



**ESTUDIO DEL ENRIQUECIMIENTO DE  
PANES SIN GLUTEN CON PROTEÍNAS  
EXÓGENAS Y CONTROL DE ACIDEZ DE  
LAS MASAS**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**Curso: 2014/15**

**Alumna: Patricia del Amo Forte**

**Tutoras: Felicidad Ronda Balbás y Marina Villanueva Barrero**

**Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos**

**E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia)**

**Universidad de Valladolid**

## ÍNDICE

1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
3.1. MATERIALES.....	7
3.2. PROCESO DE ELABORACIÓN DE MASAS Y PANES .....	7
3.3. MEDICIÓN DE LAS MASAS. ....	8
3.4. MEDICIÓN DE LA EVOLUCIÓN Y CALIDAD DE LOS PANES.....	10
3.5. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS. ....	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	13
4.1. PROPIEDADES MORFOGEOMÉTRICAS .....	13
4.1.1. VOLUMEN ESPECÍFICO.....	13
4.1.2. PERDIDA DE PESO .....	16
4.1.3. COLOR.....	16
4.2. PROPIEDADES TEXTURALES.....	18
4.3. ESTUDIO DEL ENVEJECIMIENTO.....	20
4.4. REOFERMENTOMETRO.....	22
5. CONCLUSIONES.....	26
6. AGRADECIMIENTOS.....	27
7. BIBLIOGRAFÍA.....	27

## **1. RESUMEN**

La celiacía es una enfermedad, de base inmune ante la presencia de gluten, que causa una mala absorción de nutrientes. El gluten está presente en el trigo, cebada y avena, siendo estos la base de muchos productos básicos en la dieta. Debido a esto, aparece un sector en el mercado demandante de productos sin alérgenos y para personas con intolerancias alimentarias específicas, existiendo la necesidad de investigar para desarrollar nuevos productos sin gluten con alta calidad y a un precio razonable. El objetivo del presente estudio es evaluar la adición ácido y proteínas exógenas, en masas hechas a partir de almidón de maíz y patata, para obtener panes de una calidad mejorada.

Se elaboraron masas variando el tipo de almidón, proteína y presencia/ausencia de ácido. De los panes resultantes se evaluó el desarrollo de la masa, volumen específico, pérdida de peso, color, textura y envejecimiento. Entre las combinaciones estudiadas, se vio que la presencia de ácido favoreció las propiedades mofogeométricas, disminuyó la consistencia de las masas y se obtuvieron panes con unas migas más blancas. En cuanto a las proteínas, la proteína aislada de soja, es la que menos influyó sobre las características de la masa y menos interaccionó con el ácido, siendo la caseína con y sin presencia de ácido la que proporcionó a las masas características diferenciadoras.

*Palabras clave:* pan sin gluten, ácido, soja, caseína, almidón, maíz, patata.

## **ABSTRACT**

Celiac disease is an immune disease, in the presence of gluten cause of poor absorption of nutrients. Gluten is present in wheat, barley and oats, these being the basis for many commodities in the diet. Because of this, a sector on the demanding market of products without allergens and for people with specific food intolerances is appearance. Therefore, it is necessary to develop new gluten-free products with high quality and good priced. The aim of this study is to evaluate the acid addition and exogenous proteins in doughs from corn and potato starch, for improved quality breads.

Doughs were prepared by varying the type of starch, protein and presence / absence of acid. Dough development, specific volume, weight loss, color, texture and staling in breads was evaluated. Among the combinations studied, was the presence of acid improved mofogeometrics properties, decreased the consistency of the dough and a white crumb in gluten-free breads was obtained. As protein, soy isolate, is least influenced the characteristics of the doughs and less interacts with the acid. To the contrary, the casein with and without acid showed more interesting characteristics.

*Keywords:* gluten, acid, soy, casein, starch, corn, potato.

## **2. INTRODUCCIÓN.**

La enfermedad celiaca es una intolerancia permanente al gluten, concretamente a las gliadinas, presentes en el trigo, cebada, centeno y avena. Esta enfermedad es causada por una reacción inflamatoria, de base inmune, en la mucosa del intestino delgado que dificulta la absorción de nutrientes esenciales como hierro, ácido fólico, calcio y vitaminas liposolubles (Gallagher et al., 2004).

En Europa, la prevalencia de la enfermedad celiaca ha sido estimada en 1 de cada 100 personas. Los síntomas pueden aparecer a cualquier edad. Estos síntomas incluyen malestar abdominal, diarrea, pérdida o ganancia de peso, cansancio y anemia, siendo el único tratamiento efectivo para estos individuos, seguir una dieta sin gluten (Moore et al., 2008).

Consecuentemente, ha aparecido un sector de mercado demandante de productos sin alérgenos y para personas con intolerancias alimentarias específicas. Por ello, está surgiendo la necesidad de investigar nuevos ingredientes, aditivos y coadyuvantes tecnológicos que nos permitan desarrollar productos sin gluten con alta calidad y a un precio razonable (Gallagher et al., 2004; Blanco et al., 2011; Villanueva et al., 2015). Actualmente en los mercados, estos productos tienen poca variedad y a menudo son de escasa calidad y con un coste elevado.

La mayoría de los panes tradicionales, están elaborados a base de harina de trigo o de otros cereales que contienen gluten. Las propiedades de la masa de trigo, se debe a la actuación de las gluteninas (responsables de la elasticidad y resistencia) y gliadinas (responsables de un comportamiento viscoso y elástico de la masa). Después de una mezcla e hidratación completa, las gluteninas y gliadinas interactúan dando lugar a una red viscoelástica. Por tanto el gluten, es el conjunto de estas proteínas insolubles en agua, y puede ser considerado como un componente esencial en el pan, que le proporciona elasticidad y consistencia. Es el responsable de atrapar el CO<sub>2</sub> producido durante la fermentación, provocando un hinchamiento de la masa. La eliminación del gluten disminuye la capacidad de la masa para desarrollarse adecuadamente durante el amasado, fermentación y horneado (Mariotti et al., 2008), dando lugar a panes con textura quebradiza, color más pálido, y otros problemas derivados de la no formación de la red viscoelástica como mala extensibilidad, falta de resistencia al estiramiento y baja capacidad de retención del gas producido durante la fermentación. Por ello, la elaboración de panes sin gluten supone un gran reto tecnológico (Mariotti et al., 2009; Gallagher et al., 2004).

El almidón es un polisacárido vegetal de almacenamiento, consiste en cadenas formadas por dos glucanos, amilosa y amilopectina, con estructura altamente ordenada y empaquetada en gránulos. Está formado principalmente por la unión de moléculas de glucosa. Los almidones cumplen la misión de repartir la humedad de forma homogénea durante el amasado y de proporcionar una estructura semi-sólida a la masa. La harina junto con los lípidos existentes en los granos, son los que proporcionan los olores característicos del pan. El almidón se obtiene principalmente de tres cereales (trigo, arroz y maíz) y de tres tubérculos (patata, batata y mandioca), aunque existen otras fuentes como pueden ser sorgo, castaña, guisante, lenteja, etc.

La forma de obtención del almidón, consiste en una liberación de los gránulos presentes en las semillas, y el método de extracción varía de una fuente a otra. En el caso de la patata, la extracción es sencilla ya que se encuentra de forma libre en el interior de la célula. En el caso del maíz, por ejemplo, el almidón se encuentra en el interior del endospermo formando parte de la matriz proteica, y por ello su extracción es más compleja.

Los principales cereales recomendados para celíacos son el arroz, maíz, sorgo y trigo sarraceno. El arroz ha sido uno de los preferidos a la hora de elaborar pan sin gluten ya que es hipoalergénico, sin color y con sabor suave, es muy pobre en proteínas, sodio, grasa y carbohidratos fácilmente digeribles (Villanueva et al., 2015; Gujral et al., 2004). El resto de los cereales (maíz, sorgo y trigo sarraceno) tienen efectos negativos en la calidad del pan incluso cuando se emplean en cantidades de 10-20%, debido a la consistencia de las masas elaboradas con estos cereales, que son más sensibles a colapsarse y se producen grandes agujeros en el centro de la miga o áreas muy densas en la parte inferior (Blanco et al., 2011). En el presente estudio este fue uno de los grandes inconvenientes que se tuvo que solventar para poder obtener panes mediante almidón de maíz y patata.

Por tanto, la elección del almidón en la elaboración de panes sin gluten resulta un elemento clave, para una formulación adecuada y de buena calidad. En el pan de trigo, las funciones que ejerce el gluten son tales que no es posible sustituirlo por un sólo ingrediente. Para conseguir pan sin gluten de buenas propiedades texturales y de buena calidad, es necesario emplear almidón sin gluten y sustancias poliméricas que imitan las propiedades viscoelásticas del gluten. El almidón de maíz, patata, o tapioca son los más indicados para este fin (Sciarini et al., 2012).

En la elaboración de panes sin gluten, hidrocoloides como la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) son un elemento esencial, ya que en cierta medida son capaces de imitar la función del gluten obteniendo resultados positivos en la estructura de la miga, el gusto, la aceptación global y su vida útil (Arendt et al., 2008). Los hidrocoloides mejoran el desarrollo de la masa y la retención de gas a través del aumento de viscosidad del sistema, resultando panes con mayor volumen específico (Sciarini et al., 2012; Demirkesen et al., 2010).

Las proteínas también ayudan a mejorar la calidad del pan. Se ha comprobado que añadiendo proteínas de diferentes fuentes (soja, guisante, albumina y caseína) en la elaboración de masas de pan sin gluten, se obtienen beneficios nutricionales y sensoriales, llegando en algunos casos a mejorar su volumen y apariencia (Gallagher et al., 2003; Marco et al., 2008). Las interacciones que se producen entre almidón y proteína, mejoran la gelatinización y retrogradación del almidón, provocando un aumento de calidad y vida útil (Villanueva et al., 2015).

Otro ingrediente también importante en este tipo de panes es el agua, siendo necesario una alta hidratación entre 65 y 110%, ya que su disponibilidad tiene un papel importante. De esta disponibilidad dependerá la formación del gel y la funcionalidad de los hidrocoloides (Sciarini et al., 2012), siendo necesario optimizar el nivel de agua para cada formulación, para la obtención de resultados óptimos (Arendt et al., 2008).

Los emulgentes, también son un ingrediente muy utilizado en la industria de la panadería ya que ayuda a la interacción entre la proteína y el almidón, obteniendo masas más suaves. Poseen una parte hidrofílica y otra hidrofóbica, lo que hace reducir la tensión superficial entre las fases inmiscibles, permitiendo la interacción de dos fases químicamente diferentes y la formación de una emulsión (Sciarini et al., 2012; Demirkesen et al., 2010).

La levadura, otro de los ingredientes principales del pan tradicional, es un conjunto de microorganismos unicelulares, que tienen por objeto alimentarse del almidón y de los azúcares, durante el proceso de fermentación liberando CO<sub>2</sub> en forma de gas, que se difunde en la masa en forma de pequeñas burbujas de aire durante las fases de mezclado y amasado. Este proceso es altamente dependiente de la temperatura. Durante la fase de fermentación, los panes aumentan su volumen por la retención del gas generado, pero esto sólo se produce cuando existe una estructura capaz de mantenerlo, lo cual supone un reto en los panes sin gluten.

Tradicionalmente se ha empleado masa madre fermentada como impulsor natural de la fermentación. En estas masas predominan las bacterias ácido-lácticas, que son las responsables del aroma y de la estructura del pan. Debido a la ausencia de masa madre en las elaboraciones de pan sin gluten, la incorporación de una mezcla de ácidos exógenos (ác. láctico + acético, 0,5) en dosis similares a las que se producirían al añadir este tipo de masas, emulan su efecto. En masas de almidón de arroz enriquecidas con proteínas, la adición de ácido se ha comprobado que interfiere en los enlaces inter e intra moleculares entre proteínas y almidón responsables de la estructura de la masa y características del pan. Debido a que estos enlaces dependen del pH de la masa, al acidificarlo se consiguió incrementar la actividad de proteasas y amilasas produciendo efectos muy favorables, que imitan la fermentación con la masa madre. Estos panes aumentaron la firmeza y elasticidad, incluso mejoraron el sabor, olor y textura de los panes produciendo masas más suaves e incluso, se consiguió un retraso del envejecimiento (Ohishi et al., 2007; Moore et al., 2008; Ronda et al., 2014; Villanueva et al., 2015).

Durante la fase de horneado, los panes se expanden, se inactiva la levadura y la actividad enzimática, se coagulan las proteínas y gelatiniza parcialmente el almidón. En esta fase es cuando el pan adquirirá el volumen, color y aroma característico, siendo una fase importante en los panes sin gluten, ya que a diferencia de los tradicionales, suelen tener menor volumen y una miga más firme y clara.

El objetivo de este estudio, es evaluar la adición ácido y proteínas exógenas (aislado de proteína de soja y caseinato cálcico) en masas y panes elaborados con diferentes almidones (almidón de maíz y almidón de patata) con el fin de obtener panes de una calidad mejorada. Para su consecución se han llevado a cabo la elaboración de las masas y su panificación, estudiado las propiedades físicas y texturales de los panes, y las propiedades de desarrollo de la masa y producción de gas durante la fermentación. Aunque ya se han realizado trabajos en matrices en base arroz, enfocados al estudio de la incorporación de proteínas en función del pH (Villanueva et al., 2015; Ronda et al., 2014), el estudio del efecto del pH en matrices con otras fuentes de almidón enriquecidas con proteínas, todavía no ha sido investigado.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **3.1. MATERIALES**

Para las elaboraciones de los panes se empleó: almidón de maíz (11,6% humedad, 0,1% cenizas, 0,45% proteína) y almidón de patata (19,1% humedad, 0,4% cenizas, 0,06% proteína) los cuales fueron suministrados por Ferrer Alimentación S.A. (Barcelona, España), aceite de girasol (Coosur Premium), azúcar (Azucarera Ebro), y sal que fueron adquiridos en el mercado local, emulgente DIMODAN HP 75/B MB suministrado por Dupont y levadura seca instantánea European de Distribuciones Jesús Palenzuela S.L. (Palencia, España). La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC, Methocel K4M Food Grade) fue proporcionado por Dow Chemical (Midland, EE.UU.) y agua fue adquirida de la red local. Como proteínas, se emplearon aislado de proteína de soja Supro 500-E IP facilitado por proveedora Hispano-Holandesa, S.A. (Barcelona, Spain) y caseinato cálcico por Armor proteines (Saint-Brice-en-Coglès, Francia). En las elaboraciones con ácido se empleó ácido acético y ácido láctico de calidad para análisis (PA, Pancreac, Barcelona).

#### **3.2. PROCESO DE ELABORACIÓN DE MASAS Y PANES**

Para la preparación de las masas se emplearon las siguientes proporciones de ingredientes por cada 100 g de almidón+proteína: 5% azúcar, 1,5% sal, 2% HPMC, 1% emulgente, 6% aceite, 3% levadura y 75% hidratación (ajustada a cada tipo de elaboración, en base 14% humedad de la mezcla almidón+proteína). Las distintas proteínas fueron añadidas con una dosis de 0 y 5% sobre base almidón. En el caso de panes acidificados, la dosis fue de 0,5%, siendo 0,1% ácido acético y 0,4% ácido láctico (p/p en base almidón+proteína).

Los factores estudiados fueron: tipo de almidón, tipo de proteína, presencia o ausencia de ácido. Combinando estos factores, se realizaron 12 elaboraciones.

Para la elaboración de las masas, en primer lugar se pesó el almidón y la proteína, y se mezcló durante 15 min en una mezcladora MR2L (Chopin Technologies, Francia). Se prehidrató la mezcla con el 60% de agua. En el caso de las elaboraciones con ácido, éste se añadió (en proporción acético: láctico, 1:4) diluyéndolo previamente en una pequeña parte del agua de prehidratar. Se incorporó a la mezcla de almidón- proteína y se conectó la amasadora Kitchen-Aid profesional KPM5 (St. Joseph, Michigan, USA) a velocidad 1 durante 4 min.

Se añadieron el resto de ingredientes sólidos y se mezcló durante 2 min a velocidad 2. Se añadió el aceite y el resto del agua con la levadura. Se amasó durante 2 min a velocidad 2 y posteriormente se aumentó a velocidad 4 durante 8 minutos más.

A continuación se repartió 180 g de masa en moldes de aluminio de 430 cm<sup>3</sup> de capacidad y se introdujeron en la cámara de fermentación Sveba Dahlen (Fristad, Sweden) 45 min, con unas condiciones de 28 °C y 85% de humedad relativa. A su vez en la fermentadora se introdujo un pH-metro de mano (Oakton-Eutech Instruments PH6), para determinar la evolución de la acidez de las masas.

Al finalizar, los moldes se introdujeron en un horno de vapor Sveba Dahlen (Fristad, Sweden), donde permanecieron 20 min a 170 °C. Se obtuvieron de cada elaboración, 6 panes que se dejaron enfriar 60 min antes de comenzar las medidas de sus propiedades físicas.

### **3.3. MEDICIÓN DE LAS MASAS.**

Para medir el comportamiento de la masa durante la fermentación, se utilizó un reofermentómetro Chopin Reofermentómetro F3 (Chopin Technologies, Villeneuve-La-Garenne Cedex, Francia), con el que se cuantificó la producción de CO<sub>2</sub> y el comportamiento reológico de las masas durante la fermentación. Este equipo determina la capacidad de retención de gas y el grado de extensión de la masa como consecuencia de la presión producida. La fermentación tuvo lugar a 28 °C durante 3 h, y se midió 200g de masa sin emplear pesa, de acuerdo con el método de Czuchajowska and Pomeranz, (1993). En este caso, hemos adaptado el método a panes sin gluten, retirando los 2kg de pesas del pistón, ya que las masas sin gluten son más débiles que las masas tradicionales. El equipo nos facilita dos curvas:

- **Curva de desarrollo de la masa:** de donde se extraen, el tiempo de desarrollo máximo de la masa ( $T_1$ ), volumen máximo desarrollado (Hm), tiempo de estabilización durante el cual el volumen es superior al 90% ( $T_2$ ), volumen de desarrollo de la masa al final de la prueba (h) y el porcentaje de la pérdida de desarrollo final de la prueba respecto del desarrollo máximo ( $(Hm - h) / Hm$ ) (Tripette & renaud group. Manual de empleo del Reofermentómetro).

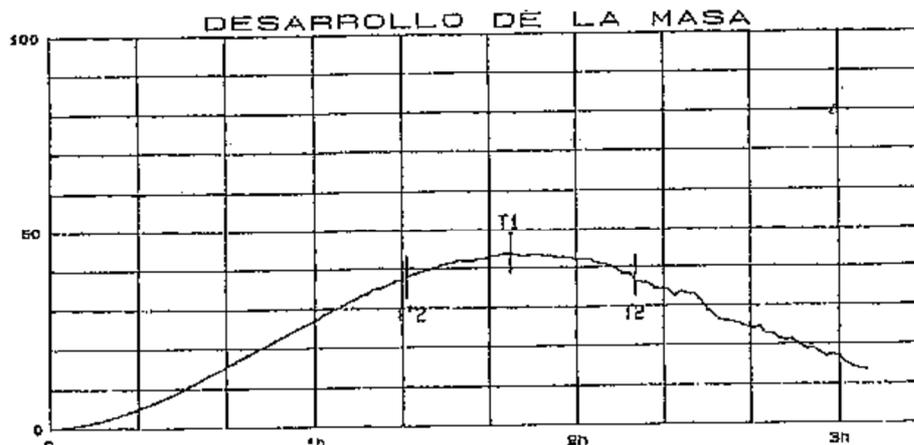


Figura 1. Curva de desarrollo de la masa.

- **Curva de CO<sub>2</sub> producido/ retenido:** de donde se extraen los siguientes datos: altura máxima de la curva de desprendimiento gaseoso (H'm), tiempo necesario para obtener H'm (T<sub>1</sub>), tiempo de aparición de porosidad en la masa (T<sub>x</sub>) momento en el que se separan las dos curvas que se representan sobre el mismo registro, la del gas generado y del retenido, y el volumen total de desprendimiento gaseoso durante la fermentación.

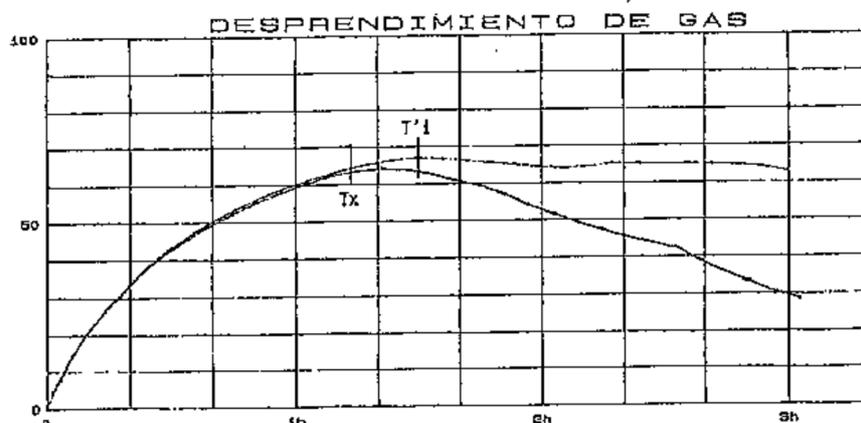


Figura 2. Curva de gas producido/ retenido

Los valores de T<sub>1</sub> y de (Hm – h) / Hm, indican los momentos óptimos para trabajar la masa. El tiempo T<sub>1</sub>, está estrechamente relacionado con la “rapidez” de la levadura y su actividad. La altura Hm, está relacionada con el volumen del pan. T<sub>2</sub>, es una medida de tolerancia de la masa.

En relación a la curva de producción de gas, el que T<sub>x</sub> sea un valor elevado y que el coeficiente de retención de gas sea próximo a 1, es indicativo de harinas con poca porosidad. Suele corresponder con la harina extraída del centro del endospermo de granos sanos. Coeficientes de retención próximos a 0,5/ 0,6 suele corresponder a

harinas extraídas de capas externas al endospermo o harinas procedentes de granos deteriorados o mal conservados (Aguado et al., 1999).

### 3.4. MEDICIÓN DE LA EVOLUCIÓN Y CALIDAD DE LOS PANES

Las mediciones a día cero, se realizaron de 2 de los 6 panes obtenidos. Y el resto se guardaron en bolsas de polietileno, en un frigorífico a 4 °C ( $\pm 2$  °C), para medir el endurecimiento.

**Aspecto visual:** se realizaron fotografías del pan en posición frontal y lateral, así como de dos rebanadas centrales, con la cámara Olympus SP 510 VZ; 100x optical zoom. Se empleó un balance de blancos de 1/60 para las fotos de los panes enteros y del 1/100 para las fotos de las rebanadas. Los panes fueron iluminados con luz blanca artificial, sobre fondo negro donde se encontraba la escala de medida.

**Volumen:** se hicieron dos mediciones de cada pan utilizando el analizador de volumen Volscan Profiler (Stable Mycrosistems, Surrey, Reino Unido). De aquí se obtuvo el volumen y se calculó el volumen específico a través de:

$$\text{Volumen específico} = \frac{\text{Volumen}}{\text{Peso después del horneado}}$$

**Pérdida de peso:** cuando se enfriaron, los panes se pesaron en una balanza Sartorius TEG 101, obteniendo la pérdida de peso relativa de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Pérdida de peso} = \frac{(\text{Peso inicial} - \text{Peso final})}{\text{Peso inicial}}$$

A partir de esta fórmula y sabiendo que la masa inicial repartida fue de 180 g, se puede calcular la pérdida de peso por gramo de muestra depositada en los moldes y la pérdida de peso experimentada por los panes almacenados a 4°C hasta el día de medida del envejecimiento.

**Pérdida de humedad:** después de realizar todas las mediciones, los panes se cortaron en pequeños cuadrados y se depositaron en un molde de aluminio a temperatura ambiente durante 24h. Se anotó el peso antes y después de este primer secado. De

esta forma y según el método estándar 44 -19 de la AACC 2000, la pérdida de peso debido a la humedad ambiental se calcula mediante:

Peso Final = Molde con muestra húmeda – Molde con muestra seca

$$\% \text{ Humedad ambiental} = \frac{100 (\text{Molde de muest. húmeda} - \text{Molde muestra seca})}{\text{Molde muestra húmeda} - \text{Molde vacío}}$$

Los trozos de pan secos se molieron. Se ésta molienda se pesaron 2 g de muestra en cápsulas y se introdujeron en una estufa de desecación (WTB Binder) donde se mantuvieron 24 h más. Se volvieron a anotar los pesos inicial y final de la cápsula. De esta manera se obtuvo:

$$\text{Pérdida de peso} = \frac{(\text{Peso cápsula vacía} - \text{Peso muestra})}{\text{Peso cápsula muestra seca}}$$

$$\% \text{ Humedad estufa} = \frac{100((\text{Peso caps. vacía} + \text{Peso muestra}) - \text{Peso caps. muestra seca})}{\text{Peso muest.}} \times 100$$

$$\% \text{ Humedad final} = (100 - \% \text{ H ambiental}) \frac{(\% \text{ H estufa})}{100} + \% \text{ H ambiental}$$

**Color:** el color de un producto resulta fundamental entre los factores que definen la calidad, hasta el punto de poder ser rechazado o aceptado si la impresión visual coincide o no con el estándar aceptado como bueno. Para medir el color de los panes, se utilizó un colorímetro Minolta CN 508i (Tokio, Japón). Se midió por un lado la corteza de los panes, haciendo cuatro mediciones, una en cada cuadrante del pan. Y posteriormente se midieron las rebanadas haciendo una medición por cada lado de la rebanada. El colorímetro en cada medición realiza 5 disparos y muestra el resultado promedio. Se empleó un iluminador estándar D65, un observador estándar 2°, y los resultados se expresaron en el espacio de color L\*a\*b\* o espacio CIELAB.

A partir de estos valores se obtuvieron, la luminosidad (L\*), tono (h) y la saturación o croma (C\*), calculados del siguiente modo:

- Croma o saturación (C\*): indica la viveza del color.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

- Tono (h): informa del atributo según el cual se dice del color del que se trata.

$$h = \arctg \left( \frac{b^*}{a^*} \right)$$

**Textura:** la determinación de la textura de la miga se realizó con el texturómetro universal TAXT2 (Stable Microsystems, Surrey, Reino Unido) controlado con el software "Texture Expert". Para la realización del ensayo denominado "Análisis del perfil de textura" (TPA) de doble compresión se empleó una sonda cilíndrica de aluminio P/20 de 20 mm de diámetro y un área de contacto de 316,16 mm<sup>2</sup> para penetrar a un 50 % de profundidad, con una velocidad de ensayo de 1 mm/s y un tiempo de espera de 30 segundos entre la primera y segunda compresión. El análisis se llevó a cabo a 20±2°C sobre dos rebanadas de pan centrales de 20 mm de espesor y de dos panes de cada elaboración. Los parámetros texturales obtenidos fueron: dureza (fuerza requerida para comprimir un alimento entre los molares), elasticidad (tasa a la cual un material deformado regresa a su condición inicial después de retirar la fuerza deformante), masticabilidad (energía necesaria para masticar un alimento hasta que pueda deglutirse) y cohesividad (resistencia de la estructura interna del alimento).

**Envejecimiento:** Para evaluar la evolución de los panes durante el almacenamiento, se hicieron mediciones de su textura, para analizar la firmeza de la miga. Se tomaron mediciones a las 24 h de su elaboración (día 1) y a los 7 días (día 7) en el caso de los panes que no contenían proteína en su elaboración. Cuando los panes llevaban proteína, se midieron los días 1, 2, 3 y 7. A partir de los valores de dureza obtenidos en estas mediciones, se calculó la diferencia de firmeza a día 1 y a día 7.

$\Delta$  Firmeza 1 = Media de dureza día 1 – Media de dureza día 0

$\Delta$  Firmeza 7 = Media de dureza día 7 – Media de dureza día 0

### 3.5. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS.

Una vez obtenidos los datos experimentales, se utilizó el programa Statgraphics Centurion VI (Bitstream, Cambridge, MN, USA) con el que se analizaron los efectos simples, dobles y triples sobre los factores de estudio realizando el análisis de la varianza multifactorial (MANOVA). Así mismo, se ha empleado la prueba LSD de Fisher para describir las diferencias significativas existentes entre las medias de cada parámetro, en función de los factores de estudio, a un nivel de significancia de p<0,05. Por otra parte, se cuantificaron los parámetros del envejecimiento y se sacaron los gráficos mediante el ajuste al modelo de Avrami (regresiones no lineales)

$$\text{Ecuación de Avrami: } \frac{F_{\infty} - Ft}{F_{\infty} - F_0} = e^{-K t^n}$$

Siendo: *F*: firmeza de la miga, *t*: tiempo; *K*: constante

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 4.1. PROPIEDADES MORFOGEOMÉTRICAS

Se estudió el volumen específico, pérdida de peso en el horneado y los atributos de color, de panes elaborados a partir de almidón de maíz o almidón de patata, enriquecidos con diferentes fuentes de proteína (caseína o soja) a dosis de 0 o 5% presencia/ausencia de ácido. Los valores medios y grupos homogéneos de los parámetros obtenidos a partir del Anova Multifactorial, se presentan en tablas. Todos los factores estudiados así como sus interacciones dobles y la triple mostraron un efecto significativo con  $p < 0,05$ .

#### 4.1.1. VOLUMEN ESPECÍFICO

La tabla 1 representa las medidas morfogeométricas obtenidas en las mediciones de los panes sin gluten y en la figura 3 aparecen las fotos de las diferentes elaboraciones.

*Tabla 1. Tabla de medias y grupos homogéneos de pérdida de peso y volumen específico.*

Almidón	Proteína	Ácido	Pérdida de Peso en horneado (%)		Volumen específico (mL/g)
Maíz	Sin proteína	SA	39,35	e	3,72 g
		CA	33,55	d	2,85 c
	Caseína	SA	29,33	b	2,54 a
		CA	38,17	e	3,52 f
	Soja	SA	39,60	e	3,32 e
		CA	30,50	bc	2,68 b
Patata	Sin proteína	SA	29,05	b	3,32 e
		CA	25,82	a	3,14 d
	Caseína	SA	28,80	b	2,73 b
		CA	31,87	cd	3,36 e
	Soja	SA	33,58	d	3,30 e
		CA	30,07	b	3,08 d

*Valores con letras distintas dentro de una misma columna indica que son significativamente diferentes a un nivel de 0,05. SA: sin ácido; CA: con ácido*

Se comprobó que los panes elaborados a base de almidón de maíz cuando no llevaban proteína presentaron mayor volumen que los panes a base de almidón de patata. En ambos casos, cuando se añadió proteína se observó una disminución del volumen que dependió del tipo de proteína utilizada, con excepción de los panes de almidón de patata con soja.

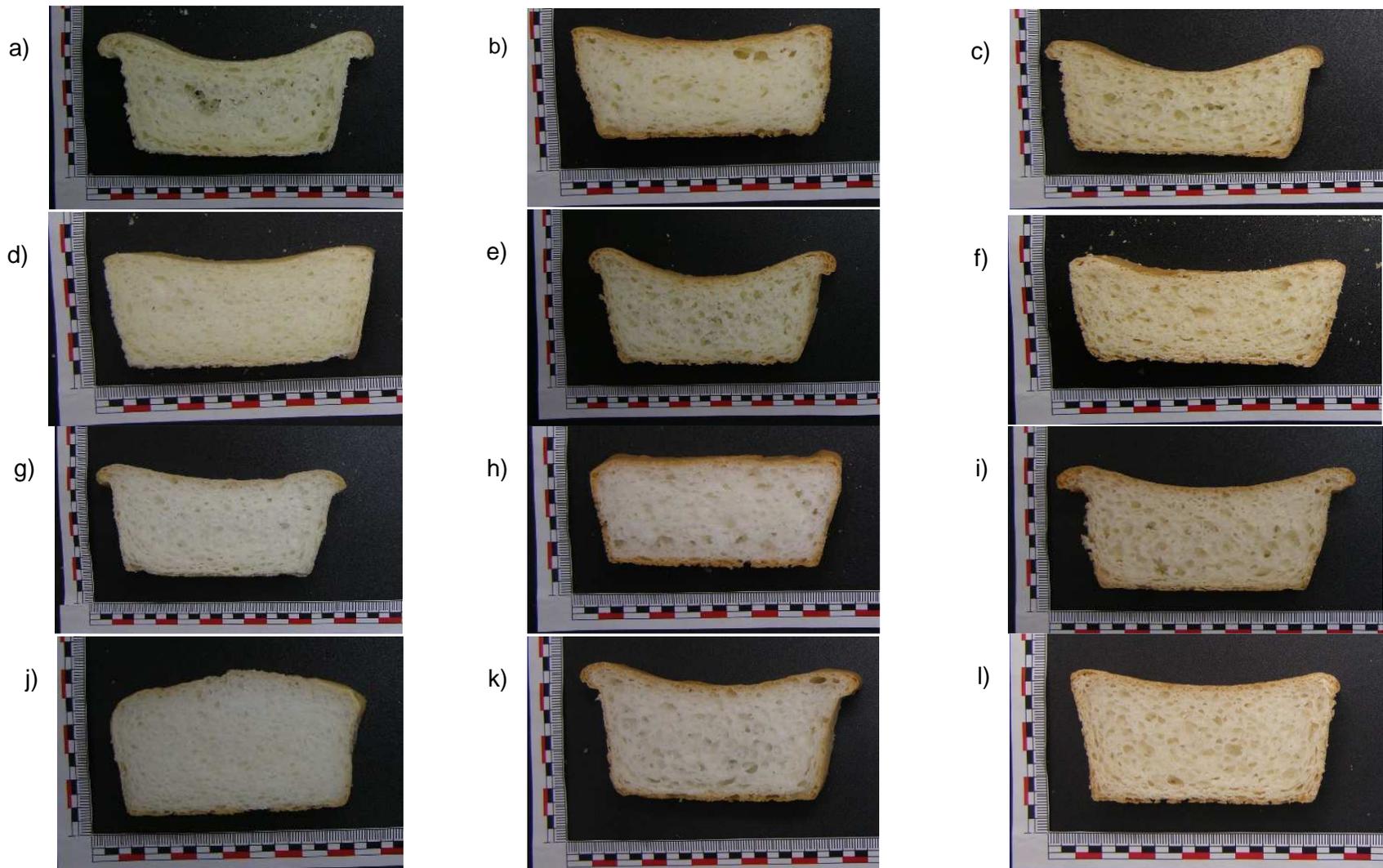
En la elaboración de panes sin gluten, tradicionalmente se opta por la adición de proteínas de origen vegetal (aislado de soja) y animal (caseinato cálcico). En el caso del caseinato cálcico, son proteínas altamente funcionales que además aportan un

beneficio nutricional derivado del calcio, y aporta aminoácidos esenciales como lisina, metionina y triptófano (Stathopoulos et al., 2008). En cuanto a los beneficios tecnológicos, los caseinatos cálcicos tienen buenas propiedades emulsionantes y estabilizantes, gran capacidad de retención de agua capacidad y formar geles (Krupa-Kozac et al., 2013).

La adición de caseína produjo una reducción significativa del volumen, -32 % en maíz y -18% en patata, estos resultados coinciden con los obtenidos por Nunes, M et al., (2014) que confirmó que el caseinato cálcico disminuía el volumen de los panes sin gluten. La explicación de este hecho radica en que las proteínas lácteas tienen gran capacidad de absorber agua, durante el horneado, lo que conduce a una miga mucho más firme, que no es capaz de retener el gas producido, que tiene como consecuencia menor volumen del pan (Gallagher et al., 2003).

En cambio, panes de almidón de maíz con aislado de soja redujeron su volumen en un -11 % y con almidón de patata, la adición de soja no mostró efecto significativo sobre este parámetro. Ziobro et al. (2013), estudió el efecto de diferentes proteínas sobre pan sin gluten y obtuvo que la proteína de soja, aunque puede mejorar las propiedades de retención de gas y de agua, era la proteína que menos afectaba al volumen (Ziobro et al., 2013; Crockett et al., 2011; Crockett et al., 2011 ). Sin embargo la soja es interesante porque puede proporcionar elasticidad a los panes.

La acidificación de las masas, siempre disminuyó el volumen específico de los panes a excepción de las masas con caseína donde aumentó significativamente independientemente del almidón utilizado.



*Figura 3. Fotos de rebanadas de panes donde se observa la diferencia de volumen.*

*a) Pan con almidón de maíz, sin proteína, sin ácido; b) Pan con almidón de maíz, caseína, sin ácido; c) Pan con almidón de maíz, soja, sin ácido; d) Pan con almidón de maíz, sin proteína, con ácido; e) Pan con almidón de maíz, caseína, con ácido; f) Pan con almidón de maíz, soja, con ácido; g) Pan con almidón de patata, sin proteína, sin ácido; h) Pan con almidón de patata, caseína, sin ácido; i) Pan con almidón de patata, soja, sin ácido; j) Pan con almidón de patata, sin proteína, con ácido; k) Pan con almidón de patata, caseína, con ácido; l) Pan con almidón de patata, soja, con ácido.*

#### **4.1.2. PERDIDA DE PESO**

La pérdida de peso nos permite medir la capacidad de retención de agua después de la fermentación, horneado y enfriamiento. Tal y como se muestra en la Tabla 1, las mayores pérdidas de peso se dieron en los panes de maíz. Al comparar los panes sin proteína y sin ácido se pudo ver que la elaboración con almidón de maíz sufrió una pérdida de peso de 39,35%, mientras que las elaboraciones con almidón de patata tuvieron una pérdida de 29,05% respecto al peso inicial. Por otra parte se observó que los panes con caseína sufrieron una pérdida de 29,33% en maíz y 28,80% en patata, resultando ser las elaboraciones con menores pérdidas, no existiendo diferencias significativas entre ellas. La adición de soja a los panes de maíz no mostró efectos significativos en referencia al control, en cambio en los panes con almidón de patata se produjo un incremento de la pérdida de peso al añadir soja. La acidificación únicamente aumentó la pérdida de peso de forma significativa en los panes con maíz y caseína.

Este efecto puede deberse a que la acidificación química provoca un descenso en la consistencia de las masas, dependiendo en gran medida del pH resultante después de la adición del ácido y de la naturaleza de las proteínas utilizadas (Blanco et al., 2011).

#### **4.1.3. COLOR.**

El color junto con la textura y sabor constituyen de las características más importantes para el consumidor a la hora de evaluar su calidad y decantarse por su compra. Por ello resulta un valor muy importante y que debemos tener en cuenta.

Se realizó la medición del color de los panes tanto de la corteza como de la miga, en el sistema CIELAB, con la coordenadas de color  $L^*a^*b^*$  y a partir de estas, como se indica en el apartado de materiales y métodos, se obtuvieron el tono y saturación. La media de las medidas obtenidas aparecen en las tablas 2 y 3.

Los valores de luminosidad de la corteza de los panes oscilaron entre 60,84 y 74,68 (tabla 2). Se apreció que eran más oscuros los panes elaborados con almidón de patata y los que tenían proteína en su elaboración. El oscurecimiento de los panes con presencia de proteínas se debe a un incremento de las reacciones de Maillard, pardeamiento no enzimático, que se ve favorecido por la presencia de grupos amino proveniente de las proteínas añadidas (Villanueva et al., 2015).

Por tanto la luminosidad depende de los ingredientes que tenga el pan, además de las proteínas también influye la distribución del agua, presencia de azúcares reductores que son los responsables del proceso de caramelización durante el horneado (Gallagher et

al., 2003), y la presencia de ácido, que se observó que producía un aumento de la luminosidad y tono, contrarrestando el efecto de la proteína, excepto cuando había presencia de caseína.

Tabla 2. Medias y grupos homogéneos de la medición del color de la corteza.

Almidón	Proteína	Ácido	L* corteza	h corteza	C* corteza
<b>Maíz</b>	Sin proteína	SA	66,42 de	85,50 g	17,85 a
		CA	74,68 g	84,73 g	22,33 bc
	Caseína	SA	64,73 bcde	73,97 d	26,83 g
		CA	65,04 cde	74,45 d	24,37 def
	Soja	SA	62,35 abc	70,17 b	22,02 b
		CA	67,95 ef	73,68 d	26,04 fg
<b>Patata</b>	Sin proteína	SA	70,26 f	77,75 e	17,29 a
		CA	63,86 abcd	79,44 f	26,64 g
	Caseína	SA	64,57 bcde	67,91 a	25,63 efg
		CA	61,34 abc	72,07 c	23,77 cd
	Soja	SA	60,84 a	69,62 b	24,29 de
		CA	61,28 ab	66,80 a	22,98 bcd

Valores con letras distintas dentro de una misma columna indica que son significativamente diferentes a un nivel de 0,05. L\*: luminosidad, h: tono, C\*: croma o saturación

En cuanto a la miga (tabla 3), las más blancas fueron tanto en los panes de almidón de patata como de maíz, las elaboradas sin proteína y con ácido y las elaboradas con caseína sin ácido, no habiendo diferencias significativas entre ellas.

Tabla 3. Medias y grupos homogéneos de la medición del color de la miga.

Almidón	Proteína	Ácido	L* miga	h miga	C* miga
<b>Maíz</b>	Sin proteína	SA	58,95 a	75,90 a	5,68 b
		CA	71,44 c	80,65 bc	10,16 d
	Caseína	SA	72,69 c	83,05 cd	12,33 e
		CA	66,67 b	86,46 e	9,47 cd
	Soja	SA	65,00 b	87,40 ef	13,59 e
		CA	72,83 c	89,27 f	13,46 e
<b>Patata</b>	Sin proteína	SA	67,90 b	86,57 e	2,75 a
		CA	74,79 c	79,03 b	5,21 b
	Caseína	SA	73,45 c	83,52 d	6,01 b
		CA	66,53 b	83,58 d	5,71 b
	Soja	SA	61,47 a	89,14 f	8,24 c
		CA	65,11 b	85,25 de	8,36 c

Valores con letras distintas dentro de una misma columna indica que son significativamente diferentes a un nivel de 0,05. L\*: luminosidad, h: tono, C\*: croma o saturación

Las coordenadas cromáticas de la corteza de todos los panes analizados (a\*, b\*) son positivas, lo que quiere decir que están localizadas dentro del cuadrante de rojo – amarillo. Como el rojo corresponde con 0° y el amarillo a 90°, podemos decir que en todos los panes predomina la tonalidad amarilla, y anaranjada en el caso de los panes de almidón de maíz, que son los que presentan las tonalidades más altas tanto en la corteza como en la miga.

#### 4.2. PROPIEDADES TEXTURALES.

La textura es otra de las propiedades de gran importancia a la hora de evaluar la calidad de los panes, siendo importante obtener una miga blanda y flexible ya que son las que mejor aceptabilidad tienen por los consumidores (Crockett et al., 2011).

Los valores obtenidos al realizar la medición de textura en los panes, se recogen en las tablas 4 y 5.

*Tabla 4. Medias y grupos homogéneos de la medición de textura.*

Almidón	Proteína	Ácido	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesividad
Maíz	Sin proteína	SA	4,992 a	0,815 abc	0,258 ab
		CA	8,787 ab	0,889 abc	0,303 abc
	Caseína	SA	16,832 d	0,823 abc	0,280 ab
		CA	4,974 a	0,804 abc	0,231 a
	Soja	SA	5,697 a	0,822 abc	0,251 ab
		CA	19,386 d	0,791 ab	0,232 a
Patata	Sin proteína	SA	8,645 ab	0,894 bc	0,283 abc
		CA	11,637 bc	0,897 c	0,380 c
	Caseína	SA	16,156 cd	0,858 abc	0,327 bc
		CA	5,506 a	0,789 a	0,243 ab
	Soja	SA	5,738 a	0,809 abc	0,228 a
		CA	8,374 ab	0,839 abc	0,250 ab

*Valores con letras distintas dentro de una misma columna indica que son significativamente diferentes a un nivel de 0,05. SA: sin ácido; CA: con ácido*

Los panes que mayor dureza presentaron fueron los elaborados con caseína y sin ácido, mientras que con soja en las elaboraciones que no tenían ácido, no aparecieron diferencias significativas.

Al comparar las elaboraciones que contenían ácido, se observó que la dureza de los panes al añadir caseína, tanto en los de maíz como de patata, no aparecieron diferencias significativas. En cambio, al añadir soja a la masa con presencia de ácido,

en el caso de la patata tampoco cambió la dureza de los panes pero sí incrementó significativamente en los de maíz.

La adición de ácido y su interacción con la proteína, producen un endurecimiento de la miga en los panes. El efecto de ácido se relaciona con una disminución en el grado de retrogradación de la amilosa, mientras que la amilopectina es la causante del endurecimiento de los panes en el envejecimiento, la amilosa es la responsable de la firmeza final de los panes tras el horneado y enfriamiento (Villanueva et al., 2015).

Por otra parte, los panes con una miga más dura también fueron los que menor volumen específico presentaron. En el apartado de volumen, pudimos comprobar que en el caso de maíz sin proteína y sin ácido, su volumen específico era de 3,72 ml/g, mientras que cuando añadíamos caseína pasaba a ser 2,54 ml/g. En el caso de la patata pasábamos de tener un volumen de 3,32 ml/g en el control a 2,73 ml/g, siendo ambos casos diferencias estadísticamente significativas. La relación entre dureza y volumen específico es inversamente proporcional, esto se debe a la acción del hidrocoloide y la cantidad de agua. Ante una baja disponibilidad de agua, la masa durante la fermentación y horneado, tendrá más dificultades para expandirse y retener el gas producido, dando lugar a una miga más consistente y firme (Sciarini et al., 2012).

*Tabla 5. Medias y grupos homogéneos de la medición de textura.*

<b>Almidón</b>	<b>Proteína</b>	<b>Ácido</b>	<b>Gomosidad</b>		<b>Masticabilidad</b>		<b>Resiliencia</b>	
<b>Maíz</b>	Sin proteína	SA	1,065	a	0,882	a	0,088	a
		CA	2,214	b	1,933	b	0,099	a
	Caseína	SA	3,619	c	2,951	c	0,114	a
		CA	0,926	a	0,735	a	0,071	a
	Soja	SA	1,045	a	0,840	a	0,084	a
		CA	4,022	c, d	3,174	c, d	0,081	a
<b>Patata</b>	Sin proteína	SA	2,144	b	1,886	b	0,102	a
		CA	3,508	c	3,115	c, d	0,212	b
	Caseína	SA	4,357	d	3,718	d	0,172	b
		CA	1,072	a	0,856	a	0,091	a
	Soja	SA	1,058	a	0,854	a	0,076	a
		CA	1,878	b	1,556	b	0,090	a

*Valores con letras distintas dentro de una misma columna indica que son significativamente diferentes a un nivel de 0,05. SA: sin ácido; CA: con ácido*

Respecto de la masticabilidad de los panes, es la energía necesaria para masticar un alimento hasta que esté listo para deglutirlo. Es el resultado del producto Dureza x

Cohesividad x Elasticidad. Por lo que presenta una evolución muy similar a la dureza, los panes más duros son los que mayor masticabilidad presentan.

Para el resto de los parámetros, los valores obtenidos no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los panes.

### 4.3. ESTUDIO DEL ENVEJECIMIENTO.

Los resultados obtenidos aparecen en la tabla 6.

*Tabla 6. Variación de la dureza de los panes a día 1 y 7.*

Almidón	Proteína	Ácido	$\Delta$ Firmeza1	$\Delta$ Firmeza7
<b>Maíz</b>	Sin proteína	SA	6,44	4,50
		CA	8,92	13,10
	Caseína	SA	9,36	15,73
		CA	3,39	6,32
	Soja	SA	3,77	6,83
		CA	12,42	16,62
<b>Patata</b>	Sin proteína	SA	10,53	9,15
		CA	10,12	14,54
	Caseína	SA	7,75	14,12
		CA	2,40	6,05
	Soja	SA	3,66	4,01
		CA	4,57	7,14

SA: sin ácido; CA: con ácido

Se observa que la firmeza de los panes siempre es mayor a los 7 días de su elaboración, como los panes de trigo, ya que se produce una recristalización de la amilopeptina (Sciarini et al., 2012; Ronda et al., 2014)

Para estudiar el envejecimiento del pan y por tanto la cinética de recristalización de la amilopeptina, se realizó un estudio estadístico empleando el modelo matemático 'Ecuación de Avrami', el cual describe como los materiales pasan de una fase a otra a temperatura constante, por tanto con esta ecuación se consiguen describir la cinética de los procesos de cristalización.

Las gráficas del envejecimiento de los panes, ajustadas con el modelo de Avrami se muestran en la figura 4.

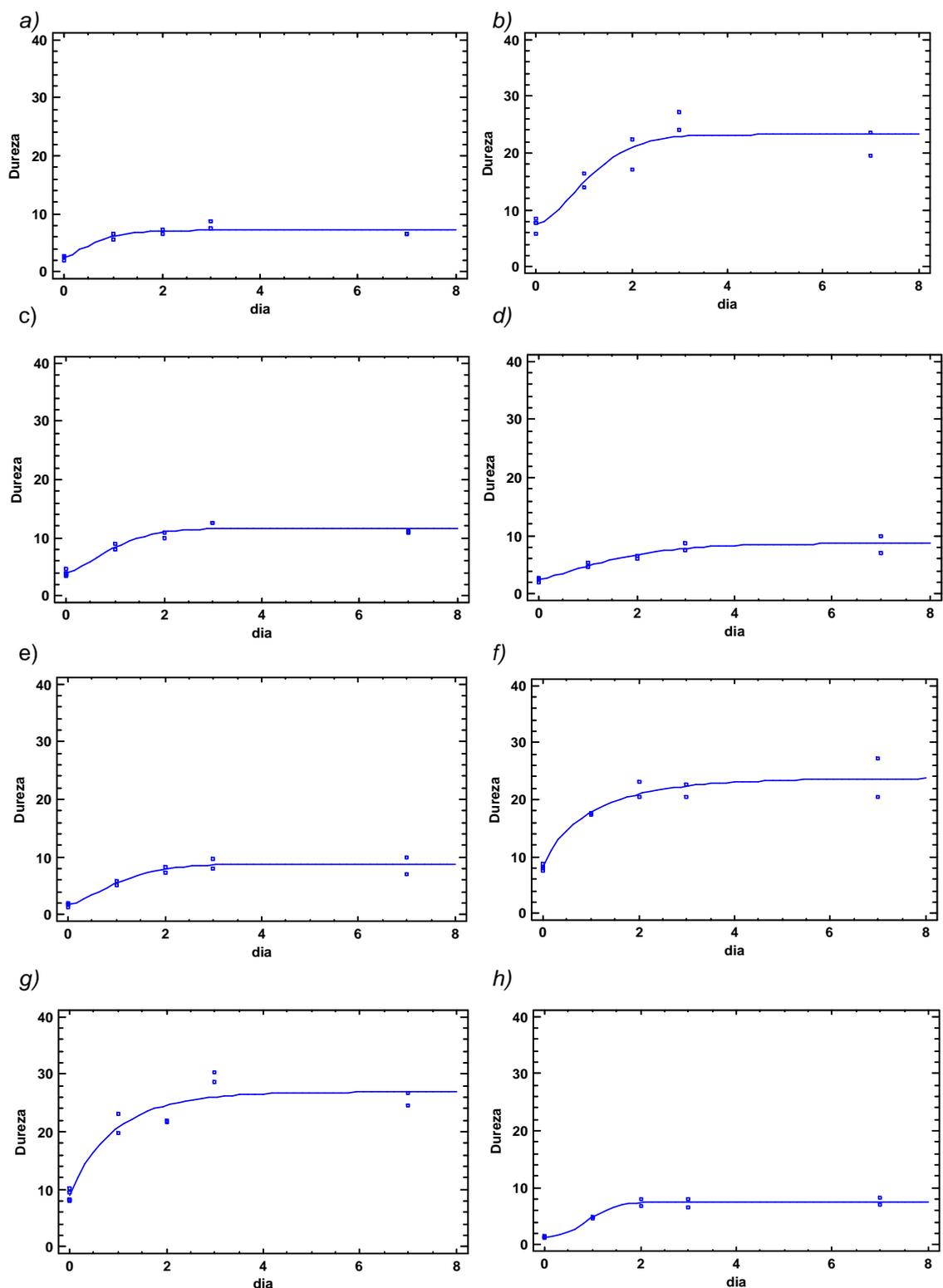


Figura 4. Gráficos del envejecimiento del pan sin gluten, ajustados al modelo de Avrami. a) Elaboración de almidón de patata, soja sin ácido; b) Elaboración de almidón de patata, caseína sin ácido; c) Elaboración de almidón de patata, soja con ácido; d) Elaboración de almidón de patata, caseína con ácido; e) Elaboración de almidón de maíz, soja sin ácido; f) Elaboración de almidón de maíz, caseína sin ácido; g) Elaboración de almidón de maíz, soja con ácido; h) Elaboración de almidón de maíz, caseína con ácido

Durante los dos primeros días de almacenamiento el endurecimiento es muy rápido, debido a la retrogradación del almidón y cristalización de la amilopectina. A partir del tercer día el envejecimiento es constante.

Se comprueba que cuando la masa llevaba caseína sin ácido, la dureza inicial es mayor que en el resto de las elaboraciones, con excepción de maíz, soja con ácido; como se vio en el análisis de textura. Por tanto en el envejecimiento estos panes resultan tener una baja humedad y miga mucho más firme y consistente.

#### 4.4. REOFERMENTOMETRO.

En la tabla 7 y figura 5 y 6, se observan los datos del desarrollo de las masas durante la fermentación.

Tabla 7. Desarrollo de la masa

Almidón	Proteína	Ácido	pH <sub>0</sub>	Δ pH	Hm (mm)	h (mm)	Hm-h / Hm (%)	T <sub>1</sub> (min)	T <sub>2</sub> (min)
<b>Maíz</b>	Sin proteína	SA	4,24	0,13	91,1	90,5	0,7	141	> 180
		CA	3,34	0,01	92,9	92,9	0,0	180	> 180
	Caseína	SA	5,33	0,20	30,0	20,2	32,7	91,5	140,5
		CA	4,39	0,05	83,0	80,5	3,0	138	> 180
	Soja	SA	5,20	0,16	55,7	39,7	28,7	127,5	144
		CA	4,28	0,01	82,3	75,0	8,9	136,5	> 180
<b>Patata</b>	Sin proteína	SA	4,52	0,22	79,1	72,8	8,0	133,5	> 180
		CA	3,19	0,09	81,6	81,6	0,0	180	> 180
	Caseína	SA	5,36	0,16	22,7	13,4	41,0	114	150
		CA	4,42	0,05	68,5	8,6	87,4	109,5	123
	Soja	SA	5,31	0,15	58,4	10,8	81,5	103,5	103,5
		CA	4,21	0,01	75,6	1,8	97,6	109,5	127,5

Tiempo de desarrollo máximo de la masa (T<sub>1</sub>), volumen máximo desarrollado (Hm), tiempo de estabilización durante el cual el volumen es superior al 90% (T<sub>2</sub>), volumen de desarrollo de la masa al final de la prueba (h) y el porcentaje de la pérdida de desarrollo final de la prueba respecto del desarrollo máximo ((Hm - h) / Hm), sin ácido (SA); con ácido (CA)

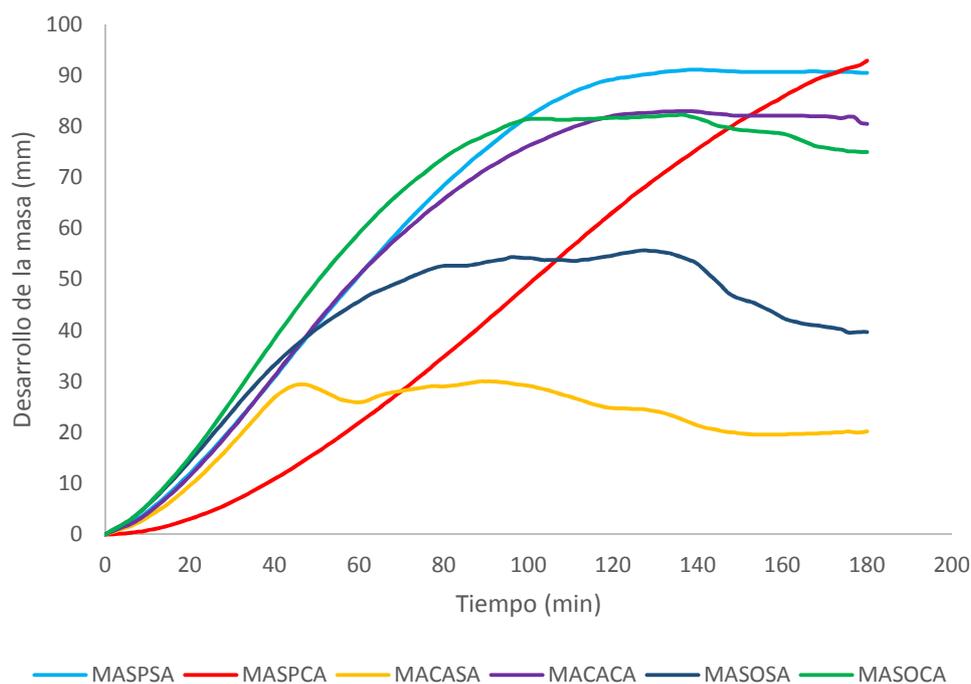


Figura 5. Desarrollo de la masa de almidón de maíz.

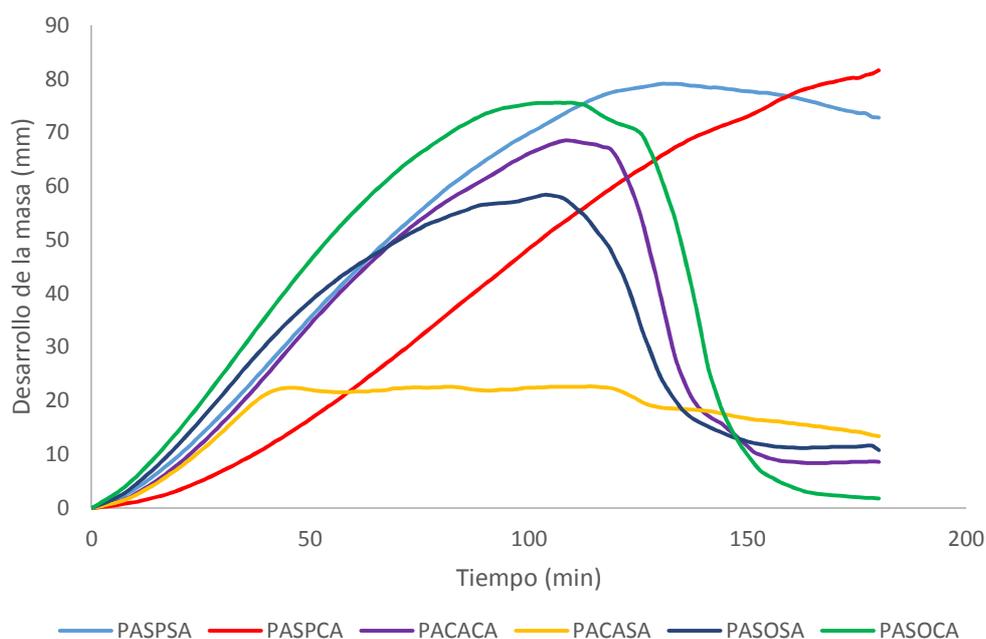


Figura 6. Desarrollo de la masa de almidón de patata.

Se observó que las elaboraciones con almidón de maíz y patata, sin proteína y sin ácido, (MASPSA y PASPSA) consiguen una alta evolución, con una tendencia ascendente hasta que llega un punto (próximo a los 140 min) en el que se estabilizan y la masa permanece constante hasta el final del proceso. En cambio las elaboraciones sin proteína pero con ácido (MASPCA y PASPCA) tienen una evolución ascendente durante todo el proceso, consiguiendo volumen máximo al final de la fermentación.

Por otra parte las masas que más evolucionaron a los 45 min (tiempo de fermentación en la panificación) fueron las que tenían como proteína aislado de soja con ácido, dato que concuerda con los descritos anteriormente.

Cuando se analizaron las masas con caseína y sin añadir ácido (PACASA, MACASA), se vio que tanto en las masas con almidón de maíz como de patata, se conseguía el volumen máximo muy temprano, teniendo una producción de gas baja (figura 7, 8) siendo masas menos desarrolladas en comparación con el resto de elaboraciones. Este desarrollo de masa alcanzado se mantuvo prácticamente constante en el tiempo. Esto concuerda con los resultados anteriormente comentados, donde se vio que las masas con caseína y sin ácido son las de menor volumen específico y también las que tenían una miga más dura.

En cuanto a las mismas elaboraciones con caseína pero añadiendo ácido, se encontraron resultados muy diferentes, ya que se obtuvieron los mayores volúmenes (1243 ml en maíz y 1241 ml en patata, ver tabla 8) debido a la gran capacidad de retención del CO<sub>2</sub> producido por la masa. Pero la evolución de este este volumen conseguido a partir de los 120 min, fue muy diferente dependiendo del tipo de almidón empleado. En masas de almidón de maíz el desarrollo máximo conseguido permaneció constante a lo largo del tiempo, mientras que con almidón de patata la masa no fue capaz de retener el gas y su volumen disminuyó drásticamente.

En la tabla 8, figura 7 y 8, se observan los datos de la producción-retención de gas, producido durante la etapa de fermentación.

*Tabla 8. Producción de gas.*

<b>Almidón</b>	<b>Proteína</b>	<b>Ácido</b>	<b>H'm (mm)</b>	<b>T'<sub>1</sub> (min)</b>	<b>T<sub>x</sub> (min)</b>	<b>Vt (ml)</b>	<b>Vr (ml)</b>	<b>Rc (%)</b>
<b>Maíz</b>	Sin proteína	SA	75,8	48	> 180	1228	1202	97,8
		CA	56,8	117	> 180	1183	1162	98,3
	Caseína	SA	70,5	45	48	1099	1019	92,8
		CA	84,9	58	63	1243	1198	96,4
	Soja	SA	75,4	39	51	1119	1063	94,9
		CA	96,2	49	57	1230	1195	97,1
<b>Patata</b>	Sin proteína	SA	69,2	75	> 180	1202	1159	96,5
		CA	55,0	117	109,5	1152	1116	96,8
	Caseína	SA	63,0	55,5	49,5	1106	1011	91,4
		CA	81,0	70,5	60	1241	1172	94,4
	Soja	SA	79,0	49,5	52,5	1160	1107	95,4
		CA	96,8	57	51	1254	1205	96,1

*Altura máxima de la curva de desprendimiento gaseoso (H'm), tiempo necesario para obtener H'm (T'<sub>1</sub>), tiempo de aparición de porosidad en la masa (T<sub>x</sub>), volumen total de desprendimiento gaseoso durante la fermentación (Vt), volumen de gas carbónico que ha quedado retenido en la masa al final de la prueba (Vr), relación entre volumen del gas retenido por la masa y el volumen total producido durante el ensayo (Rc), sin ácido (SA); con ácido (CA)*

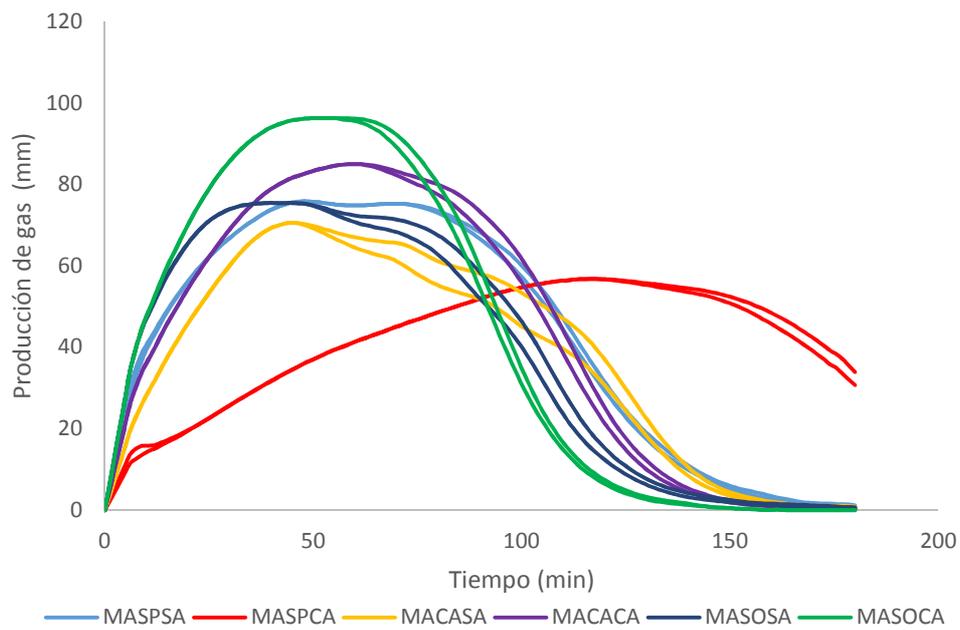


Figura 7. Curva de producción/ retención gas por la masa de almidón de maíz.

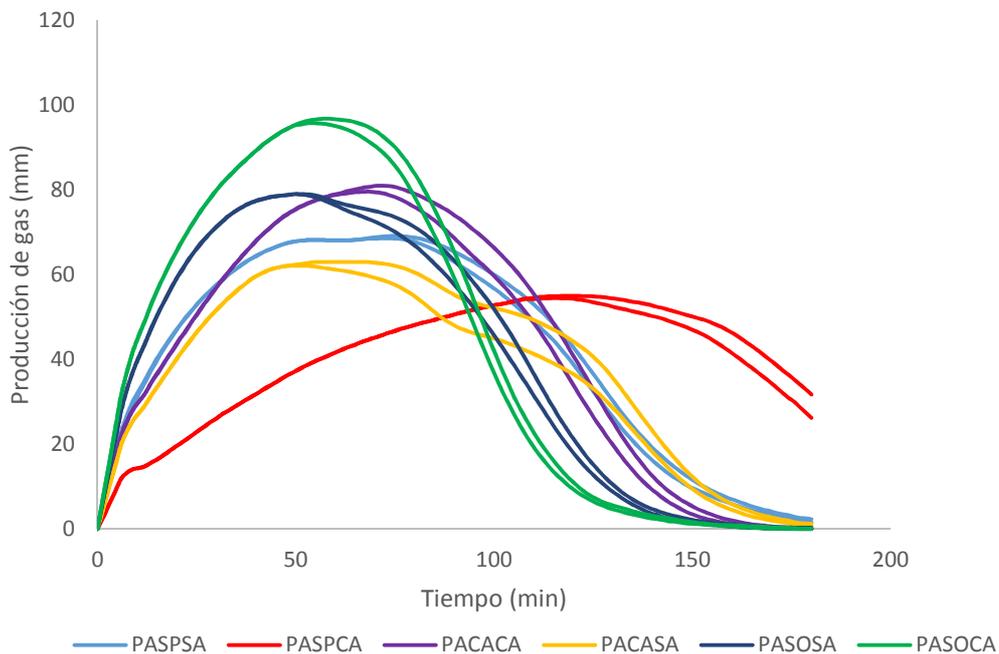


Figura 8. Curva de producción/ retención de gas por la masa de almidón de patata.

Se comprobó que el almidón de maíz sin proteína y sin ácido, alcanzaba los mayores valores de tiempo de retención de gas ( $T_x$ ), y un coeficiente de producción de gas muy próximo a 1, lo que nos muestra que el almidón de maíz es menos poroso que el almidón de patata. A pesar que la porosidad de ambos es muy baja, los valores de este

parámetro están entre 0,5 y 1 correspondiendo 0,5 a los almidones de mayor porosidad. Este parámetro se ve afectado, con la adicción de ácido y proteína, que favorecen la formación de poros y facilitan el escape del CO<sub>2</sub> producido. Favoreciendo su estructura y evitando la generación de grandes agujeros dentro de la masa, consecuencia de la retención de gas.

Por otra parte, en cuanto a la retención de gas se diferenciaron las masas que no contenían proteína pero sí ácido en sus elaboraciones (MASPCA, PASPCA). Ya que presentaron una producción menor y más retardada de gas, que se prolongó hasta los 150 min de fermentación. El ácido ayudó a su retención, consiguiendo una relación volumen de gas producido y retenido de 98,3% en el caso del maíz y de 96,8%.

De igual forma se pudo ver que la proteína también ayuda a que la masa tenga una mayor porosidad, en el caso de maíz al añadir caseína T<sub>x</sub> pasó de ser más de 180 min a 48 min, y cuando se añadió soja pasó a 51 min. Se ha comprobado que la soja mejora la retención de gas y de agua (Arendt et al., 2008). Es decir los tiempos se redujeron un 73,3% y 71,1%, y en el caso de la patata se obtuvo un resultado similar con reducciones del tiempo de aparición de poros entre un 72,5% y 70,8%. Por lo tanto el ácido como la proteína favoreció la estructura y consistencia de las masas.

## **5. CONCLUSIONES.**

En el enriquecimiento de las masas de almidón de maíz y patata, para la elaboración de pan sin gluten, con distintos tipos de proteínas y ácido. Se observó que las interacciones ácido y proteína, variaban dependiendo del tipo de proteína empleada.

Entre las combinaciones estudiadas, se vio que la presencia de ácido favorece las propiedades mofogeométricas, disminuye la consistencia de la masa y se obtiene una miga más blanca. En cuanto la proteína, el aislado de soja, es la que menos influye sobre las características de la masa y menos interacciona con el ácido.

Así los panes que tenían caseína, fueron los que mayores diferencias presentaron respecto del resto. La proteína láctea incrementa el valor nutricional. Y tecnológicamente las masas tuvieron un desarrollo alto en presencia de ácido y bajo sin este, durante la fermentación. Pan elaborado con caseína sin ácido, resultó ser un pan de menor volumen, sufre mayor pérdida de peso en el horneado, tiene miga consistente y mayor envejecimiento, que el resto de los panes estudiados.

## **6. AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo fin de master ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2012-35088).

## **7. BIBLIOGRAFÍA.**

- Aguado, J.; Calles, J.A.; Cañizares, P.; López, B.; Rodríguez, F.; Santos, A.; Serrano, D. (1999). *Ingeniería de la Industria Alimentaria. Volumen 1: Conceptos Básicos*, Ed. Síntesis, Madrid.
- Arendt, E.K; Morrissey, A.; Moore, M.M; Dal Bello, F. (2008). Gluten free breads. *Food Science & technology* 7, 289- 319. *Eur Food Res Technol* 226,1309– 1316.
- Blanco, C; Ronda, F; Perez, B; Pando, V (2011). Improving gluten free bread quality by enrichment with acidic food additives. *Food Chemistry* 127, 1204– 1209.
- Crockett, R; le, P.; Vodovotz, Y. 2011. Effects of soy protein isolate and egg white solids on the physicochemical properties of gluten-free bread. *Food Chemistry* 129, 84– 91.
- Czuchajowska, Z., and Pomeranz, Y. (1993). Gas-formation and gas retention 1. The system and methodology. *Cereal Foods World*, 38, 499- 503.
- Demirkesen, I; Mert, B; Sumnu, G; Serpil, S. (2010). Rheological properties of gluten-free bread formulations. *Journal of Food Engineering* 96, 295-303
- Gallagher, E; Gormley, TR; Arendt, E.K. (2003). Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *Journal of Food Engineering* 56, 153–161.
- Gallagher, E; Gromley, T.R.; Arendt, E.K (2004). Recent advances in the formulation of gluten-free cereal- based products. *Food Science & technology* 15, 143- 152.
- Gallagher, E; Kunkel, A; Gormley, TR; Arendt, E.K. (2003). 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 Technol* 218, 44 – 48.
- Gujral, HS; Rosell, CM (2004). Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Res Int* 37, 75 – 81

- Krupa-Kozak, U; Bączek, N; M. Rosell, M. (2013). Application of Dairy Proteins as Technological and Nutritional Improvers of Calcium-Supplemented Gluten-Free Bread. *Nutrients* 5, 4503- 4520.
- Marco, C; Rosell, CM (2008). Effect of different protein isolates and transglutaminase on rice flour properties. *J Food Eng* 84, 132– 139.
- Mariotti, M.; Lucisano, M.; Pagani, M. A. (2008). Macromolecular interactions and rheological properties of buckwheat-based dough obtained from differently processed grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 4258 -4267.
- Mariotti, M.; Lucisano, M.; Pagani, M. A; Perry, K.W. (2009). The role of corn starch, amaranth flour, pea isolate, and Psyllium flour on the rheological properties and the ultrastructure of gluten-free doughs. *Food Research International* 42, 963 – 975.
- Moore, M.M; Dal Bello, F; Arendt, E.K. (2008). Sourdough fermented by *Lactobacillus plantarum* FST 1.7 improves the quality and shelf life of gluten-free bread.
- Moore, M.M; Schober, T.J.; Dockery, P.; Arendt, E.K. (2004). Textural Comparisons of Gluten-Free and Wheat-Based Doughs, Batters and Breads. *Cereal Chem.* 81(5), 567– 575.
- Nunes, M.; Ryan, L.; Arendt, E.K. (2009) Effect of low lactose dairy powder addition on the properties of gluten-free batters and bread quality. *Eur. Food Res. Technol.* 229, 31–41.
- Ohishi, K; Kasai, M; Atsuko, S; Keiko, H. (2007). Effects of acetic acid on the rice gelatinization and pasting properties of rice starch during cooking. *Food Research International* 40, 224–231.
- Ronda, F.; Quilez, J.; Pando, V.; Roos, Y.H. (2014). Fermentation time and fiber effects on recrystallization of starch components and staling of bread from frozen part-baked bread. *Journal of Food Engineering* 131, 116–123
- Ronda, F; Villanueva, M; Collar, C. (2014). Influence of acidification on dough viscoelasticity of gluten-free rice starch-based dough matrices enriched with exogenous protein. *Food Science and Technology* 59, 12- 20.

Sciarini, L.S; Ribotta, P.D; León, A. D; Pérez, G.T. (2012). Incorporation of several additives into gluten free breads: Effect on dough properties and bread quality. *Journal of Food Engineering* 111, 590-597.

Stathopoulos, C; Arendt, E.K.; Dal Bello, F. (2008) Dairy-Based Ingredients. In *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. Eds. Academic Press: San Diego, CA, USA. 217–236.

Tripette & renaud group. Manual de empleo del Reofermentómetro de Chopin. Chopin, Francia.

Villanueva, M.; Mauro, R.; Collar, C.; Ronda, F. (2015). Acidification of protein-enriched rice starch doughs: effects on breadmaking. *Eur Food Res Technol* 240, 783-794.

Ziobro, R; Witczak, T; Juszczak, L; Korus, J. (2013). Supplementation of gluten-free bread with non-gluten proteins. Effect on dough rheological properties and bread characteristic. *Food Hydrocolloids* 32, 213- 220.