firmeza en la muestra optimizada, en relación a los productos con hidrocoloides. Este efecto sobre el

parámetro de textura puede ser considerado como positivo ya que los productos elaborados con goma xántica, que mostraron las mejores características tecnológicas, presentaron estructuras internas excesivamente firmes.

Tabla 5.5 Parámetros de calidad tecnológica de panificados laminados LG

Muestra	Ra	FF	L*	Firmeza (N)	DF
Control	1,01 ^{ab}	0,44 ^a	(56±1) ^a	(62±4) ^{ab}	1,44 ^a
Optimización	1,02 ^{ab}	0,59 ^b	(53±2) ^a	(52±6) ^a	1,64 ^c
Xan 2,5 %	0,98 ^a	0,68 ^c	(55,5±0,8) ^a	(115±7) ^c	1,53 ^b
Psy 2,5 %	1,01 ^{ab}	0,60 ^b	(55,6±0,9) ^a	(66±1) ^b	1,47 ^a
CGTase 0,2 %	1,03 ^b	0,48 ^a	(56±1) ^a	(58,5±0,8) ^{ab}	1,56 ^b

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

En la imagen binarizada del interior del panificado optimizado se distinguió claramente la presencia de láminas, delimitadas por la formación de espacios vacíos de conformación alargada (figura 5.8). Esta estructura fue similar a la obtenida en las muestras con hidrocoloides agregados de manera individual, mientras que se diferenció del control; la cual se caracterizó por la presencia de alveolos de tamaño irregular. Estas observaciones se expresaron en la dimensión fractal, ya que la muestra optimizada mostró el mayor valor para este parámetro. La combinación y proporción de los aditivos seleccionados permitió la obtención de un producto de estructura interna de textura rugosa asociada a una compleja disposición de sus elementos estructurales.

Con el propósito de corroborar el poder predictivo de las ecuaciones para las variables de respuesta se calcularon las diferencias entre los valores medidos experimentalmente y los predichos y se expresaron en porcentaje (tabla 5.6). Las diferencias calculadas fueron menores al 15 %. Por lo que la combinación de variables definidas por la optimización permitió una buena predicción de los parámetros relacionados a la calidad tecnológica de panificados laminados LG.

Tabla 5.6 Valores esperados y experimentales de las variables de respuestas correspondientes a la optimización

Parámetros de calidad	Vp	Ve	(Ve-Vp)/Vp (%)
DF	1,58	1,64	3,70
FF	0,62	0,59	-3,87
Firmeza (N)	60,76	51,56	-15,15
L*	56,00	53,14	-5,10
Rh	1,51	1,46	-2,81
Ra	1,01	1,02	0,52

Vp: valor predicho, Ve: valor experimental, DF: dimensión fractal, FF: factor de forma, L*: luminosidad, Rh: relación de altura, Ra: relación de ancho.

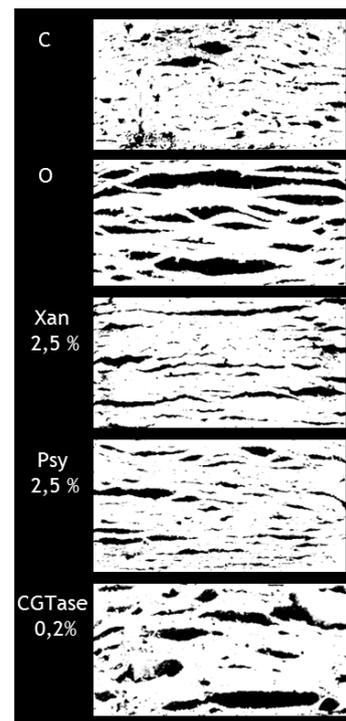


Figura 5.8 Imágenes binarizadas de la estructura interna de panificados laminados LG

5.2.4 Efecto de diferentes metodologías de conservación sobre la calidad tecnológica de los panificados

Una vez que el producto panificado ha sido elaborado y se almacena, comienza el proceso de envejecimiento. Durante este tiempo se producen cambios en el producto que cuando no son generados por la acción de microorganismos pero provocan una

disminución de la aceptación por parte del consumidor, se relacionan con el envejecimiento. En panes de harina de trigo se genera un endurecimiento de la miga, hay una pérdida de la crujibilidad de la corteza y se detectan cambios en el sabor y el aroma (Cauvain 1998). En productos laminados, como *Danish pastry*, Sternhagen y Hosney (1994) observaron un aumento de la firmeza y una disminución de la humedad de la miga. Hozová et al. (2002) detectaron una disminución general de la calidad sensorial de *croissants* almacenados durante un período de 90 días a temperatura ambiente. Los panificados tipo *puff pastry* poseen una vida de anaquel de alrededor de 7 días debido a su naturaleza altamente higroscópica, por lo que durante el proceso de envejecimiento se vuelven más duros y gomosos (Ke y Brown 1985).

El envejecimiento en los productos elaborados con harina de trigo está asociado con diversos factores, como la pérdida de humedad de la miga, la reorganización del almidón y las interacciones entre este último y las proteínas del gluten. Las diferencias de presión de vapor entre la corteza y la miga del panificado provocan un gradiente de humedad. Esta migración de agua hacia la corteza genera un aumento de la rigidez de la pared de los alveolos presentes en la miga y un incremento de la humedad en la corteza con la consecuente pérdida de su crujibilidad.

Por otro lado, durante el almacenamiento tiene lugar el proceso irreversible de retrogradación de las cadenas de amilopectina. Las bajas temperaturas y el paso del tiempo favorecen las interacciones entre los polímeros presentes en el sistema y la concomitante expulsión del agua retenida en la estructura. Las cadenas de amilosa presente en los productos panificados se asocian después del horneado, durante el enfriamiento de la pieza, y colaboran con la dureza inicial de la miga del panificado. El aumento de la dureza de la miga durante el almacenamiento se atribuye a los cambios de la molécula ramificada de amilopectina. En un producto fresco, las cadenas ramificadas se encuentran planas y dispersas en el agua disponible y se agregan gradualmente por interacciones intermoleculares, lo que aumenta la rigidez de la estructura de almidón y causa el endurecimiento de la miga. La amilopectina parte del estado completamente amorfo, en el producto fresco, para adoptar con el paso del tiempo un estado parcialmente cristalino y más ordenado (Biliaderis 1990). Las interacciones que se establecen entre el almidón y las proteínas durante el almacenamiento también generan un efecto negativo sobre las características texturales del panificado.

En el caso de los panificados LG, en donde el almidón es el componente mayoritario del sistema, la retrogradación es el principal proceso al cual se atribuye el detrimento de la calidad tecnológica (Seow y Teo 1996). Incluso algunos autores han informado que la retrogradación del almidón de arroz es mayor que la que experimenta el almidón de trigo (Baker y Rayas-Duarte 1998). Sumado a esto los productos LG, como el pan de harina de arroz, poseen una miga más seca y dura y son más susceptibles a retrogradar durante el almacenamiento que los panes con harina de trigo (Kadan et al. 2010). Por lo que es estudio de metodologías de conservación que permitan extender la vida de anaquel de los productos LG es de suma importancia.

El rechazo de los productos de panificación relacionado con su envejecimiento representa una importante pérdida económica. Diferentes estrategias se han estudiado y se utilizan en la actualidad para aminorar los efectos negativos anteriormente descritos. Entre ellas se encuentran las tecnologías de masas congeladas y masas parcialmente horneadas o precocidas. A partir de los resultados obtenidos en las secciones anteriores se evaluó el efecto de la aplicación de estas metodologías de conservación sobre la calidad tecnológica de las muestras control y la optimización.

El objetivo de la metodología de **masas precocidas** en muestras de harina de trigo es promover la gelatinización y coagulación del gluten, sin alcanzar a desarrollar reacciones de color en la corteza del producto (Roussel y Chiron 2002). Los productos parcialmente horneados experimentan dos etapas de cocción. Una primera fase en la que se hornea aproximadamente durante un tercio del tiempo de cocción total del panificado y en donde se busca fijar la estructura de la miga sin llegar a la formación de una corteza crujiente. Seguidamente su almacenamiento se puede realizar mediante distintas técnicas, como refrigeración, congelación o almacenamiento en atmósfera modificada o inerte. El producto se mantiene en dicho estado hasta el horneado final, en donde se completa el tiempo total de cocción y se genera la corteza y se produce la liberación de los aromas característicos. La aplicación de esta tecnología afecta los atributos de calidad de los productos. Vulicevic et al. (2004) observaron una pérdida de la humedad del pan precocido de harina de trigo durante el almacenamiento en congelación, como consecuencia de la disminución en la capacidad de retención del agua de la estructura panaria. Otros efectos negativos son el descascarillado de la corteza, producto de un secado excesivo de la superficie del pan al final del enfriamiento y congelación del producto precocido (Lucas et al. 2005, Hamdami et al. 2007). Además se ha observado un aumento en la retrogradación de la amilopeptina, lo cual conlleva a una modificación del encogimiento de la miga originando una rápida deformación durante la formación de cristales de hielo (Ribotta y Le Bail 2007).

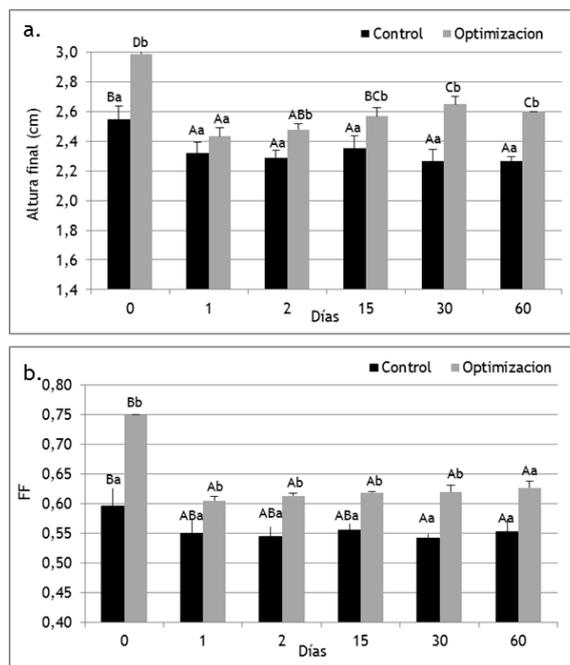


Figura 5.9 Dimensiones de panificados laminados LG sometidos a la tecnología de masa precocida. **a.** Altura final de los panificados. **b.** Factor de forma (FF) de los panificados. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras para cada día ($p \leq 0,05$). Letras mayúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre los días para cada muestra ($p \leq 0,05$).

En primer lugar para evaluar el efecto de la metodología de masas precocidas se elaboraron las piezas de masa laminada y se determinaron sus dimensiones. Las muestras optimizadas fueron más altas (altura promedio: 1,96 cm) que las piezas control (altura promedio: 1,87 cm). Lo cual se relacionó con una mejora de las propiedades elásticas de las masas debido a la presencia combinada de los aditivos. Seguidamente se realizó el pre-horneado. Como era de esperar la altura de los

productos aumentó luego de la cocción parcial y las piezas optimizadas (altura promedio: 2,58 cm) fueron más altas que el control (altura promedio: 2,30 cm).

Las muestras precocidas fueron congeladas y almacenadas. Los parámetros de calidad tecnológica se determinaron en diferentes días sobre los panificados. El producto control obtenido de la masa sin congelamiento (día 0) presentó la mayor altura. El congelado y almacenamiento de la masa precocida durante un día provocó una disminución de un 8,9 % de la altura inicial en el panificado obtenido (figura 5.9.a). Sin embargo, las muestras obtenidas de las piezas de masa que se conservaron durante más tiempo no modificaron su altura con respecto al día 1. El crecimiento de las muestras durante el proceso de producción de los panificados mediante la tecnología de masas precocidas se evaluó a través de las relaciones de altura y ancho (tabla 5.7). El control mostró una disminución del crecimiento vertical de su estructura luego del día 0. Por otro lado, en cuanto a la expansión en dirección horizontal no deseada en este tipo de productos, no se observaron diferencias en las muestras a lo largo de los días. Es decir que la implementación del pre-horneado no tuvo un efecto significativo en este parámetro, por lo tanto si bien las piezas crecieron verticalmente en menor medida con el aumento del tiempo de almacenamiento congelado; la expansión horizontal no fue promovida.

Tabla 5.7 Dimensiones de panificados laminados LG sometidos a la tecnología de masa precocida

	Día	0	1	2	15	30	60
Rh	C	(1,36±0,03) ^{Da}	(1,26±0,02) ^{BCba}	(1,20±0,03) ^{Aa}	(1,27±0,03) ^{Cba}	(1,19±0,04) ^{Aa}	(1,214±0,003) ^{ABa}
	O	(1,52±0,03) ^{Ab}	(1,24±0,02) ^{Aa}	(1,26±0,03) ^{Aa}	(1,28±0,03) ^{Aa}	(1,38±0,05) ^{Ab}	(1,34±0,02) ^{Ab}
Ra	C	(1,1±0,6) ^{Aa}	(1,03±0,06) ^{Ba}	(1,04±0,02) ^{Aa}	(1,0±0,6) ^{Aa}	(1,09±0,02) ^{Aa}	(1,06±0,02) ^{Aa}
	O	(1,02±0,01) ^{Ba}	(1,0±0,6) ^{Ba}	(1,00±0,03) ^{Aa}	(0,99±0,02) ^{Aa}	(1,049±0,001) ^{Ba}	(1,01±0,02) ^{Aa}

Rh: relación de altura, Ra: relación de ancho, C: control, O: optimización. Letras mayúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre los días para cada muestra ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas diferentes en cada fila indican diferencias significativas entre las muestras para cada día ($p \leq 0,05$).

La muestra sin congelación permitió obtener un panificado de mayor valor del factor de forma (figura 5.9.b). El aumento del tiempo de congelado de las masas precocidas fue en detrimento de este parámetro, y por lo tanto se obtuvieron panificados de menor altura y mayor ancho y largo. La conservación de las masas precocidas no provocó un efecto en la firmeza de los productos hasta el día 15 (figura 5.10). Después del cual se obtuvieron muestras de estructuras internas más firmes con valores superiores a los 60 N. La congelación durante un día de las masas precocidas provocó una gran disminución de la dimensión fractal (figura 5.11). Se observó una estructura con una importante cantidad de alveolos de distribución irregular, en relación a la muestra sin congelar. Sin embargo, no se detectaron modificaciones de este parámetro hasta el día 30, después del cual se observó nuevamente un gran detrimento de la tortuosidad de la estructura. La muestra se caracterizó por una disminución de la cantidad de alveolos, una miga de textura más suave y compacta. Por lo tanto, el mayor deterioro de la estructura interna del control estuvo relacionado con el congelamiento inicial de la muestra, ya que las características internas no se vieron afectadas durante el almacenamiento congelado hasta después del día 30.

La muestra optimizada elaborada a partir de masa sin congelar presentó la mayor altura al finalizar el horneado (figura 5.9.a). Luego de un día de almacenamiento el producto obtenido fue más bajo y se observó una gran disminución de este parámetro (18,6 % de la altura inicial de la muestra del día 0). Los panificados obtenidos de piezas de masa sometidas a mayores tiempos de conservación, 30 y 60 días, fueron

levemente más altos que los obtenidos en los días 1 y 2. Estos resultados concuerdan con la tendencia observada para los valores de relación de altura (tabla 5.7). El panificado sin congelar experimentó el mayor crecimiento, el cual se vio disminuido en los productos cuyas masas fueron congeladas durante uno y dos días. Sin embargo, un mayor tiempo de conservación tuvo un efecto positivo en la capacidad de expansión vertical de los sistemas.

A pesar de esto, los productos obtenidos de las masas sometidas a la congelación presentaron menores valores del factor de forma en relación a la muestra sin conservación (figura 5.9.b). Por otro lado, no se observaron cambios en este parámetro con el paso del tiempo como ocurrió con el control, es decir que la conformación global de las muestras optimizadas no se vio afectada por mayores tiempos de congelación. Un incremento de los tiempos de conservación provocó una disminución progresiva de la firmeza de la estructura interna de los panificados (figura 5.10). Al igual que en el control se observó una disminución de la dimensión fractal en los productos con el congelamiento inicial de la masa precocida (día 1), aunque este ocurrió en menor medida. Si bien la tendencia observada en los días subsiguientes no fue clara, se observó una leve disminución de la dimensión fractal en los productos de las masas almacenadas por 2,15 y 30 días. Sin embargo, las imágenes mostraron estructuras con la presencia de láminas y espacios de conformación alargada distribuidos en toda la superficie del corte transversal. A los 60 días de almacenamiento las muestras siguieron presentando un valor alto de dimensión fractal y el producto mostró algunas capas aunque de mayor espesor. Esto se condice con estructuras que no perdieron su capacidad de crecimiento en dirección vertical y concomitantemente generaron productos de gran altura.

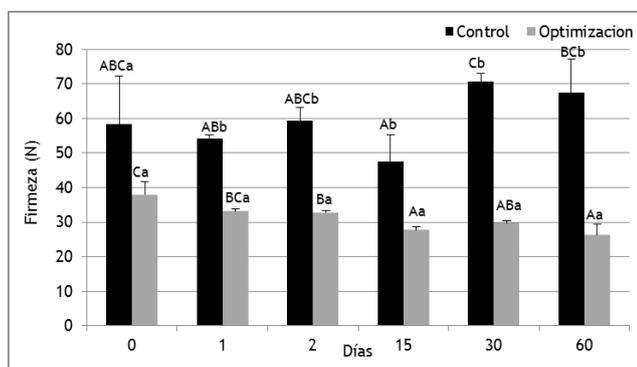


Figura 5.10 Firmeza de panificados laminados LG sometidos a la tecnología de masa precocida. Letras mayúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre los días para cada muestra ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras para cada día ($p \leq 0,05$).

Al comparar el comportamiento de las muestras control y optimización durante el almacenamiento se observaron algunas diferencias. El producto obtenido de masa optimizada sin congelar fue más alto que el control (figura 5.9.a). Si bien al día 1 las muestras no lograron diferenciarse entre sí, en los días siguientes los panificados optimizados fueron más altos que el control. No se observaron diferencias significativas entre la capacidad de crecimiento en dirección vertical de las muestras almacenadas hasta durante los primeros 15 días (tabla 5.7). Mientras que a tiempos mayores de conservación las muestras optimizadas mostraron mayores valores para la relación de altura que el control. Si bien no hubo diferencias significativas en el factor de forma entre las muestras, la tendencia observada mostró que los productos horneados optimizados fueron más altos y de menor ancho y largo que el control

durante todo el ensayo (figura 5.9.b). Las muestras optimizadas presentaron estructuras internas más blandas que el control durante los 60 días (figura 10). Sciarini et al. (2012c) informaron el mismo efecto de la goma xántica sobre la firmeza de panes de harina de arroz y maíz sometidos a conservación obtenidos de masas precocidas. Si bien no se encontraron diferencias significativas en la dimensión fractal entre las muestras durante la conservación, la tendencia observada mostró que los productos optimizados tuvieron una estructura laminada y de textura rugosa durante los 60 días (figura 5.11). Mientras que el control mostró una miga con alveolos, la cual se suavizó precipitadamente después del día 30 debido a la formación de una estructura más compacta.

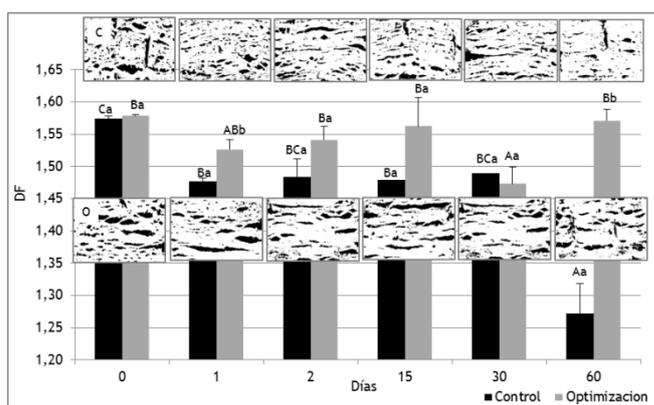


Figura 5.11 Dimensión fractal (DF) de panificados laminados LG sometidos a la tecnología de masa precocida. C: control, O: optimización. Letras mayúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre los días para cada muestra ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras para cada día ($p \leq 0,05$).

La **congelación** de masas se aplica a la producción de una gran variedad de panificados, entre los cuales se encuentran los *croissants*, como uno de los más importantes. Este sistema de producción centraliza el armado de las piezas de masa pero descentraliza el horneado en pequeños comercios permitiendo la obtención de un producto recién horneado en todo momento. Sin embargo, esta tecnología presenta ciertas desventajas ya que las masas congeladas son sistemas complejos más sensibles al cambio de los ingredientes y a las condiciones de proceso que los de elaboración de masas tradicionales. Diversos autores han observado un detrimento en la calidad de masas congeladas durante el almacenamiento (Inoue y Bushuk 1991, Kenny et al. 1999, Ribotta et al. 2001). Los efectos negativos se asocian con una disminución en la fuerza de la masa y una pérdida gradual de la actividad y viabilidad de las levaduras. Esto conlleva, en sistemas sometidos a fermentación, a una disminución de la capacidad de retener gases. Lo cual se traduce en un producto horneado de menor volumen y textura deteriorada.

Con el objetivo de evaluar el efecto de la metodología de congelación en la calidad tecnológica de panificados laminados LG se elaboraron las piezas de masa laminadas y se determinó la altura de las mismas antes del congelamiento. Las muestras optimizadas (altura promedio: 1,95 cm) fueron levemente más altas que el control (altura promedio: 1,89 cm), lo cual se asoció con el efecto de los aditivos en el sistema anteriormente descrito.

Luego las muestras se congelaron y almacenaron. A diferentes días las piezas de masa se descongelaron y hornearon. La figura 5.12 muestra las dimensiones de los productos evaluadas durante un periodo de 60 días. La altura del panificado control

disminuyó de manera gradual hasta el día 15 (figura 5.12.a). Seguidamente hubo una disminución más drástica de este parámetro a los 30 y 60 días (25,5 % y 26,8 % de la altura del control al día 0). La pieza de masa sin almacenamiento (día 0) experimentó la mayor expansión en dirección vertical (tabla 5.8). Las muestras almacenadas y congeladas presentaron menores valores de la relación de altura. Por lo que la congelación de las piezas de masa disminuyó la capacidad del sistema para crecer de manera vertical. Por otro lado, en general, no se observaron cambios significativos en la expansión en dirección horizontal del control a lo largo de período de tiempo evaluado. El panificado obtenido de la pieza de masa sin congelar (día 0) mostró el mayor factor de forma (figura 5.12.b). Los valores para este parámetro de calidad disminuyeron en las muestras provenientes de masas congeladas.

No se observaron diferencias significativas en la firmeza entre los productos obtenidos de las piezas de masa control sin almacenamiento (día 0) y las que se conservaron hasta el día 15 (figura 5.13). Luego de este tiempo hubo un aumento significativo de la firmeza de la estructura interna del control.

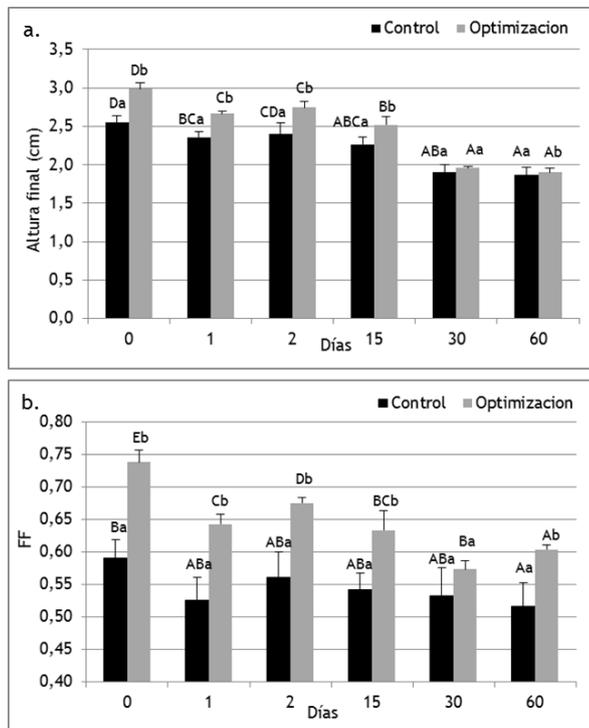


Figura 5.12 Dimensiones de panificados laminados LG sometidos a la tecnología de masa congelada. **a.** Altura después del horneado de los panificados. **b.** Factor de forma (FF) de los panificados. Letras mayúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre los días para cada muestra ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras para cada día ($p \leq 0,05$).

El efecto de la congelación sobre la conformación de los elementos estructurales, como alveolos y capas, se evaluó mediante la dimensión fractal de imágenes de las estructuras internas de los productos. En general el control mostró una leve disminución de este parámetro textural a partir de que las piezas de masa se congelaron y almacenaron hasta el día 15 (figura 5.14). Seguidamente con el aumento del tiempo de congelación de las piezas de masa, los panificados obtenidos disminuyeron significativamente su valor de dimensión fractal. Esto se condice con las imágenes del interior de las muestras, en donde se observó para los días 30 y 60 estructuras con una menor cantidad de alveolos, más compactas y densas.

El almacenamiento y congelamiento provocaron cambios en la muestra sin aditivos, los cuales fueron en detrimento de su calidad tecnológica, principalmente después de los 30 días de conservación. Con el aumento del tiempo de congelado de las masas se obtuvieron productos cada vez más bajos, de mayor firmeza y con una estructura que creció en menor medida y presentó una estructura poco porosa, en relación a las imágenes de los primeros días.

Por otro lado se evaluó el efecto de la congelación de masas en la muestra optimizada. El producto obtenido de la masa sin congelamiento (día 0) presentó el mayor valor de altura (figura 5.12.a). Los sucesivos tiempos de congelamiento y almacenamiento de las piezas de masa laminadas provocaron una disminución de la altura de los panificados obtenidos a partir de las mismas. Sin embargo, la pérdida en la altura de los productos fue mayor al aumentar el tiempo de almacenamiento de la masa en estado congelado. A los 30 y 60 se alcanzó una reducción del 34,6 % y 36,4 %, respectivamente, del valor inicial (altura de la optimización al día 0). El mayor crecimiento en dirección vertical se observó en el producto elaborado a partir de la muestra sin conservación (día 0), mientras que el posterior congelamiento tuvo un efecto negativo en la relación de altura (tabla 5.8). Por otro lado, en general no hubo cambios en la relación de ancho de las muestras con el almacenamiento. Los productos presentaron menores valores del factor de forma conforme aumentó el tiempo de congelamiento de las masas (figura 5.12.b).

Tabla 5.8 Dimensiones de panificados laminados LG sometidos a la tecnología de masa congelada

Día	0	1	2	15	30	60	
Rh	C	(1,36±0,03) ^{Ca}	(1,20±0,04) ^{Aba}	(1,3±0,1) ^{Ba}	(1,17±0,03) ^{Aba}	(1,24±0,04) ^{Aba}	(1,14±0,04) ^{Aa}
	O	(1,52±0,03) ^{Db}	(1,37±0,01) ^{Cb}	(1,37±0,04) ^{Ca}	(1,31±0,04) ^{Bb}	(1,22±0,01) ^{Ba}	(1,25±0,03) ^{Bb}
Ra	C	(1,08±0) ^{Ab}	(1,16±0,09) ^{Ba}	(1,05±0,03) ^{Aa}	(1,02±0,02) ^{Aa}	(1,025±0,001) ^{Aa}	(1,052±0,001) ^{Ab}
	O	(1,02±0,01) ^{Ba}	(1,02±0,02) ^{Ba}	(1,01±0,01) ^{Aba}	(0,98±0) ^{Aa}	(1,03±0,03) ^{Ba}	(0,9753±0,0004) ^{Aa}

Rh: relación de altura, Ra: relación de ancho, C: control, O: optimización. Letras mayúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre los días para cada muestra ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas diferentes en cada fila indican diferencias significativas entre las muestras para cada día ($p \leq 0,05$).

Se observó un leve efecto del empleo de la metodología de conservación en la firmeza de la estructura de los productos optimizados (figura 5.13). Sin embargo, la tendencia encontrada no fue clara. En general las muestras no presentaron cambios significativos en sus valores de firmeza con respecto a la muestra del día 0. Únicamente los panificados obtenidos de las piezas de masa almacenadas hasta los días 1 y 30 fueron más duros.

Hubo una progresiva disminución de la dimensión fractal de los productos conforme aumentó el tiempo de congelado de las masas (figura 5.14). Esto puede asociarse con un gradual suavizado de la textura de la imagen, conforme la estructura se simplificó debido a la ausencia de láminas. Si bien la reducción no fue significativa, en los productos almacenados hasta los días 30 y 60 se observó la formación de estratos más gruesos y una menor cantidad de espacios de conformación alargada.

Baier-Schenk et al. (2005) observaron que la formación de cristales y su crecimiento en masa de panes de harina de trigo durante el congelamiento provocaban daños en la estructura de la red de gluten. El deterioro de la red proteica tuvo un efecto negativo sobre la capacidad de la estructura para retener el dióxido de carbono liberado durante la fermentación, lo que se tradujo en una disminución del volumen de los panes obtenidos de masas congeladas. En los productos laminados el fortalecimiento de la estructura de la masa promueve la expansión vertical del sistema durante el horneado. Por lo tanto, la pérdida en la capacidad de crecimiento vertical

durante el congelamiento puede estar relacionada con la interrupción de la continuidad de las capas debido a la formación de cristales de hielo durante el almacenamiento. Esto conlleva a la obtención de productos panificados laminados de menor altura y con una estructura interna menos laminada. Ban et al. (2016) observaron que la formación de cristales en piezas de masa de *croissants* durante el congelamiento generó productos de mayor firmeza y menor volumen. Además informaron que la velocidad de congelamiento determina el tamaño de los cristales formados en la masa y por lo tanto la magnitud del efecto de los mismos sobre la estructura.

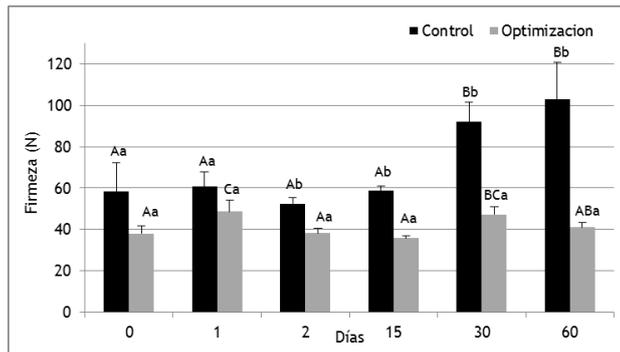


Figura 5.13 Firmeza de panificados laminados LG sometidos a la tecnología de masa congelada. Letras mayúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre los días para cada muestra ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras para cada día ($p \leq 0,05$).

Si bien el empleo de la metodología de congelación provocó el deterioro de ciertas características de la muestra optimizada, ésta soportó en mejor medida que el control el periodo de conservación. Los productos optimizados fueron más altos (figura 5.12.a) y experimentaron un mayor crecimiento en dirección vertical en relación al control durante el ensayo (tabla 5.8). Gerrard et al. (2000) también observaron un efecto positivo con la incorporación de transglutaminasa, la cual fortaleció la estructura de las masas de *croissants* y por lo tanto experimentaron un mayor crecimiento vertical que el control durante el congelamiento por 100 días. Por otro lado, se observaron diferencias significativas entre los valores del factor de forma para las muestras durante los 60 días. Los productos optimizados presentaron mayor altura y menor ancho y largo que el control.

Las muestras optimizadas fueron menos firmes que el control durante el período de conservación, aunque esta diferencia fue significativa después del segundo día de congelamiento (figura 5.13). El efecto de los hidrocoloides sobre las propiedades de panificados LG resulta dependiente del origen del aditivo y de la cantidad de agua utilizada. Por lo que las comparaciones entre los comportamientos de los sistemas LG son difíciles, sumado a la gran variación que existe entre las características de los almidones y proteínas de la formulación. La bibliografía informa sobre diferentes efectos de la goma xántica sobre las propiedades de textura de productos LG elaborados de masas congeladas o refrigeradas. Lazaridou et al. (2007) observaron un incremento de la firmeza en panes de harina de arroz con la incorporación de 1 y 2 % de goma xántica conforme aumentó el tiempo de conservación. Lo cual fue asociado con una gran disminución de la actividad de agua del sistema en el tiempo. Mientras que Lorenzo et al. (2009) no observaron variaciones durante el tiempo de congelado en la fuerza máxima de quiebre de discos de empanadas LG cuando agregaron goma xántica. En el caso del *psyllium*, Cappa et al. (2013) observaron una disminución de la

firmeza de panes de harina de arroz y almidón de maíz con 1,5 y 2,5 % del hidrocoloide sometidos a conservación.

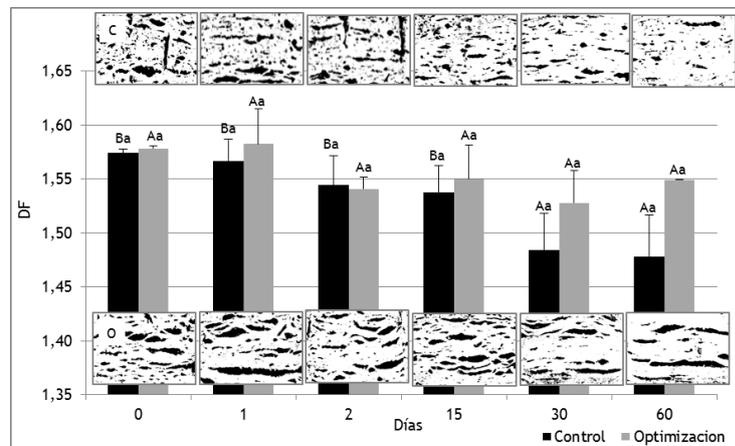


Figura 5.14 Dimensión fractal (DF) de panificados laminados LG sometidos a la tecnología de masa congelada. C: control, O: optimización. Letras mayúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre los días para cada muestra ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre las muestras para cada día ($p \leq 0,05$).

Por otro lado, las reacciones de ciclación promovidas por la CGTase conllevan a la formación de ciclodextrinas (CD) que interactúan con las proteínas y el almidón presente en el sistema. Estos complejos inhiben las interacciones proteína-almidón, responsables de la obtención de migas más duras. Por lo tanto se promueve la obtención de estructuras internas menos firmes. Gujral et al. (2003) evaluaron la firmeza de panes de harina de arroz con y sin CGTase congelados durante 6 días. Estos autores informaron una disminución del parámetro textural con la incorporación de CGTase, tendencia que se mantuvo conforme aumentó el tiempo de conservación. A su vez observaron una disminución de la velocidad de retrogradación de la amilopectina con la presencia de CGTase. Estos resultados se asociaron a la formación de complejos CD-proteínas y se relacionaron con la disminución de la firmeza de los productos durante el almacenamiento.

Por lo tanto el efecto positivo generado por la presencia combinada de los aditivos sobre la firmeza de los productos laminados en relación al control durante la conservación puede estar asociado, con la acción de los mismos sobre las interacciones entre los componentes del sistema. Como se observó anteriormente en el capítulo 3 la goma xántica y el *psyllium*, a través de diferentes mecanismos, interfieren en las interacciones entre las proteínas, lo cual puede estar afectando las interacciones entre estas y el almidón. Por otro lado, la CGTase actuó sobre el almidón e indirectamente sobre las proteínas a través de la formación de complejos con las CD, como se observó en el capítulo 4.

No se encontraron diferencias significativas en los valores de dimensión fractal entre las muestras obtenidas de masas que se conservaron hasta el día 15 (figura 5.14). Sin embargo, en las muestras optimizadas se observó la presencia de espacios vacíos de conformación alargada de gran tamaño, mientras que en control éstos fueron más pequeños y hubo una mayor cantidad de alveolos. Las masas optimizadas congeladas hasta los días 30 y 60 generaron panificados con valores de dimensión fractal mayores al control. Si bien estas diferencias no fueron significativas, la tendencia se condice con las imágenes de las estructuras internas. En el control se observó una estructura

más compacta, mientras que la optimización mostró una mayor cantidad de espacios vacíos de conformación alargada.

5.3. CONCLUSIONES

Se estudió el efecto combinado de goma xántica, *psyllium* y CGTase sobre las características tecnológicas de los panificados laminados LG.

A través de la metodología de optimización de respuestas se determinaron las concentraciones de goma xántica, *psyllium* y CGTase que permitieron obtener un panificado laminado libre de gluten de buenas características y calidad tecnológica.

En general la cocción parcial de las piezas de masa y su almacenamiento congelado generaron cambios en detrimento de la calidad tecnológica de los panificados, en relación a los productos obtenidos de masas sin este tratamiento. Sin embargo, si bien la optimización sufrió un mayor impacto sobre sus dimensiones durante la congelación inicial (día 1), presentó una estructura capaz de soportar en mejor medida los cambios físicos que tuvieron lugar durante el almacenamiento. Por lo tanto, se obtuvieron productos de estructura laminada que no perdieron su capacidad de expansión vertical después de 60 días de almacenamiento. De manera tal que la tecnología de masa precocida resultó conveniente para la obtención de productos laminados LG.

Por otro lado, en el caso de la metodología de masas congeladas los mayores cambios sobre las dimensiones de los productos se observaron después de los 30 días de almacenamiento. Por lo que el almacenamiento congelado generó un mayor impacto negativo sobre las muestras en relación a la congelación inicial de las mismas. A pesar del detrimento observado, la fórmula optimizada soportó en mejor medida que el control el tratamiento aplicado.

Conforme aumentó el tiempo del almacenamiento congelado de las masas control, lo productos obtenidos fueron más bajos, de mayor firmeza y con una miga más compacta. Mientras que las masas optimizadas presentaron mayor capacidad de expansión vertical que el control, lo cual se tradujo en productos más altos y de estructura laminada. La tecnología de masas congeladas permitió obtener panificados laminados LG de buenas características tecnológicas por un menor período de tiempo que la metodología de masas precocidas.

Conclusiones generales

En los últimos años la comunidad científica ha informado sobre la existencia de un amplio espectro de trastornos crónicos relacionados con la intolerancia de las prolaminas contenidas en ciertos cereales, como el trigo, la avena, el centeno y la cebada. Surge entonces la necesidad de ampliar la oferta de productos que resulten aptos para el consumo de las personas que padecen estas enfermedades. El desafío científico se manifiesta en mayor medida en aquellos alimentos que estructuralmente dependen de las proteínas que contienen. Ya que sus propiedades intrínsecas se ven afectadas durante el proceso de producción, como así también las características sensoriales y tecnológicas del producto final.

En Argentina, como también en otros países del mundo, los productos panificados son parte de la dieta básica y diaria de la población. Las masas libres de gluten (LG) carecen de una red continua de proteínas, por lo que el almidón, presente en una gran proporción, es el principal elemento estructural. Esto provoca cambios indeseables en las propiedades de las masas y se vuelve necesario utilizar una combinación de ingredientes y aditivos que permitan parcialmente imitar las propiedades de la red de gluten. Por lo que innumerables investigaciones se han llevado a cabo sobre el empleo de diferentes ingredientes LG en el desarrollo de la estructura y características deseables de panes, masas para pizza y pastas. Como así también en aquellos productos en los que el gluten no cumple una función estructural de relevancia, como galletitas, snacks y bizcochuelos. Sin embargo, no se han encontrado evidencias de la evaluación del efecto de la incorporación de aditivos en panificados laminados salados LG tipo *puff pastry* o "criollitos".

El trabajo de investigación llevado a cabo se basó en el estudio y desarrollo de un producto panificado libre de gluten de estructura laminada, que incluyó la utilización de una mezcla de harinas y almidón libres de gluten y la evaluación de aditivos que actuaron sobre los diferentes componentes del sistema.

Para lograr el objetivo principal fue necesario en una primera etapa determinar el efecto de la utilización de harinas de diferentes tipos de trigo sobre las propiedades estructurales de las masas laminadas y la calidad tecnológica de los panificados. Se utilizaron muestras de harinas de trigos pan y blando. Los resultados encontrados sugirieron la existencia de un efecto de la calidad de la red de gluten y la presencia de un cierto nivel de componentes hidrofílicos, como arabinoxilanos y almidón dañado, sobre el comportamiento de la masa y las características del producto. Se encontraron correlaciones positivas entre los parámetros relacionados a la calidad de la red de gluten, como el contenido de proteínas, macropolímero de gluteninas y gluten húmedo, y el tiempo de relajación de la pieza de masa laminada luego de que se le aplicó una deformación. Del mismo modo, los SRC carbonato, agua y sacarosa correlacionaron de manera positiva con la viscosidad aparente y la resistencia a la deformación de las masas. A su vez estos parámetros reológicos de la masa mostraron asociaciones positivas con la altura de los productos al inicio y final de la fermentación como también luego del horneado. Mientras que correlacionaron de manera negativa con la expansión de la pieza en dirección horizontal durante el horneado. Los módulos elásticos de las masas correlacionaron positivamente con la firmeza de los productos. Estas asociaciones sugieren un efecto de la calidad de la red de gluten, principalmente sobre la consistencia de la masa. Por otro lado, la presencia de componentes con capacidad de absorber agua también influyó en las características tecnológicas de los productos. Un cierto nivel de estos componentes permitió obtener masas con una

estructura rígida y de comportamiento viscoso. Cuando las piezas de masa fueron sometidas a compresión en el laminado y a calentamiento durante la cocción, su consistencia y viscosidad tuvo un papel fundamental en la expansión vertical; concomitantemente en la altura final y en la presencia de una estructura interna más laminada en los panificados. Los parámetros relacionados a la calidad de la red de gluten y a la presencia de componentes hidrofílicos correlacionaron de manera positiva con la altura de los productos en las diferentes etapas de producción, como así también con el factor de forma y la dimensión fractal.

Por otro lado se establecieron relaciones entre el contenido de sólidos grasos (SFC) y el comportamiento reológico de diferentes muestras de materia grasa y la calidad sensorial y tecnológica de productos laminados salados con harina de trigo. Las muestras de materia grasa con un SFC superior al 20 % en el rango de temperatura 15-35 °C mostraron un comportamiento más viscoso y una estructura con mayores puntos de contacto y fueron menos sensibles a los cambios de temperatura. Como consecuencia, se obtuvieron piezas con capas de grasa y masa de mayor estructuración, lo cual impidió su colapso durante las etapas de laminado y horneado. Esta conformación estructural le otorgó al sistema mayor consistencia y resistencia a la deformación y promovió el crecimiento en dirección vertical en lugar de la expansión lateral, conservando la simetría durante los procesos de fermentación y cocción. Luego del horneado se obtuvieron panificados de mayor altura, con una estructura interna compleja formada por láminas. Estos productos resultaron ser los más preferidos por los evaluadores del panel sensorial y fueron caracterizados por una gran simetría y un mayor nivel de laminado de la estructura interna.

Una vez establecido el proceso de producción y los parámetros de calidad de los productos se evaluó el efecto de la incorporación de hidrocoloides sobre las propiedades estructurales de masas y la calidad tecnológica de panificados laminados LG. Se elaboraron masas y panificados semi-hojaldrados con harina de arroz y soja y almidón de mandioca y margarina para hojaldrado sin aditivos (control) y con 2,5 % y 5 % de goma xántica, *psyllium* y HMPC. La presencia de goma xántica provocó la rigidización de la masa durante la deformación y en la relajación el sistema mostró una mayor capacidad elástica y grado de recuperación en relación al control. También hubo un efecto sobre la fracción proteica de la masa, se observó un aumento del contenido de proteínas que permanecieron retenidas en el precipitado por estar interaccionando a través de enlaces covalentes y estuvieron formadas en el caso de 2,5 % por subunidades de alta masa molecular. Mediante resonancia magnética nuclear se asoció una población de agua con la fracción de agua unida a la goma xántica, la presencia de este aditivo provocó una mayor estructuración de las poblaciones de agua, como así también una reorganización de las mismas entre los componentes de la masa. Por lo tanto, se obtuvo una pieza de masa laminada con mejores propiedades elásticas que inició el horneado con mayor altura que el control. Durante el calentamiento, la masa con goma xántica presentó una estructura más compleja, entrelazada y viscosa que el control. La presencia del aditivo retrasó la gelatinización, la cual también ocurrió en menor proporción. Al mismo tiempo, mediante termogravimetría, se observó que en la masa con goma xántica una cierta fracción de agua se encontró más débilmente atrapada y pudo ser liberada a temperaturas menores. Por lo que el hidrocoloide debilitó o disminuyó el número de interacciones proteínas-agua y almidón-agua. El comportamiento de la masa asociado a la presencia del aditivo permitió la obtención de productos que no se expandieron en dirección horizontal y fueron de mayor altura que el control, presentaron una estructura interna caracterizada por un incremento en su complejidad topográfica debido a la presencia de capas y espacios vacíos de conformación alargada y concomitantemente de mayor firmeza.

Por otro lado, la incorporación de HPMC permitió obtener un sistema con mayor resistencia a la deformación que el control, pero que luego de ser sometido al descanso refrigerado se presentó con mayor fluidez y un comportamiento asociado al de un líquido viscoelástico. Las masas con este aditivo pudieron ser laminadas y hojaldradas y se recuperaron en mejor medida que el control. El agregado de HPMC provocó un efecto en la fracción proteica de la masa y sobre la estructuración de las poblaciones de agua. Durante el calentamiento las diferencias observadas en los perfiles de la $\tan \delta$ y la viscosidad compleja sugirieron en la muestra de mayor concentración del hidrocoloide, la formación de un gel que otorgó mayor viscosidad al sistema e influyó en la expansión vertical de la pieza de masa. Conjuntamente hubo un efecto en la gelatinización del almidón, relacionado a la menor disponibilidad de agua por el agregado del aditivo y la consecuente menor hidratación del almidón. La presencia de una estructura interna laminada, compleja y rugosa en los productos horneados denotó la capacidad del hidrocoloide para reforzar la integridad estructural de las micelas de grasa y de aire durante el horneado.

En el caso del *psyllium*, si bien las masas fueron más fluidas y de menor viscosidad se observó una mayor estructuración y reorganización de las poblaciones de agua. Las masas con el aditivo se recuperaron en mejor manera del laminado y hojaldrado e iniciaron el horneado con una mayor altura que el control. Por lo tanto, a pesar de que únicamente con la menor dosis el sistema creció en dirección vertical, con ambas concentraciones los productos fueron más altos que el control. Durante el calentamiento únicamente la masa con una mayor dosis se presentó como un sistema más estructurado y elástico que el control. Sin embargo, con ambas concentraciones hubo un efecto sobre la gelatinización del almidón, en concordancia con un aumento de la cantidad de agua más débilmente atrapada y unida al aditivo. Esto le permitió a las piezas de masa laminada conservar su estructura y no expandirse en dirección lateral obteniéndose una estructura laminada al finalizar el horneado. Además se observó que el *psyllium* facilitó la retención de una mayor cantidad de agua más fuertemente atrapada durante el calentamiento en relación a los otros aditivos, lo cual se expresó en productos de menor firmeza.

Se evaluó el efecto de la incorporación de enzimas, 0,2 % y 0,8 % de Ciclodextrina Glucano Transferasa (CGTase) y 0,01 % y 0,02 % de Glucosa Oxidasa (GOX); y 1 y 2,5 % de emulsionantes, Estearoil Lactilato de Sodio (SSL) y Ácidos Grasos del Ácido Diacetil Tartárico (DATEM). La incorporación de CGTase generó en la masa un aumento de la solubilidad de las proteínas en buffer fosfato, posiblemente debido a la formación de complejos con CD. Mientras que la GOX promovió la formación de agregados que se solubilizaron en buffer fosfato+SDS. Concurrentemente se observó un efecto sobre las propiedades reológicas de las masas. Las cuales en el caso de la incorporación de CGTase permitieron obtener estructuras laminadas, que si bien fueron levemente más altas que el control, luego del horneado generaron panificados de buenas características tecnológicas. Mientras que la presencia de GOX, pese a promover la obtención de una masa más rígida que durante el horneado presentó mayores puntos de contacto, generó un producto de estructura alveolada y de menor firmeza. El uso de emulsionantes ejerció un efecto positivo en algunas de las características tecnológicas de los productos, únicamente cuando se utilizaron las mayores dosis.

A partir del estudio del efecto individual de cada aditivo sobre la calidad de los productos se seleccionaron tres aditivos, goma xántica, *psyllium* y CGTase. Mediante la metodología de regresión de superficie de respuesta se analizó el efecto combinado sobre los parámetros de calidad de los productos. La combinación de variables definida para la optimización de múltiples respuestas permitió predecir satisfactoriamente los atributos de calidad, con una diferencia menor al 15 %. La

formulación óptima obtenida (0,38 % de goma xántica, 0,1 % de *psyllium* y 0,23 % CGTase) y el control fueron utilizados para elaborar piezas de masa que se emplearon en el estudio de dos metodologías de conservación. Las tecnologías de masas congeladas y precocidas generaron un impacto sobre las características tecnológicas de los panificados durante la conservación. Sin embargo, en ambos casos los productos optimizados presentaron características estructurales que les permitieron soportar en mejor medida que el control los cambios que ocurrieron durante el periodo de almacenamiento.

La incorporación de aditivos permitió obtener panificados laminados LG de buenas características tecnológicas. Se evaluó el efecto sobre la fracción proteica, la distribución de las poblaciones de agua y las propiedades reológicas de las masas antes y después del descanso refrigerado y durante el calentamiento. A través de estos estudios se determinaron las posibles interacciones y mecanismos por los cuales los aditivos generaron ciertas características en las piezas de masa laminadas y en los productos horneados.

Referencias bibliográficas

- ACC International Methods. 2000. St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemists (AACC) International.
- Abraham ET, Raja KCM, Manoharan EP y Mathew AG. 1984. Effect of heat–moisture treatment on textural characteristics of cassava flour. *Cereal Chem.* 60: 7-8.
- Acs E, Kovacs Z y Matuz J. 1997. Possibilities of producing low-protein, gluten-free bread. 1. Structure formation. *Novenytermeles* 46: 227-234.
- Adetan DA, Adekoya LO y Aluko OB. 2003. Characterisation of some properties of cassava root tubers. *J. Food Eng.* 59:343-353.
- Akobeng AK, Ramanan AV, Buchan y Heller RF. 2006. Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch. Dis. Child* 91:39-43.
- Alarcón F y Dufour D. 1998. Almidón agrio de yuca en Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. Pp. 1-32.
- Andrade D. 2007. Utilización de almidón de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) para la elaboración de una mezcla de pudín saborizado (Chocolate). Tesis de Licenciado. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Venezuela.
- Andrews JL, Hay RL, Skerritt JH y Sutton KH. 1994. HPLC and immune assay based glutenin subunit analysis: screening for dough properties in wheats grown under different environmental conditions. *J. Cereal Sci.* 20: 203-215.
- Anton AA y Artfield SD. 2008. Hydrocolloids in gluten free breads: a review. *International J. Food Sci. Nut.* 59: 11-23.
- Arendt EK, O'Brien CM, Schober T, Gormley TR y Gallagher E. 2002. Development of gluten-free cereal products. *Farm and Food* 12: 21-27.
- Arocs A, Sanz T y Fiszman SM. 2009. Improving effect of xanthan and locust bean gums on the freeze-thaw stability of white sauces made with different native starches. *Food Hydrocolloid* 23: 2478-2484.
- Arranz E, Montalvillo E y Garrote JA. 2012. Inmunopatogenia de la enfermedad celíaca. En: *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca*. Eds. Rodrigo L y Peña AS. Omnia Science. Barcelona, España. Pp. 123-149.
- Aryee FNA, Oduro I, Ellis WO y Afuakwa JJ. 2006. The physicochemical properties of flours samples from the roots of 31 varieties of cassava. *Food Control* 17:916-922.
- Arzate-Vázquez I, Chanona-Pérez JJ, Calderón-Domínguez G, Terres-Rojas E, Garibay-Febles V, Martínez-Rivas A y Gutiérrez-López GF. 2012. Microstructural characterization of chitosan and alginate films by microscopy techniques and texture image analysis. *Carbohydr. Polym.* 87: 289-299.
- Assifaoui A, Champion D, Chiotelli E y Verel A. 2006a. Characterization of water mobility in biscuit dough using a low-field ¹H NMR technique. *Carbohydr. Polym.* 64: 197-204.
- Assifaoui A, Champion D, Chiotelli E y Verel A. 2006b. Rheological behaviour of biscuit dough in relation to water mobility. *Int. J. Food Sci. Tech.* 41: 124-128.
- Atwell WA, Hood LF, Lineback DR, Varriano-Marston E y Zobel HF. 1988. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Food World* 33: 306-311.
- Baker LA y Rayas-Duarte P. 1998. Freeze-thaw stability of amaranth starch and the effects of salt and sugars. *Cereal Chem.* 75:301-307.
- Bárcenas ME, De la O-Keller J y Rosell CM. 2009. Influence of different hydrocolloids on major wheat dough components (gluten and starch). *J. Food Eng.* 94:241-247.
- Baardseth P, Naes T y Vogt G. 1995. Roll-in shortenings effects on Danish pastries sensory properties studied by principal component analysis. *LWT-Food Sci. Technol.* 28: 72-77.
- Baier-Schenk A, Handschin S, Von Schönau M, Bittermann AG, Bächli Ty Conde-Petit B. 2005. In situ observation of the freezing process in wheat dough by confocal laser scanning microscopy (CLSM): formation of ice and changes in the gluten network. *J. Cereal Sci.* 42:255-260.
- Ban C, Yoon S, Han J, Kim SO, Hanf JS, Lim S y Choi YJ. 2016. Effects of freezing rate and terminal freezing temperature on frozen croissant dough quality. *LWT-Food Sci. Technol.* 73: 219-225.
- Barrera GN, Tadani CC, León AE y Ribotta PD. 2016. Use of alpha-amylase and amyloglucosidase combinations to minimize the bread quality problems caused by high levels of damaged starch. *J. Food Sci. Technol.* 1-10.

- Bean MM, Elliston-Hoops EA y Nishita KD. 1983. Rice flour treatment for cake-baking applications. *Cereal Chem.* 60:445-449.
- Bean M, Hanamoto M, Nishita K, Mecham D y Fellers D. 1977. Soy fortified wheat-flour blends. IV. Storage stability with several surfactant additives. *Cereal Chem.* 54: 1159-1169.
- Belton PS. 1999. On the elasticity of wheat gluten. *J. Cereal Sci.* 29: 103-107.
- BeMiller JN y Whistler RL. 1996. Capítulo 4: Carbohydrates. En: *Food Chemistry*. 3rd Edition. Ed. Fennema OR. Marcel Dekker Inc. Nueva York, Estados Unidos de América. Pp. 157-223.
- Benichou A, Aserin A y Garti N. 2002. Double emulsions stabilized by new molecular recognition hybrids of natural polymers. *Polym. Adv. Technol.* 13:1019-1031.
- BetcheL W. 1955. A review of bread staling research. *Cereal Chem.* 13:108-121.
- Bhattacharya S. 2010. Stress relaxation behaviour of moth bean flour dough: product characteristics and suitability of model. *J. Food Eng.* 97: 539-46.
- Biliaderis CG, Maurice T y Vose J. 1980. Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *Food Sci.* 45: 1669-1674.
- Biliaderis CG, Page CM, Maurice TJ y Juliano BO. 1986. Thermal characterization of rice starches: a polymeric approach to phase transition of granular starch. *J. Agric. Food Chem.* 34: 6-14.
- Biliaderis CG. 1990. Thermal analysis of food carbohydrates. En: *Thermal analysis of foods*. Eds. Harwalka V y Ma C-Y. Elsevier. Londres, Inglaterra. Pp. 168-220.
- Bosmans GM, Lagrain B, Fierens E y Delcour JA. 2013. The impact of baking time and bread storage temperature on bread crumb properties. *Food Chem.* 141: 3301-3308.
- Bousquieres J, Deligny C, Chaloids S y Lucas T. 2014a. Using confocal laser scanning microscopy to examine the breakdown of fat layers in laminated dough. *Food Res. Int.* 62: 359-365.
- Bousquieres J, Deligny C, Riaublanc A y Lucas T. 2014b. CLSM study of layers in laminated dough: roll out of layers and elastic recoil. *J. Cereal Sci.* 60:82-91.
- Boyacı İH, Williams PC y Köksel H. 2004. A rapid method for the estimation of damaged starch in wheat flours. *J. Cereal Sci.* 39:139-145.
- Brandtzaeg P. 2006. The changing immunological paradigm in coeliac disease. *Immunol. Lett.* 105: 127-39.
- Brottveit M, Beitnes ACR, Tollefsen S, Bratlie JE, Jahnsen FL, Johansen FE, Sollid LM y Lundin KEA. 2013. Mucosal Cytokine Response After Short-Term Gluten Challenge in Celiac Disease and Non-Celiac Gluten Sensitivity. *J. Gastroenterol.* 108:842-850.
- Buldo P y Wiking L. 2012. The role of mixing temperature on microstructure and rheological properties of butter blends. *Journal of the Am. Oil Chem. Soc.* 89:787-795.
- Buléon A, Colonna P, Planchot V y Ball S. 1998. Starch granules: Structure and biosynthesis. I. *J. Biol. Macromolec.* 23: 85-112.
- Cagampang GB, Cruz LJ, Espiritu SG, Santiago RG y Juliano BO. 1966. Studies on the extraction and composition of rice proteins. *Cereal Chem.* 43:145-155.
- Camino NA, Pérez OE, Carrera Sánchez C, Rodríguez Patino JM y Pilosof AMR. 2009. Hydroxypropylmethylcellulose surface activity at equilibrium and adsorption dynamics at the air–water and oil–water interfaces. *Food Hydrocolloid* 23:2359-2368.
- Camino NA, Carrera Sánchez C, Rodríguez Patino JM y Pilosof AMR. 2011. Hydroxypropylmethylcellulose at the oil–water interface. Part I. Bulk behaviour and dynamic adsorption as affected by pH. *Food Hydrocolloid* 25: 1–11.
- Cappa C, Lucisano M y Mariotti M. 2013. Influence of Psyllium, sugar beet fibre and water on gluten-free dough properties and bread quality. *Carbohydr Polym.* 98:1657-1666.
- Carp DJ, Bartholomai GB y Pilosof AMR. 1999. Electrophoretic studies for determining soy proteins-xanthan gum interactions in foams. *Colloids Surf.* 12: 309-316.
- Carr HY y Purcell EM. 1954. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Phys. Rev.* 94: 630-638.
- Cauvain S. 1998. Improving the control of staling in frozen bakery products. *Food Sci. Technol.* 9:56-61.
- Cauvain S y Young L. 2001. Laminated products. En: *Baking problems solved*. Eds. Cauvain S y Young L. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Reino Unido. Pp 124-135.

- Cauvain S y Young L. 2006. Interactions between Formulation and Process Methodologies. En: Baked Products: Science, Technology and Practice. Eds. Cauvain S y Young L. Blackwell Publishing Lt. Bucks, Reino Unido. Pp 120-147.
- Cesevičienė J y Butkutė B. 2012. Comparison of gluten parameters when gluten is determined by the glutomatic and hand washing methods. Proceedings 6th International Congress of Flour-Bread & 8th Croatian Congress of Cereal Technologists. Opatija, Croacia. Pp. 180- 189.
- Chehade M y Mayer L. 2005. Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. J. Allergy Clin. Immunol. 115:3-12.
- Chen CH y Bushuk W. 1970. Nature of proteins in Triticale and its parental species I. Solubility characteristics and amino-acid composition of endosperm proteins. Can. J. of Plant Sci. 50: 9-14.
- Cheng Z, Blackford J, Wang Q y Yu L. 2009. Acid treatment to improve *psyllium* functionality. J.Funct.Foods 1:44-49.
- Chung O, Tsen C y Robinson R. 1981. Functional properties of surfactants in breadmaking. III. Effects of surfactants and soy flour on lipid binding in breads. Cereal Chem. 58: 220-226.
- C.I.E. 1986. Colorimetrie, 2nd Edition. Publication C.I.E. N° 15, 2. Viena: Central Bureau of the Comisión Internationale de L'Eclairage.
- Cobana M y Antezana R. 2007. Proceso de extracción de almidón de yuca por vía seca. Bolív. J.Chem.24:77-83.
- Codex Alimentarius. 2008. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Organización Mundial de la Salud. CODEX STAN. Pp. 118-1979.
- Código Alimentario Argentino (CAA). 2014. Capítulo IX: Alimentos Farináceos, art. 755 y 657.
- Coffey D, Bell A y Henderson A. 1995. Cellulose and cellulose derivatives. En: Food Polysaccharides and their applications. Ed. Stephen AM. Marcel Dekker. Nueva York, Estados Unidos de América. Pp. 123-153.
- Colombo A, Pérez GT, Ribotta PD y León AE. 2008. Comparative study of physicochemical tests for quality prediction of Argentine wheat flours used as corrector flours and for cookie production. J. Cereal Sci. 48: 775-780.
- Collewet G, Perrouin V, Deligny C, Idier J y Lucas T. 2014. Estimating fat, paste and gas in a proving puff pastry by MRI – Method and simulation results. HAL Id: hal-00835832. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00835832v3>.
- Copeland L, Blazek J, Salman H y Chiming Tang M. 2009. Form and functionality of starch. Food Hydrocolloid 23: 1527-1534.
- Cornish GB, Bekes F, Allen HM y Martin DJ. 2001. Flour proteins linked to quality traits in an Australian doubled haploid wheat population. Aust. J. Agric. Res. 52: 1339-1348.
- Correa MJ, Añón MC, Pérez GT y Ferrero C. 2010 Effect of modified celluloses on dough rheology and microstructure. Food Res. Int. 43:780-787.
- Correa MJ, Ferrer E, Añón MC y Ferrero C. 2014. Interaction of modified celluloses and pectins with gluten proteins. Food Hydrocolloid 35: 91-99.
- Cosnes J, Cellier C, Viola S, Colombel JF, Michaud L, Sarles J, Hugot JP, Ginies JL, Dabadie A, Mouterde O, Allez M y Nion-Larmurier I. 2008. Incidence of autoimmune diseases in celiac disease: protective effect of the gluten-free diet. Clin. Gastroenterol. Hepatol. 6: 753-758.
- Courtin CM y Delcour JA. 2001. Relative Activity of Endoxylanases Towards Water-extractable and Water-unextractable Arabinoxylan. J. Cereal Sci. 33: 301-312.
- Craeyveld VV, Delcour JA y Courtin CM. 2009. Extractability, chemical and enzymic degradation of psyllium (*Plantago ovata*Forsk) seed husk arabinoxylans. Food Chem. 112: 812-819.
- Crockett R, le P y Vodovotz Y. 2011a. How Do Xanthan and Hydroxypropyl Methylcellulose Individually Affect the Physicochemical Properties in a Model Gluten-Free Dough?. J. Food Sci. 76:274-282.
- Crockett R, le P y Vodovotz Y. 2011 b. Effects of soy protein isolate and egg white solids on the physicochemical properties of gluten-free bread. Food Chem. 129:84-91.
- Cueto D. 2007. Formulación de una mezcla lista para torta a base de harina de trigo y yuca. Tesis de Máster. Ingeniería de Alimentos. Universidad de Oriente, Cuba.
- Cueto-Rúa E, Guzmán L, Zubiri C, Nanfto GI, Urrutia MI y Mancinelli L. 2013. Análisis de aceptabilidad, aspectos culturales e impacto personal del diagnóstico. En: Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca. Eds. Peña AS y Rodrigo L. OmniaScience. Barcelona, España. Pp. 407-431.
- Crowley P, Grau H, O'Connor P, Fitzgerald RJ y Arendt E.K. 2001. Effect of glutamin peptide on baking characteristics of bread using experimental design. Eur. Food Res. Tech. 212: 192-197.
- Daniels DGH y Fisher N. 1976. Release of carbon dioxide from dough during baking. J. Sci. Food Agric. 27: 351-357.

- Davies AP, Patient DW, Ingman SJ, Ablet S, Drage M, Asquith M y Barnes DJ. 1987. Wheat protein properties and puff pastry structure. En: Proceedings of the Third International Workshop on Gluten Proteins. Eds. Lásztity R y Bekes F. World Scientific Publishing Co. Budapest, Hungary. Pp. 466-477.
- Davidson LSP y Fountain JR. 1950. Incidence of sprue syndrome with some observation on natural history. *BMJ* 1:1157-1161.
- Debet MR y Gidley JM. 2006. Three classes of starch granule swelling: Influence of surface proteins and lipids. *Carbohydr. Polym.* 64:452-465.
- De la Hera E, Gómez M y Rosell CM. 2013. Particle size distribution of rice flour affecting the starch enzymatic hydrolysis and hydration properties. *Carb. Polym.* 98: 421-427.
- de la Horra AE, Seghezzo ML, Molfese E, Ribotta PD y León AE. 2012. Indicadores de calidad de las harinas de trigo: Índice de Calidad Industrial y su relación con ensayos predictivos. *Agriscientia* XXIX: 81-89.
- Deligny C y Lucas T. 2015. Effect of the number of fat layers on expansion of Danish pastry during proving and baking. *J. Food Eng.* 158: 113-120.
- Dickinson E. 1995. On flocculation and gelation in concentrated particulate systems containing added polymer. *J. Chem. Soc.* 91:4413-4417.
- Dickinson E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloid* 17: 25-39.
- Dickinson E. 2011. Mixed biopolymers at interfaces: Competitive adsorption and multilayer structures. *Food Hydrocolloid* 25: 1966-1983.
- Di Rienzo JA, Guzmán AW y Casanoves F. 2002. A multiple comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *J. Agric. Biol. Environ. Stat.* 7:129-42.
- Doerry WT. 1996. Laminated Dough Systems. American Baking Institute. Nueva York, Estados Unidos de América. Pp. 63-68.
- Don C, Lichtendonk W, Plijter JJ y Hamer RJ. 2003. Glutenin macropolymer: a gel formed by glutenin particles. *J. Cereal Sci.* 37: 1-7.
- Don C, Mann G, Bekes F y Hamer RJ. 2006. HMW-GS affect the properties of glutenin particles in GMP and thus flour quality. *J. Cereal Sci.* 44: 127-136.
- Donovan JW. 1979. Phase transitions of the starch-water system. *Biopolymers* 18: 263-275.
- Doona CJ y Baik MY. 2007. Molecular mobility in model dough systems studied by time-domain nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Cereal Sci.* 45: 257-262.
- Drapron R y Godon B. 1987. En: Enzyme and their role in cereal technology. Eds. Kruger JE, Lineback D y Stauffer C. American Association of Cereal Chem. St. Paul, MN. Pp. 281-324.
- Edwards NM, Dexter JE, Scanlon MG y Cenkowski S. 1999. Relationship of Creep-Recovery and Dynamic Oscillatory Measurements to Durum Wheat Physical Dough Properties. *Cereal Chem.* 76: 638-645.
- Edwards NM, Peressini D, Dexter JE y Mulvaney SJ. 2001. Viscoelastic properties of durum wheat and common wheat dough of different strengths. *Rheol. Acta* 40: 142-153.
- Eliasson AC. 1993. Capítulo 1: Basics concepts of surface and colloid chemistry. En: Cereals in bread making: A molecular colloidal approach. Eds. Eliasson AC y Larsson K. Marcel Dekker Inc. Nueva York, EUA. Pp. 1-30.
- Eliasson AC y Gudmundsson M. 1996. Capítulo: Starch: Physicochemical and functional properties. En: Carbohydrates in food. Ed. Eliasson AC. Marcel Dekker Inc. Nueva York, Estados Unidos de América. Pp. 391-470.
- Engelsen SB, Jensen MK, Pedersen HT, Nørgaard L y Munck L. 2001. NMR-baking and Multivariate Prediction of Instrumental Texture Parameters in Bread. *J. Cereal Sci.* 33:59-69.
- Esteban B, Riba JR, Baquero G, Rius A y Puig R. 2012. Temperature dependance of density and viscosity of vegetable oils. *Biomass bioenergy.* 42: 164-171.
- Ewart JAD. 1989. Hypothesis for how linear glutenin holds gas in dough. *Food Chem.* 32: 135-150.
- Farrera-Rebollo RR, Salgado-Cruz MP, Chanona-Pérez J, Gutierrez-López GF, Alamilla-Beltrán L y Calderón-Domínguez G. 2011. Evaluation of image analysis tools for characterization of sweet bread crumb structure. *Food Bioprocess Technol.* 5:474-484.
- FAO. 1998. Organización de las Naciones Unidas por la Agricultura y la Alimentación. FAOSTAT. Último acceso: marzo del 2016.

- Fennema OR. 1996. Lípidos. En: Química de los alimentos. Ed. Fennema OR. Marcel Dekker, Inc. Nueva York, Estados Unidos de América. Pp. 225-320.
- Fernández L, Castellero C y Aguilera JM. 2005. An application of image analysis to dehydration of apple discs. *J. Food Eng.* 67:185-193.
- Ferreira SL, Bruns RE, Ferreira HS, Matos GD, David JM, Brandao GC, da Silva EG, Portugal LA, dos Reis PS, Souza AS y dos Santos WN. 2007. Box– Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Anal. Chem. Acta.* 597: 179-186.
- Fessas D y Schiraldi A. 2001. Water properties in wheat flour dough I: classical thermogravimetry approach. *Food Chem.* 72: 237-244.
- Finney KF y Barmore MA. 1948. Loaf volume and protein content of hard winter and spring wheats. *Cereal Chem.* 25: 291-312.
- Firestone D. 1989. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society Cd.
- Fitzgerald MA, Martin M, Ward RM, Park WD y Shead HJ. 2003. Viscosity of rice flour e a rheological and biological study. *J Agric and Food Chem.* 51: 2295-2299.
- French D. 1984. Capítulo VII: Organization of starch granules. En: Starch chemistry and technology. Eds. Whistler RL, BeMiller JN y Paschal EF. Academic Press. Nueva York, Estados Unidos de América. Pp. 187-247.
- Forsberg G, Fahlgren A, Hörstedt P, Hammarström S, Hernell O y Hammarström ML. 2004. Presence of bacteria and innate immunity of intestinal epithelium in childhood celiac disease. *Am. J. Gastroenterol.* 99:894-904.
- Foster T y Wolf B. 2011. Hydrocolloid Gums – Their Role and Interactions in Food. En: A practical food rheology, an interpretive approach. Eds. Norton IT, Spyropoulos F y Cox P. Chemical Engineering University of Birmingham Edgbaston. Birmingham, Reino Unido. Pp. 61-84.
- Gaines CS. 2000. Collaborative study of methods for solvent retention capacity profiles (AACC method 56-11). *Cereal F. W.* 45: 303-306.
- Gallagher E, Gormley TR y Arendt AK. 2003a. Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *J. Food Eng.* 56: 153-161.
- Gallagher E, Kunkel A, Gormley TR y Arendt EK. 2003b. The effect of dairy and rice powder addition on loaf and crumb characteristics, and on shelf-life (intermediate and long term) of gluten-free breads stored in a modified atmosphere. *Eur. Food Res. Tech.* 218: 44-48.
- Gan J, Rafael LGB, Cato L y Small DM. 2001. Evaluation of the potential of different rice flours in bakery formulations. En: Cereals 2001. Proceedings of the 51st Australian Cereal Chemistry Conference. Eds. Wooton M, Batey I y Wrigley CW. Royal Australian Chemical Institute. Werribee, Australia. Pp. 309-312.
- Gan Z, Ellis PR y Schofield JD. 1995. Mini review: Gas cell stabilization and gas retention in wheat bread dough. *J. Cereal Sci.* 21: 215-230.
- Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JCM, Tauil PL, Gasparin M y Catassi C. 2000. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. *Am. J. Gastroenterol.* 95: 689-692.
- García-Ochoa F, Santos V, Casas J y Gómez E. 2000. Xanthan gum: production, recovery and properties. *Biotech. Adv.* 18: 549-579.
- Geffner R. 2008. Una visión global de la respuesta inmune. En: Introducción a la inmunología humana. Eds. Geffner J y Fainboim L. Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pp. 1-10.
- Geittner J. 1978. L-Cysteine for the simplification of the manufacture of biscuits and puff pastry. *Getreide Mehl. Brot.* 32: 124-6.
- Gerrard JA, Newberry MP, Ross M, Wilson AJ, Fayle SE y Kavale S. 2000. Pastry Lift and Croissant Volume as Affected by Microbial Transglutaminase. *J. Food Sci.* 65: 312-314.
- Gerard M, O'Brien DM, Jones CC, Wheatley T y Sánchez T. 1994. Processing approach to optimizing raw materials and end quality in the production of cassava flours. *Acta Horticulturae (ISHS)* 375: 183-192.
- Giannoni W. 2012. Historia con una nueva estrategia. *Diario La Voz del Interior.* <http://www.lavoz.com.ar/cordoba/historia-con-nueva-estrategia>. Ultimo acceso: abril del 2014
- Gilliard T y Bowler P. 1987. Morphology and composition of starch. *Crit Rep. Appl. Chem.* 13: 55-78.
- Goesaert H, Brijs K, Veraverbeke WS, Courtin CM, Gebruers K y Delcour JA. 2005. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trend Food Sci. Tech.* 16: 12-30.

- Gomez JC, Selvaggio G, Viola M, Pizarro B, la Motta G, de Barrio S, Castelletto R, Echeverría R, Sugai E, Vazquez H, Mauriño E y Bai JC. 2001. Prevalence of celiac disease in Argentina: Screening of an Adult population in La Plata area. *Am. J. Gastroenterol.* 96:2700-2704.
- Gous P, Gilbert R y Fox GP. 2015. Drought-proofing barley (*Hordeum vulgare*) and its impact on grain quality: A review. *J Inst. Brew* 121:19-27.
- Graveland A, Bosveld P, Lichtendonk WJ Y Moonen JHE. 1980. Superoxide involvement in the reduction of disulfide bonds of wheat gel proteins. *Biochem. Biophys. Research Communications* 93: 1189-1195.
- Gray JA y BeMiller JN. 2003. Bread staling: Molecular basis and control. *Comp. Rev. Food Sci. F* 2: 1-20.
- Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, Paparo F, Gasperi V, Limongelli MG, Cotichini R, D'Agate C, Tinto N, Sacchetti L, Tosi R y Stazi MA. 2002. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut.* 50: 624-628.
- Grodzinsky E, Franzen I, Hed J y Ström M. 1992. High prevalence of celiac disease in healthy adults revealed by antigliadin antibodies. *Ann. Allergy* 69:66-69
- Grosch W y Wieser H. 1999. Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid. *J. Cereal Sci.* 29: 1-16.
- Grover JA. 1982. Methylcellulose (MC) and hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). En: *Food hydrocolloids*. Ed. Glicksmen M Ed. Boca Raton: CRC Press. Florida, EUA. Pp. 121-154.
- Gujral HS, Guardiola I, Carbonelli JV y Rosell CM. 2003a. Effect of Cyclodextrinase on Dough Rheology and Bread Quality from Rice Flour. *J. Agric. Food Chem.* 51: 3814-3818.
- Gujral HS, Haros M y Rosell CM. 2003b. Starch hydrolysing enzymes for retarding the staling for rice bread. *Cereal Chem.* 80: 750-754.
- Gujral SH y Rosell MC. 2004a. Modification of pasting properties of wheat starch by cyclodextrin glycosyltransferase. *J. Sci. Food Agric.* 84: 1685-1690.
- Gujral SH y Rosell MC. 2004b. Improvement of the baking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Res. Int.* 37: 75-81.
- Guo Q, Cui SW, Wang Q y Young JC. 2008. Fractionation and physicochemical characterization of psyllium gum. *Carbohydrate Polymer.* 73: 35-43.
- Guo Q, Cui SW, Wang Q, Goff HD y Smith A. 2009. Microstructure and rheological properties of psyllium polysaccharide gel. *Food Hydrocolloid* 23: 1542-1547.
- Gupta RB, Singh NK y Shepherd KW. 1989. The cumulative effect of allelic variation in LMW and HMW glutenin subunits on dough properties in the progeny of two bread wheats. *Theor. Appl. Genet.* 77: 57-64.
- Gupta RB, Paul JG, Cornish GB, Palmer GA, Bekes F y Rathjen AJ. 1994. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1*, of common wheats. I. Its additive and interaction effects on dough properties. *J. Cereal Sci.* 19: 9-17.
- Guttieri MJ, McLea R, Lanning SP, Talbert LE y Souza EJ. 2002. Assessing environmental influences on solvent retention capacities of two soft white spring wheat cultivars. *Cereal Chem.* 79: 880-884.
- Guttieri MJ, Becker B y Souza EJ. 2004. Application of Wheat Meal Solvent Retention Capacity Tests Within Soft Wheat Breeding Populations. *Cereal Chem.* 81: 261-266.
- Guy E. 1984. Evaluation of the bread-baking quality and storage stability of 12% soy-fortified wheat flour containing sweet cheese whey solids. *Cereal Chem.* 61: 83-88.
- Hager AS y Arendt EK. 2013. Influence of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), xanthan gum and their combination on loaf specific volume, crumb hardness and crumb grain characteristics of gluten-free breads based on rice, maize, teff and buckwheat. *Food Hydrocolloid* 32: 195-203.
- Hamaker BR. 1994. The influence of rice proteins in rice quality. En: *Rice Science and Technology*. Eds. Marshall WE y Wadsworth JI. Marcel Dekker Inc. Nueva York, Estados Unidos de América. Pp. 177-194.
- Hamada JS. 1996. Separation and molecular mass distribution of rice proteins by size exclusion high-performance liquid chromatography in a dissociating buffer. *J. Chromatogr.* 734: 195-203.
- Hamdami N, Pham QT, Le-Bail A y Monteau J-Y. 2007. Two-stage freezing of part baked breads: application and optimization. *J. Food Engin.* 82: 418-426.
- Haque A y Morris ER. 1993. Thermogelation of methylcellulose. Part I: molecular structures and processes. *Carbohydrate Polymer-* 22: 161-173.

- Haque A, Richardson RK y Morris ER. 1993. Xanthan-like 'weak gel' rheology from dispersions of ispaghula seed husk. *Carbohydrate Polymer*. 22:223-232.
- Hatzinikolaou DG, Hansen OC, Macris BJ, Tingey A, Kekos D y Goodenough P. 1996. A new glucose oxidase from *Aspergillus niger* characterization and regulation studies of enzyme and gene. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 46: 371-381.
- Hausch F, Shan L, Santiago NA, Gray GM y Khosla C. 2002. Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 283:996-1003.
- Hay RL. 1993. Effect of flour quality characteristics on puff pastry baking performance. *Cereal Chem.* 70: 392-396.
- Heertje I. 1993. Microstructural studies in fat research. *Food Struct.* 12: 77-94.
- Herrera M, Theiler G, Augustovski F, Chertkoff L, Fainboim L, DeRosa S, Cowan EP y Satz ML. 1994. Molecular characterization of HLA class II genes in celiac disease patients of Latin American Caucasian origin. *Tissue Antigens* 43:83-87.
- Hibino K, Kidzu T, Masumura T, Ohtsuki K, Tanaka K, Kawabata K y Fujii S. 1989. Amino acid composition of rice prolamin polypeptides. *Agric. Biol. Chem.* 53: 513-518.
- Hills BP, Takacs SF y Belton PS. 1990. A new interpretation of proton NMR relaxation time measurements of water in food. *Food Chem.* 37: 95-111.
- Hizukuri S. 1986. Polymodal distribution of chain lengths of amylopectins and its significance. *Carbohy. Res.* 147: 342-347.
- Hosney RC. 1994. Principios de ciencia y tecnología de los cereales. Ed. Acribia S.A. American Association of Cereal Chemists, Inc. Zaragoza, España.
- Hoover R. 2001. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydr. Polym.* 45: 253-267.
- Hosney RC, Zeleznak KJ y Yost DA. 1986. A note on the gelatinization of starch. *Starch/Stärke* 38: 407-409.
- Houston DF y Mohammed A. 1970. Purification and partial characterization of a major globulin from rice endosperm. *Cereal Chem.* 47: 5-12.
- Hozová B, Kukurová I, Turicová T y Dodok L. 2002. Sensory Quality of Stored Croissant-Type Bakery Products. *Czech J. Food Sci.* 20: 105-112.
- Hua Y, Cui SW y Wang O. 2003. Gelling property of soy protein-gum mixtures. *Food Hydrocolloid* 17: 889-894.
- Igwe IO. 2004. The effects of temperature on the viscosity of vegetable oils in solution. *Ind. Crop and Prod.* 19: 185-190.
- Inoue Y y Bushuk W. 1991. Studies on frozen doughs. I. Effects of frozen storage and freeze-thaw cycles on baking and rheological properties. *Cereal Chem.* 68: 627-631.
- Ivarsson A, Persson LA, Nyström L, Ascher H, Cavell B, Danielsson L, Dannaeus A, Lindberg T, Lindquist B, Stenhammar L y Hernell O. 2000. Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr.* 89 :165-71.
- Ivarsson A, Persson LA, Nyström L y Hernell O. 2003. The Swedish coeliac disease epidemic with a prevailing twofold higher risk in girls compared to boys may reflect gender specific risk factors. *Eur. J. Epidemiol.* 18:677-84.
- Jeffrey GA y Saenger W. 1994. Sección III: Hydrogen bonding in biological macromolecules: Capítulo 19: Hydrogen bonding in proteins. En: *Hydrogen bonding in biological structures*. Ed. Springer Verlag Inc. Berlin, Alemania. Pp. 351-393.
- Jemli S, Messaoud EB, Ayadi-Zouari D, Naili B, Khemakhem B y Bejar S. 2007. Cyclodextrin glycosyltransferase from a newly isolated *Paenibacillus pabuli* US132 strain: Purification, properties and potential use in bread-making. *Biochem. Eng. J.* 34: 44-50.
- Jenkins PJ, Cameron RE y Donald AM. 1993. A universal feature in the structure of starch granules from different botanical sources. *Starch/Stärke* 45: 417-420.
- Jobling S. 2004. Improving starch for food and industrial applications. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7: 210-218.
- Joshi P y Brimelow C. 2002. Capítulo 5: Colour measurement of food by colour reflectance. En: *Colour in food*. Ed. MacDougall D.B. Woodhead Publishing in Food Science and Technology. Cambridge, Inglaterra. Pp. 80-114.
- Juliano BO. 1972. The rice caryopsis and its composition. En: *Rice Chemistry and Technology*. Ed. Houston DF. American Association of Cereal Chemist. St. Paul, Estados Unidos de América. Pp. 16-74.
- Juliano BO. 1985. Polysaccharides, proteins and lipids of rice. En: *Rice Chemistry and Technology*. Segunda Edición. Editado por Juliano BO. American Association of Cereal Chemist, St Paul, MN, EUA. 59-174.
- Kadan RS, Robinson MG, Thibodeaux DP y Pepperman Jr AB. 2001. Texture and other Physicochemical Properties of Whole Rice Bread. *J. Food Sci.* 66: 940-944.

- Kagawa H, Hirano H y Kikuchi F. 1988. Variation in glutelin seed storage protein in rice (*Oryza sativa* L.). *JPN J Breeding* 38: 327-332.
- Karell K, Louka AS, Moodie SJ, Ascher H, Clot F, Greco L, Ciclitira PJ, Sollid LM y Partanen J. 2003. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum. Immunol.* 64: 469-477.
- Kasarda DD, Bernardin J y Nimmo C. 1976. Capítulo: Wheat proteins. En: *Advances in cereal science and technology*. Ed. Pomeranz Y. American Association of Cereal Chemists Inc. St. Paul, Estado Unidos de América. Pp. 158.
- Kasarda DD. 1999. Glutenin Polymers: The in vitro to in vivo transition. *Cereal Food World* 44: 566-571.
- Katsube-Tanaka T, Duldulao JBA, Kimura Y, Iida S, Yamaguchi T, Nakano J y Utsumi S. 2004. The two subfamilies of rice glutelin differ in both primary and higherorder structures. *Biochim. Biophys. Acta* 1699: 95-102.
- Ke VH y Brown RA. 1985. Modified puff pastry and process for preparing the same. US patent 4622226.
- Kenny S, Wehrle K, Dennehy T y Arendt EK. 1999. Correlations between empirical and fundamental rheology measurements and baking performance of frozen bread dough. *Cereal Chem.* 76: 421-425.
- Khan K y Bushuk W. 1979. Studies of glutenin. XII. Comparison of SDS-PAGE of unreduced and reduced glutenin from various isolation and purification procedures. *Cereal Chem.* 56: 63-68.
- Khatkar BS, Fido RJ, Tatham AS y Schofield JD. 2002. Functional properties of wheat gliadins. II. Effects on dynamic rheological properties of wheat gluten. *J. Cereal Sci.* 35: 307-313.
- Kinsella JE. 1979. Functional properties of soy proteins. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56: 242-258.
- Kishimoto T, Watanabe M, Mitsui T y Hori H. 1999. Glutelin basic subunits have mammalian mucin-type O-linked disaccharide side chain. *Arch Biochem. Biophys.* 370: 271-277.
- Koehler P, Wieser H y Konitzer K. 2014. Gluten-Free Products. En: *Celiac Disease and Gluten, Multidisciplinary Challenges and Opportunities*. Academic Press, Elsevier Inc. Waltham, Estado Unidos de América. Pp. 173-223.
- Koshiyama I. 1968. Factors influencing conformation changes in a 7S protein of soybean globulins by ultracentrifugal investigations. *Agric. Biol. Chem.* 32: 879-887.
- Kreutzfeldt C. 2009. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://www.phase-hl.com/ImageJ/MolWt-Macros.pdf>.
- Kulkarni RG, Ponte JR, Kulp JR y K. 1987. Significance of gluten content as an Index of Flour Quality. *Cereal Chem.* 64:1-3.
- Labat E, Rouau X y Morel MH. 2002. Effect of flour water-extractable pentosans on molecular associations in gluten during mixing. *LWT Food Sci. Technol.* 35: 185-189.
- Laemmli U. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 681-685.
- Legendijk J y Van Daltsen J. 1965. Classification of puff-pastry fats and margarines based on dough firmness. *Cereal Chem.* 42: 255-263.
- Lai C, Davis A y Hosney R. 1989. Production of Whole Wheat Bread with Good Loaf Volume. *Cereal Chem.* 66: 224-246.
- Lamsal BP, Jung S y Johnson LA. 2007. Rheological properties of soy protein hydrolysates obtained from limited enzymatic hydrolysis. *LWT Food Sci. Technol.* 40: 1215-1223.
- Larroque O, Gianibelli M, Gómez Sánchez M Y MacRitchie F. 2000. Procedure for obtaining stable extracts of cereal flour and whole meal for size-exclusion HPLC analysis. *Cereal Chem.* 77: 448-450.
- Lazaridou A, Duta D, Papageorgiou M, Belc N y Biliaderis CG. 2007. Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *J. Food Eng.* 79: 1033-1047.
- Le Grand F, Cambert M y Mariette F. 2007. NMR Signal Analysis To Characterize Solid, Aqueous, and Lipid Phases in Baked Cakes. *J. Agric. Food Chem.* 55: 10947-10952.
- Lee M y Fennema OR. 1991. Ability of Cyclodextrins To Inhibit Aggregation of β -Casein. *J. Agric. Food Chem.* 39: 17-21.
- Lee A y Newman JM. 2003. Celiac diet: its impact on quality of life. *J. Am. Diet. Assoc.* 103: 1533-35.
- Lee SH, Kim YW, Lee S, Auh JH, Yoo SS, Kim TJ, Kim JW, Kim ST, Rho HJ, Choi JH, Kim YB y Park KH. 2002. Modulation of Cyclizing Activity and Thermostability of Cyclodextrin Glucanotransferase and Its Application as an Antistaling Enzyme. *J Agric. Food Chem.* 50: 1411-1415.
- León AE, Barrera GN, Pérez GT, Ribotta PD y Rosell CM. 2006. Effect of damaged starch levels on flour-thermal behaviour and bread staling. *Eur. Food Res. Technol.* 224: 187-192.

- Leray G, Bonastre O, Mezaize S, Chevallier S y de Lamballerie M. 2010. Effects of freezing and frozen storage conditions on the rheological properties of different formulations of non-yeasted wheat and gluten-free bread dough. *J. Food Eng.* 100: 70-76.
- Li W, Dobraszczyk BJ y Schofield JD. 2003. Stress relaxation behavior of wheat dough, gluten, and gluten protein fractions. *Cereal Chem.* 80: 333-338.
- Linlaud N, Ferrer E, Puppo MC y Ferrero C. 2011. Hydrocolloid Interaction with Water, Protein, and Starch in Wheat Dough. *J. Agric. Food Chem.* 59: 713-719.
- Lionetti E y Catassi C. 2011. New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. *Int. Rev. Immunol.* 30: 219-231.
- Lodi A y Vodovotz Y. 2008. Physical properties and water state changes during storage in soy bread with and without almond. *Food Chem.* 110: 554-561.
- Lopes-Da-Silva JA, Santos DMJ, Freitas A, Brites C y Gil AM. 2007. Rheological and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Study of the Hydration and Heating of Undeveloped Wheat Doughs. *J. Agric. Food Chem.* 55: 5636-5644.
- López MS, Dory M, Sprang R, Doubnia MI y Manarán IE. 2013. Enfermedad celíaca en la provincia de Misiones. Prevalencia y seguimiento de casos detectados en tres centros de referencia. Informe final consolidado presentado ante la Comisión Nacional Salud Investiga Ministerio de Salud de la Nación. Pp. 1-26.
- Lorenzo G, Zaritzky NE y Califano AN. 2008. Optimization of non-fermented gluten-free dough composition based on rheological behavior for industrial production of "empanadas" and pie-crusts. *J. Cereal Sci.* 48: 224-231.
- Lorenzo G, Zaritzky NE y Califano AN. 2009. Rheological characterization of refrigerated and frozen non-fermented glutenfree dough: effect of hydrocolloids and lipid phase. *J. Cereal Sci.* 50:255-261.
- Lucas T, Le Ray D y Davenel A. 2005. Chilling and freezing of part-baked bread. Part I: An MRI signal analysis. *J. Food Engin.* 70: 139-149.
- Lusse S y Arnold K. 1998. Water binding of polysaccharides-NMR and ESR studies. *Macromolecules* 31: 6891-689.
- Luyts A, Wilderjans E, Waterschoot J, Van Haesendonck I, Brijs K, Courtin CM, Hills B y Delcour JA. 2013. Low resolution ^1H NMR assignment of proton populations in pound cake and its polymeric ingredients. *Food Chem.* 139: 120-128.
- Maidana JP, Corzo J, Molina C, Etcheverry ME, Calli R, Habra E, Caillou E, Alabarse G, Guinudinik A, Cardozo R, Manso V, Posleman SE y Araujo CR. 2014. Prevalencia de anticuerpos específicos para enfermedad celíaca en niños del Programa de Rehabilitación Nutricional en San Miguel de Tucumán, Argentina. *Acta Gastroenterol. Latinoam.* 44: 210-215.
- Mancebo CM, San Miguel MA, Martínez MM y Gómez M. 2015. Optimization of rheological properties of gluten-free doughs with HPMC, psyllium and different levels of water. *J. Cereal Sci.* 61:8-15.
- Manley DJR. 1989. *Biscuit and Food Industry*. Warminngton, Nr. Peterborough, Gran Bretaña.
- Manley D. 2000. *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies*. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Manners DJ. 1989. Recent developments in our understanding of amylopectin structure. *Carbohydr. Polym.* 11: 87-112.
- Mariotti M, Lucisano M, Pagani MA y Ng PKW. 2009. The role of corn starch, amaranth flour, pea isolate and Psillium flour on the rheological properties and the ultrastructure of gluten-free doughs. *Food Res. Int.* 42: 963-975.
- Mariotti M, Pagani MA y Lucisano M. 2013. The role of buckwheat and HPMC on the breadmaking properties of some comercial gluten-free bread mixtures. *Food Hydrocolloid* 30: 393-400.
- Markets and Markets. 2015. *Gluten-Free Products Market Global Trends & Forecasts To 2018*. <http://www.marketsandmarkets.com/Researchinsight/gluten-free-products-natural-and-conventional-market.asp> . Último acceso: noviembre de 2016.
- Martínez R. 1997. Caracterización física-química de galletas tipo soda elaboradas con 3 y 5 % de almidón pregelatinizado de yuca (*Manihot esculenta*) y harina de trigo. Tesis de Licenciado. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela, Venezuela.
- Mattei F, Schiavoni G, Belardelli F y Tough DF. 2001. IL-15 is expressed by dendritic cells in response to type I IFN, double-stranded RNA, or lipopolysaccharide and promotes dendritic cell activation. *J. Immuno.l* 167: 1179-1187.
- Matthews RH y Dawson EH. 1963. Performance of fats and oils in pastry and biscuits. *Cereal Chem.* 40: 291-302.
- Matzs SA. 1999. Formulas and processes. In: *Bakery technology and engineering*. Ed. Matzs SA. McAllen Pan-Tech International Inc. Texas, Estados Unidos de América. Pp. 251-500.
- McGill EA. 1975. Puff pastry production. *Baker's Dig.* 49:28-38.
- Mecham D, Hanamoto M, Bean M, Fellers D y Guadagni D. 1976. Soyfortified wheatflour blends. III. Storage stability of ingredients and incomplete blends. *Cereal Chem.* 53: 405-412.

- Meiboom S y Gill D. 1958. Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times. *Rev. Sci. Instrum.* 29: 688-691.
- Mendez-Sanchez N, Zamora-Valdes N, Sanchez-Giron F et al. 2006. Seroprevalence of anti-gliadin and anti-endomysium antibodies in Mexican adults. *Gastroenterology* 130:A-668.
- Metakovskii EV, Wrigley CW, Bekes F y Gupta RB. 1990. Gluten polypeptides as useful genetic markers of dough quality in Australian wheats. *Aust. J. Agric. Res.* 41: 289-306.
- Michniewicz J, Biliaderis GG y Bushuk W. 1992. Effect of added pentosans on some properties of wheat bread. *Food Chem.* 68:252-258.
- Miles MJ, Morris VJ, Orford PD y Ring SG. 1985. The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydr. Res.* 135: 271-281.
- Millane RP y Wang B. 1990. A cellulose-like conformation accessible to the xanthan backbone and implications for xanthan synergism. *Carbohydr. Polym.* 13: 57-68.
- Miller L. 2010. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/nih-image/manual/tech.html#analyze>.
- Mohamed S, Md Lajis SM y Hamid NA. 1995. Effects of protein from different sources on the characteristics of sponge cakes, rice cakes (apam), doughnuts and frying batters. *J. Sci. Food Agric.* 68: 271-277.
- Mohamed S y Hamid NA. 1998. Effects of Ingredients on the characteristics of rice cakes. *J. Sci. Food Agric.* 76: 464-468.
- Moiraghi M, Ribotta PD, Aguirre AV, Pérez GT y León AE. 2005. Study of hard wheat flour quality in cookie and sponge cake elaboration. *Agriscientia* 22: 47-54.
- Moiraghi M, Vanzetti L, Bainotti C, Helguera M, León A y Pérez G. 2011. Relationship Between Soft Wheat Flour Physicochemical Composition and Cookie-Making Performance. *Cereal Chem.* 88: 130-136.
- Moiraghi M. 2013. Calidad tecnológica de trigos blandos para la obtención de galletitas. asociación entre la composición genética del grano y las propiedades físico-químicas de sus harinas. Tesis de doctorado de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Moore MM, Schober TJ, Dockery P y Arendt EK. 2004. Textural comparison of gluten free and wheat-based doughs, batters and breads. *Cereal Chem.* 81: 567-575.
- Mora MB, Litwin N, Toca MC, Azcona MI, Ortiz GJ, Solaegui M, Bastianelli CV, Wagener M, Oropeza G y Rezzónico G. 2009. Prevalencia de enfermedad celíaca en población pediátrica argentina. Informe final presentado ante la Comisión Nacional Salud, Ciencia y Tecnología. Ministerio de Salud de la Nación. Pp. 1-22.
- Moreira R, Chenlo F y Torres MD. 2011. Rheology of commercial chesnut flour doughs incorporated with gelling agents. *Food Hydrocolloid* 25: 1361-1371.
- Moreira MA, Hermondson MA, Larkins BA y Nielsen NC. 1979. Partial characterization of the acidic and basic polypeptides of glycinin. *J. Biol. Chem.* 254: 9921-9926.
- Morita Y y Yoshida C. 1968. Studies on gamma globulin of rice embryo. Part I. Isolation and purification of gamma globulin from rice embryo. *J. Biol. Chem.* 32: 664-670.
- Munkevik P, Hall G y Duckett T. 2007. A computer vision system for appearance-based descriptive sensory evaluations of meals. *J. Food Eng.* 78: 246-256.
- Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, Fabiani E, Heier M, McMillan S, Murray L, Metzger MH, Gasparin M, Bravi E, Mäki M, Coeliac EU Cluster y Project Epidemiology. 2010. The prevalence of CD in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann. Med.* 42: 587-95.
- Narine SS y Marangoni AG. 1999. Relating structure of fat crystal networks to mechanical properties: a review. *Food Res. Int.* 32: 227-248.
- Nelder JA. 1994. The Statistics of linear models: Back to basics. *Stat. and Comp.* 4: 221-234.
- Nishita K y Bean MM. 1982. Grinding methods: Their impact on rice flour properties. *Cereal Chem.* 59: 46-49.
- Obanni M y BeMiller JN. 1996a. Ghost microstructures of starch from different botanical sources. *Cereal Chem.* 73: 333-337.
- Obanni M y BeMiller JN. 1996b. Identification of starch from various maize endosperm mutants via ghost structures. *Cereal Chem.* 72: 436-442.
- O'Brien RD. 2004. Baking shortenings. In: *Fats and oils: formulating and processing for applications*. Ed. O'Brien RD. editor. Boca Raton CRC Press. Florida, Estados Unidos de América. Pp. 145-162.

- Ogawa M, Kumamuru T, Satoh H, Iwata N, Omura T, Kasai Z y Tanaka K. 1987. Purification of protein body-I of rice seed and its polypeptide composition. *Plant Cell Physiol.* 28: 1517-1527.
- Ohnishi M, Mitsune T y Tabata M. 1997. An attempt to evaluate the subsite structure of cycloamylose glucanotransferase from *Bacillus stearothermophilus*, based on its transfer reaction with substrate malto-oligosaccharides. *Starch* 49:360-363.
- Onyango C, Unbehend G y Lindhauer MG. 2009. Effect of cellulose-derivatives and emulsifiers on creep-recovery and crumb properties of gluten-free bread prepared from sorghum and gelatinised cassava starch. *Food Res. Int.* 42: 949-955.
- Orth RA y Bushuk W. 1972. A comparative study of proteins of wheats of diverse baking quality. *Cereal Chem.* 49: 268-275.
- Osborne TB. 1907. Proteins of the wheat kernel. Publication of the Carnegie Institution Washington. 84: 1-119.
- Otsu N. 1979. A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. *IEE Transactions on systems, man, and cybernetics* 9: 62-66.
- Payne PI y Corfield KG. 1979. Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta* 145: 83-88.
- Pajin B, Soronja-Simovic D, Seres Z, Gyura J, Radujko I y Sakac M. 2011. Physicochemical and textural properties of puff pastry margarines. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* 113: 262-268.
- Pallarés GM, Tadini CC y Pérez GT. 2009. Capítulo IV: Elaboración de productos de panificación especialmente formulados. En: *Alternativas tecnológicas para la elaboración y la conservación de productos panificados*. Ed. Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Córdoba, Argentina. Pp. 143-155.
- Pasha I, Anjum FM y Butt MS. 2009. Genotypic variation of spring wheats for solvent retention capacities in relation to end-use quality. *LWT - Food Sci. Tech.* 42: 418-423.
- Park B y Chen R. 2001. Co-occurrence matrix texture features of multi-spectral images on poultry carcasses. *J. Agri. Eng. Res.* 78: 127-139.
- Payne PI, Nightingale MA, Krattiger AF y Holt LM. 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality in British-grown wheat varieties. *J. Food Sci. Agric.* 40: 51-65.
- Peleg M. The basics of solid food rheology. 1987. En: *Food texture: Instrumental and sensory measurement*. Ed. Moskowitz HR. Marcel Dekker Inc. Nueva York, Estados Unidos de América. Pp. 3-34.
- Pérez-Bravo F, Araya M, Mondragón A, Ríos G, Alarcón T, Roessler JL y Santos JL. 1999. Genetic differences in HLA-DQA1* and DQB1* allelic distributions between celiac and control children in Santiago, Chile. *Hum. Immunol.* 60: 262-267.
- Perez E, Borneo R, Melito C y Tovar J. 1999. Chemical, physical, and morphometric properties of peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza* B.) Starch. *Acta Científica Venezolana* 50: 240-244.
- Pérez E. 2001. Modificación de las propiedades funcionales de harina y almidones extraídos de ocumo criollo (*Xanthosoma sagittifolium*), ocumo chino (*Colocasia esculenta*) y batata (*Ipomoea batatas*) para su aprovechamiento en la formulación de alimentos horneados. Tesis Doctoral Universidad Central de Venezuela, Venezuela.
- Pérez EE, Lares M, González Z y Tovar J. 2007b. Production and characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) flours using different thermal treatment. *Interciencia* 32: 615-619.
- Pérez L. 2007. Elaboración de pasta alimenticia por sustitución de sémola de trigo por harina de yuca 10, 15 20% y zumo de remolacha. Tesis de Licenciatura. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela, Venezuela.
- Perez-Nieto A, Chanona-Pérez JJ, Farrera-Rebollo RR, Gutiérrez-López GF, Alamilla-Beltran L y Calderón-Domínguez G. 2010. Image analysis of structural changes in dough baking. *LWT-Food Sci. Tech.* 43: 535-543.
- Perry PA y Donald AM. 2000. The effects of low temperatures on starch granule structure. *Polymer.* 41: 6361-637.
- Pimdit K, Therdthai N y Jangchud K. 2008. Effects of fat replacers on the physical, chemical and sensory characteristics of puff pastry. *Nat. Sci.* 42: 739-746.
- Pisesookbuntern W y D'Appolonia BL. 1983. Bread staling studies. I: Effect of surfactants on moisture migration from crumb to crust and firmness values of bread crumb. *Cereal Chem.* 60: 298-300.
- Ploski R, Ek J, Thorsby E y Sollid LM. 1993. HLA-DQ (alpha 1*0501, beta 1*0201) associated susceptibility in celiac disease: a possible gene dosage effect of DQB1*0201. *Tissue Antigens* 41: 173-177.

- Pluschkell S, Hellmuth K y Rinas U. 1996. Kinetics of glucose oxidase excretion by recombinant *Aspergillus niger*. *Biotechnol. Bioeng.* 51: 215-220.
- Pogna N, Redaelli R, Dachkevitch A y Dal Belin Peruffo A. 1994. Capítulo: Genetics of wheat quality and its improvement by conventional and biotechnological breeding. En: *Wheat production, properties and quality*. Editado por Bushuk W, Rasper V. Chapman Hall. EUA.
- Prentice RDM, Stark JR y Gidley MJ. 1992. Granule residues and "ghosts" remaining after heating A-type barley starch granules in water. *Carbohydr. Res.* 227: 121-130.
- Primo-Martín C, Valera R y Martínez-Anaya MA. 2003. Effect of pentosanase and oxidases on the characteristics of doughs and the glutenin macropolymer (GMP). *J. Agric. Food Chem.* 51: 4673-4679.
- Przybyla AE y Luh BS. 1997. Nutritive value and sensory properties of rice and wheat flour cookies. *Cereal Food World* 22: 457-458.
- Pomeranz Y, Shogren M y Finney K. 1969. Improving bread making properties with glycolipids. I. Improving soy products with sucroesters. *Cereal Chem.* 46: 503-511.
- Pomeranz Y. 1988. Capítulo: Composition and functionality of wheat flour components. En: *Wheat chemistry and technology*. Ed. Pomeranz Y. American Association of Cereal Chemists Inc. St Paul, EUA. Pp. 219-370.
- Puppo MC, Arocha Gularte M, Pérez GT, Ribotta PD y Añón MC. 2007. Capítulo 8: Soja. En: *De Tales Harinas, Tales Panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica*. Eds. León AE, Rosell CM. Córdoba, Argentina. Pp. 319-362.
- Pylar EJ. 1988. *Baking science and technology*. Siebel Publishing Company. Chicago, EUA.
- Quaglia, G. 1991. La harina de trigo. En: *Ciencia y tecnología de la panificación*. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España. Pp. 31-36.
- Quevedo R, López-G C, Aguilera JM y Cardoche L. 2002. Description of food surfaces and microstructural changes using fractal image texture analysis. *J. Food Eng.* 53: 361-371.
- Ragaee S y Abdel-Aal EM. 2006. Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. *Food Chem.* 95:9-18.
- Rasiah IA, Sutton KH, Low FL, Lin HM y Gerrard JA. 2005. Crosslinking of wheat dough proteins by glucose oxidase and the resulting effects on bread and croissants. *Food Chem.* 89: 325-332.
- Rattanachon W, Piyachomkwan K y Sriroth K. 2004. Physico-chemical properties of root, flours and starch of bitter and sweet cassava varieties. En: *Abstract of the Sixth International Scientific Meeting of the cassava biotechnology Network*. Calí, Colombia. Pp. 111.
- Rao VK, Mulvaney SJ, Dexter JE, Edwards NM y Peressini D. 2001. Stress-relaxation properties of mixograph semolina-water doughs from durum wheat cultivars of variable strength in relation to mixing characteristics, bread- and pasta-making performance. *J. Cereal Sci.* 34: 215-32.
- Rao MA. 1999. Measurement of flow and viscoelastic properties. En: *Rheology of fluid and semisolid foods: Principles and applications*. Ed. Rao MA. Aspen Publishers Inc. Maryland, Estados Unidos de América. Pp. 59-152.
- Raymundo A, Fradinho P y Nunes MC. 2014. Effect of Psyllium fibre content on the textural and rheological characteristics of biscuit and biscuit dough. *Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre* 3: 96-105.
- Renzetti S y Arendt EK. 2009. Effects of oxidase and protease treatments on the breadmaking functionality of a range of gluten-free fours. *Eur. Food Res. Technol.* 229: 307-317.
- Renzetti S y Rosell MC. 2016. Role of enzymes in improving the functionality of proteins in non-wheat dough systems. *J. Cereal Sci.* 67: 35-45.
- Renzetti S, de Harder R y Jurgens A. 2016. Puff pastry with low saturated fat contents: the role of fat and dough physical interactions in the development of a layered structure. *J. Food Eng.* 170: 24-32.
- Ribotta PD, León AE y Añón MC. 2001. Effect of freezing and frozen storage of doughs on bread quality. *J. Agric. Food Chem.* 49: 913-918.
- Ribotta PD y Le Bail A. 2007. Thermo-physical and thermo-mechanical assessment of partially baked bread during chilling and freezing process: impact of selected enzymes on crumb contraction to prevent crust flaking. *J. Food Eng.* 78: 913-921.
- Roccia P, Ribotta PD, Ferrero C, Pérez GT y León AE. 2012. Enzymes Action on Wheat-Soy Dough Properties and Bread Quality. *Food Bioprocess Tech.* 5: 1255-1264.
- Rickard JE, Asoka M y Blanshard JMV. 1991. The physico-chemical properties of cassava starch. *Trop Sci.* 31: 189-207.

- Rodríguez N y Baragaño-Mosqueda M. 1974. Evaluación de la harina de arroz como sustituto parcial en la elaboración de pan. Tesis para optar al título de Licenciado en Biología, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Venezuela.
- Rojas JA, Rosell CM y Benedito de Barber C. 1999. Pasting properties of different wheat flour hydrocolloid systems. *Food Hydrocolloid* 13: 27-33.
- Rosell CM, Wang J, Aja S, Bean S y Lookhart G. 2003. Wheat flour proteins as affected by transglutaminase and glucose oxidase. *Cereal Chem.* 80: 52-55.
- Rosell CM y Gómez M. 2006. Rice. En: *Bakery products: Science and Technology*. Ed Hui YH. Blackwell Publishing. Ames Iowa, EUA. Pp. 123-133.
- Rosell CM, Collar C y Haros M. 2007. Assessment of hydrocolloid effects on thermomechanical properties of wheat using the Mixolab. *Food Hydrocolloid* 21: 452-462.
- Rosell CM, Haros M, Escrivá C y Benedito de Barber C. 2001. Experimental approach to optimize the use of α -amylases in breadmaking. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2973-2977.
- Rousseau D, Hill AR y Marangoni AG. 1996. Restructuring butterfat through blending and chemical interesterification. 1. Melting behavior and triacylglycerol modifications. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73: 983-989.
- Rousseau D y Marangoni AG. 1998. Tailoring the textural attributes of butterfat/canola oil blends via Rhizopus arrhizus lipasecatalyzed interesterification. 1. Compositional modifications. *J. Agric. Food Chem.* 46: 2368-2374.
- Roussel P y Chiron H. 2002. Les Pains Français: Evolution, Qualité, Production. Ed. Mae-Erti. Vesoul, Francia. Pp. 443.
- Safari-Ardi M y Phan-Thien N. 1998. Stress relaxation and oscillatory tests to distinguish between doughs prepared from wheat flours of different varietal origin. *Cereal Chem.* 75: 80-84.
- Sahi SS y Guy RCE. 2005. New lipase functionality in bakery products. En: *Using Cereal Science and Technology for the Benefit of Consumers*. Eds Cauvain SP y Young LS. Woodhead Publishing. Cambridge, Inglaterra. Pp. 428-433.
- San Miguel MA. 2013. Influencia de la hidroxipropilmetilcelulosa, el psyllium y su combinación en las propiedades morfogeométricas y texturales de panes sin gluten elaborados con harina de arroz. Tesis de maestría. Universidad de Valladolid, España.
- Sánchez VE, Bartholomai GB y Pilosof AMR. 1995. Rheological Properties of Food Gums their Water Binding Capacity and to Interaction as Related to Soy Protein. *LWT-Food Sci. Technol.* 28: 380-385.
- Sapirstein HD y Suchy J. 1999. SDS-Protein Gel Test for Prediction of Bread Loaf Volume. *Cereal Chem.* 76: 164-172
- Sarkar N. 1979. Thermal gelation properties of methyl and hydroxypropyl methylcellulose. *J. Appl. Polym. Sci.* 24: 1073-1087.
- Sasaki T, Yasui T y Matsuki J. 2000. Influence of non-starch polysaccharides isolated from wheat flour on the gelatinization and gelation of wheat starches. *Food Hydrocolloid* 14: 295-303.
- Sciarini LS, Ribotta PD, León AE y Pérez GT. 2012a. Influence of enzyme active and inactive soy flours on cassava and corn starch properties. *Starch/Stärke* 64: 126-135.
- Sciarini LS, Ribotta PD, León AE y Pérez GT. 2012b. Incorporation of several additives into gluten free breads: Effect on dough properties and bread quality. *J. Food Eng.* 111: 590-597.
- Sciarini LS, Pérez GT, de Lamballerie M, León AE y Ribotta PD. 2012c. Partial-Baking Process on Gluten-Free Bread: Impact of Hydrocolloid Addition. *Food Bioprocess Technol.* 5: 1724-1732.
- Sciarini LS, Bockstaele FV, Nusantoro B, Pérez GT y Dewettinck K. 2013. Properties of sugar-snap cookies as influenced by lauric-based shortenings. *J. Cereal Sci.* 58: 234-240.
- Serial MR. 2013. Estudio de incorporación de fibras en galletas por RMN. Tesina de grado. Facultad de Matemática, Astronomía y Física, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Serial MR, Blanco Canalis MS, Carpinella M, Valentinuzzi MC, León AE, Ribotta PD y Acosta RH. 2016. Influence of the incorporation of fibers in biscuit dough on proton mobility characterized by time domain NMR. *Food Chem.* 192: 950-957.
- Shannon JC, Garwood DL y Boyer CD. 2009. Capítulo 3: Genetics and physiology of starch development. En: *Starch: chemistry and technology*. Eds. BeMiller JN y Whistler RL. Academic Press, Elsevier Inc. Nueva York, EUA. Pp. 23-82.
- Shibanuma K, Takeda Y, Hizukuri S y Shibata S. 1994. Molecular structures of some wheat starches. *Carbohydr Polym.* 25: 111-116.
- Shih FF. 2004. Rice proteins. En: *Rice Chemistry and Technology*. Ed. Champagne ET. American Association of Cereal Chemist. St Paul, EUA. Pp. 143-162.

- Shim J, Seo N, Roh S, Kim J, Cha H y Park K. 2007. Improved Bread-Baking Process Using *Saccharomyces cerevisiae* Displayed with Engineered Cyclodextrin Glucanotransferase. *J. Agric. Food Chem.* 55: 4735-4740.
- Schober TJ, O'Brien CM, McCarthy D, Darnedde A y Arendt EK. 2003. Influence of gluten-free flour mixes and fat powders on the quality of gluten-free biscuits. *Eur. Food Res. Tech.* 216: 369-376.
- Schober TJ, Messerschmidt M, Bean SR, Park S-H y Arendt EK. 2005. Gluten-free bread from sorghum: quality differences among hybrids. *Cereal Chem.* 82: 394-404.
- Schober TJ, Bean SR y Doyle DL. 2007. Gluten-free bread improved by sourdough fermentation: biochemical, rheological and microstructural background. *J. Agric. Food Chem.* 55: 5137-5146.
- Schramm G. 2000. The measurement of the elastic behavior of visco-elastic fluids. En: *A practical approach to rheology and rheometry*. Gebruder HAAKE GmbH. Karlsruhe, Federal Republic of Germany. Pp. 86-134.
- Searle SR. 1971. *Linear Models*. John Wiley and Sons Inc. Nueva York, EUA.
- Searle SR. 1987. *Linear Models for Unbalanced Data*. John Wiley and Sons Inc. Nueva York, EUA.
- Seow CC y Teo CH. 1996. Staling of starch based products: A comparative study by firmness and pulsed NMR measurements. *Starch* 48: 90-93.
- Shan L, Molberg Ø, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM y Khosla C. 2002. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Sci.* 297:2275-2279.
- Shewry PR, Tatham AS, Forde J, Kreis M y Mifflin BJ. 1986. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: A reassessment. *J. Cereal Sci.* 4: 97-106.
- Shewry PR, Halford NG y Tatham AS. 1992. High molecular weight subunits of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 15: 105-120.
- Shewry PR y Tatham AS. 1990. The prolamin storage of cereal seeds: structure and evolution. *Biochem. J* 267: 1-12.
- Shewry PR y Tatham AS. 1997. Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *J. Cereal Sci.* 25: 207-227.
- Shewry PR, Popineau Y, Lafandra D y Belton P. 2001. Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the Eurowheat Project. *Trend Food Sci. Tech.* 11: 433-441.
- Shih WH, Shih WY, Kim SI, Lin J y Aksay IA. 1990. Scaling behavior of the elastic properties of colloidal gels. *Phys. Rev. A.* 42: 4772-4779.
- Silva EM, Fernandes MI, Galvão LC, Sawamura R y Donadi EA. 2000. Human leukocyte antigen class II alleles in white Brazilian patients with celiac disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 31: 391-394.
- Simovic DS, Pajin B, Seres Z y Filipovic N. 2009. Effect of low-trans margarine on physicochemical and sensory properties of puff pastry. *Int. J. Food Sci. Tech.* 44: 1235-1244.
- Simuang J, Chiew Chan N y Tansakul A. 2004. Effects of fat content and temperature on apparent viscosity of coconut milk. *J. Food Eng.* 64: 193-197.
- Singh B. 2007. Psyllium as therapeutic and drug delivery agent. *Int. J. Pharma.* 334: 1-14.
- Singh S, Singh N y MacRitchie F. 2011. Relationship of polymeric proteins with pasting, gel dynamic and dough empirical-rheology in different Indian wheat varieties. *Food Hyd.* 25: 19-24.
- Sivaramakrishnana HP, Sengeb B y Chattopadhyay PK. 2004. Rheological properties of rice dough for making rice bread. *J. Food Eng.* 62: 37-45.
- Sliwinsky EL, Kolster P y van Vliet T. 2004. On the relationship between large-deformation properties of wheat flour dough and baking quality. *J. Cereal Sci.* 39: 231-45.
- Stampfli I y Nersten B. 1995. Emulsifiers in bread making. *Food Chem.* 52: 353-360.
- Stark JR, Aisien AO y Palmer GH. 1983. Studies on starches from Nigerian sorghum. *Starch/Staerke* 35: 73-76.
- Staswick PE, Hermodson MA y Nielsen NC. 1984. The Amino Acid Sequence of the A2B1a Subunit of Glycinin. *Journal of Biological Chemistry* 259: 13424-13430.
- Stauffer CE. 1996. Functional properties of fats and oils. En: *Fats and Oils*. Ed. Eagan Press Handbook Series. American Association of Cereal Chemists Inc. St. Paul, EUA. Pp. 8-10.
- Steffe JF. 1996. Viscoelasticity. En: *Rheological methods in food process engineering*. Ed. Steffe JF. Freeman Press. East Lansing, EUA. Pp. 294-349.
- Steffolani ME, Pérez GT, Ribotta PD y León AE. 2007. Relationship between variety classification and breadmaking quality in Argentine wheats. *Int. J. Agric. Res.* 2: 33-42.
- Steffolani ME, Ribotta PD, Pérez GT y León AE. 2010. Effect of glucose oxidase, transglutaminase, and pentosanase on wheat proteins: Relationship with dough properties and bread-making quality. *J. Cereal Sci.* 51: 366-373.
- Sternhagen LG y Hosene RC. 1994. Firming Effects in Danish Pastry. *Cereal Chem.* 71: 560-563.

- Sverker A, Hensing G y Hallert C. 2005. Controlled by food-lived experiences of coeliac disease. *J. Hum. Nutr. Dietet.* 18: 171-180.
- Sworn G. 2011. Xanthan Gum – Functionality and Application. En: practical food rheology, an interpretive approach. Eds. Norton IT, Spyropoulos F y Cox P. Chemical Engineering University of Birmingham Edgbaston. Birmingham, Reino Unido. Pp 85-110.
- Takeda C, Takeda Y y Hizukuri S. 1989. Structure of amylo maize amylose. *Cereal Chem.* 66: 22-25.
- Tatham AS y Shewry PR. 1985. The conformation of wheat gluten proteins. The secondary structures and thermal stabilities of a-, b-, g and o-gliadins. *J. Cereal Sci.* 3: 104-113.
- Tatham AS. 1995. Capítulo: The structures of wheat protein. En: *Wheat Structure. Biochemistry and functionality.* Ed. Schofield JP. Journal Royal Society of Chemistry. Reading, Inglaterra. Pp.52-62.
- Telloke GW. 1991. Puff pastry I: Process and Dough Ingredient Variables. CCFRA. Flour Milling and Baking Research Association. Chipping Campden, Reino Unido.
- Temudo MS, Nunes MC, Batista AP, Carvalheiro F, Esteves MP y Raymundo A. 2008. Physicochemical Characterisation of *Psyllium* Fibre. En: *Gums and Stabilisers for the Food Industry.* Eds. Williams PA y Phillips GO. Royal Society of Chemistry. Pp. 572-577.
- Tester RF y Debon SJJ. 2000. Annealing of starch-A review. *Int. J. Biol. Macromolec.* 27: 1-12.
- Thanh VH y Shibasaki K. 1978. Major proteins of soybean seeds. Subunit structure of beta-conglycinin. *J. Agric. Food Chem.* 26: 692-698.
- Thompson DB. 2000. On the non-random nature of amylopectin branching. *Carbohy. Polym.* 43: 223-239.
- Tonkova A. 1998. Bacterial cyclodextrin glucanotransferase. *Enzyme Microb. Technol.* 22: 678-686.
- Urlacher B y Noble O. 1997. Xanthan gum. En: *Thickening and Gelling Agents for Food.* Ed. Imeson AP. Food Ingredients Division, FMC Corporation Ltd. Reino Unido. Pp. 284-311.
- Utsumi S. 1992. Plant food protein engineering. En: *Advances in Food Nutrition Research.* Ed. Kinsella JE. Academic Press Inc. San Diego, EUA. Pp. 89-208.
- Vartdal F y Thorsby E. 1992. HLA-DR and -DQ genotypes of celiac disease patients serologically typed to be non-DR3 or non-DR5/7. *Hum. Immunol.* 35: 188-192.
- Vemulapalli V y Hosene RC. 1998. Glucose oxidase effects on gluten and water solubles. *Cereal Chem.* 75: 859-862.
- Veraverbeke WS y Delcour JA. 2002. Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42: 179-208.
- Vreeker R, Hoekstra LL, den Boer DC y Agterof WGM. 1992. The fractal nature of fat crystal networks. *Colloids Surf.* 65: 185-189.
- Vulicevic IR, Abdel-Aal E-SM, Mittal GS y Lu X. 2004. Quality and storage life of par-baked frozen breads. *LWT-Food Sci. Technol.* 37: 205-213.
- Waigh TA, Gidley MJ, Komanshek BU y Donald A.M. 2000. The phase transformations in starch during gelatinisation: a liquid crystalline approach. *Carbohy. Res.* 328: 165-176.
- Wang M, Vliet TV y Hamer RJ. 2004. How gluten properties are affected by pentosanos. *J. Cereal Sci.* 39: 395-402.
- Wang FC y Sun XS. 2002. Creep-Recovery of Wheat Flour Doughs and Relationship to Other Physical Dough Tests and Breadmaking Performance. *Cereal Chem.* 79: 567-571.
- Wang X, Choi SG y Kerr WL. 2004. Water dynamics in white bread and starch gels as affected by water and gluten content. *LWT-Food Sci. Technol.* 37: 377-384.
- Weegels PL, Van de Pijpekamp AM, Graveland A, Hamer RJ y Schofield JD. 1996. Depolymerisation and re-polymerisation of wheat glutenin during dough processing. Relationships between glutenin macropolymer content and quality parameters. *Cereal Chem.* 23: 103-111.
- Weegels PL, Hamer RJ y Schofield JD. 1997. Functional properties of low Mr wheat proteins. III. Effects on composition of the glutenin macropolymer during dough mixing and resting. *J. Cereal Sci.* 25: 165-173.
- Whistler RL, Bemiller JN y Paschall EF. 1984. *Starch: Chemistry and Technology.* Academic Press. Orlando, EUA. Pp. 718
- Whitcomb PJ y Macosko CW. 1978. Rheology of Xanthan Gum. *J. Rheol.* 22: 493-506.
- Wickramasinghe HAM, Takigawa S, Matsuura-Endo C, Yamauchi H y Noda T. 2009. Comparative analysis of starch properties of different root and tuber crops of Sri Lanka. *Food Chem.* 112: 98-103.
- Wickramarachchi KS, Sissons MJ y Cauvain SP. 2015. Puff pastry and trends in fat reduction: an update. *Int. J. Food Sci. Technol.* 50: 1065-1075.

- Wieser H. 2003. Parte II: Dough and bread quality: Capítulo 20: The use of redox agents. En: Bread making: Improving quality. Ed. Cauvain SP. Woodhead Publishing in Food Science and Technology. Cambridge, Inglaterra. Pp. 447-469.
- Wieser H. 2006. Chemistry of gluten proteins. Food Microbiol. 24: 115-119.
- Williams T y Pullen G. 1998. Functional ingredients. En: Technology of Breadmaking. Eds. Cauvain SP y Young LS. Blackie Academic & Professional. Londres, Inglaterra. Pp. 45-80.
- Witt S, Wohlfahrt G, Schomburg D, Hecht H y Kalisz H. 2000. Conserved arginine-516 of *Penicillium amagasakiense* glucose oxidase is essential for the efficient binding of β -D-glucose. J. Biochem. 3 47: 553-559.
- Wrigley C, Andrews J, Bekes F, Gras P, Gupta R, MacRitchie F y Skerritt J. 1998. Protein-protein interactions-essential to dough rheology. En: Interactions: The keys to cereal quality. Eds. Hamer R y Hosney R. American Association of Cereal Chemists. EUA. Pp. 17-41.
- Xiao ZS, Park SH, Chung OK, Caley MS y Seib PA. 2006. Solvent retention capacity values in relation to hard winter wheat and flour properties and straight-dough breadmaking quality. Cereal Chem. 83: 465-71.
- Yamauchi F, Yamagishi T y Iwabuchi S. 1991. Molecular understanding of heat induced phenomena of soybean proteins. Food Reviews International 7: 283-322.
- Yeh AI. 2004. Preparation and applications of rice flour. En: Rice: Chemistry and Technology. Ed. Champagne ET. American Association of Cereal Chemists Inc. St Paul, EUA. Pp. 495-540.
- Yu L, Perret J, Parker T y Allen KGD. 2003. Enzymatic modification to improve the water-absorbing and gelling properties of psyllium. Food Chem. 82: 243-248.
- Zabik ME y Tipton RC. 1989. Pie crust quality: influence of use of fractionated and reconstituted soft wheat flour of varied protein content. Cereal Chem. 66: 313-317.
- Zarkadas M, Dubois S, MacIsaac K et al. 2013. Living with coeliac disease and a gluten-free diet: a Canadian perspective. J. Hum. Nutr. Diet. 26: 10-23.
- Zhou Z, Robards K, Helliwell S y Blanchard C. 2003. Effect of rice storage on pasting properties of rice flour. Food Res. Int. 36: 625-634.