



**EFFECTO DE LA ACIDIFICACIÓN DE MASAS
DE PAN SIN GLUTEN ENRIQUECIDAS CON
PROTEÍNAS DE DIFERENTES ORÍGENES
SOBRE SUS PROPIEDADES
VISCOELÁSTICAS Y DE EMPASTADO**

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso 2012/13

**Alumna: Marina Villanueva Barrero
Tutora: Felicidad Ronda Balbás**

Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos
E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera
Universidad de Valladolid

RESUMEN

El efecto de la incorporación de acidificante (ácido acético y láctico en 0,1 y 0,4 % respectivamente, p/p en base almidón) en masas libres de gluten a base de almidón de arroz, enriquecidas con diferentes proteínas (albúmina de huevo en polvo, caseinato de calcio, proteína de guisante y aislado de soja) en diferentes dosis (0, 5 y 10 % en base almidón) ha sido investigado. Ensayos oscilatorios (barrido de esfuerzos y barrido de frecuencias) y ensayos *creep-recovery* fueron empleados para el estudio del comportamiento viscoelástico de las masas. Las variables obtenidas en ambos ensayos fueron analizadas en función del tipo, dosis de proteína y presencia/ausencia de ácido, y correlacionadas entre ellas. Masas más consistentes correspondieron con mayores módulos dinámicos y dependencias de la frecuencia más pobres, menor deformación a esfuerzo constante y mayor viscosidad en estado de equilibrio. Además, masas que mostraron mayor componente viscoso en los ensayos oscilatorios, presentaron menores perfiles de viscosidad durante el empastado.

Palabras clave: Sin gluten, Ácido, Proteínas, Reología, Viscosidad.

ABSTRACT

The effect of the incorporation of acids (acetic and lactic acid in 0,1 and 0,4 % respectively, w/w based on starch) in gluten-free doughs based on rice starch, enriched with different proteins (egg albumin, calcium caseinate, pea protein and soy protein isolates) at different doses (0, 5 and 10 % based on starch) had been investigated. Oscillatory tests (stress sweep and frequency sweep) and creep-recovery tests were employed to study the viscoelastic behavior of the doughs. The variables obtained in both tests were analyzed according to the type, dosage of protein and presence/absence of acid, and correlated with each other. Higher consistent doughs had higher dynamic moduli, poorer frequency dependence, lower elastic deformation at a constant stress and higher viscosity at steady state. In addition, the doughs showed higher viscous component on oscillatory tests and had lower viscosity profiles during pasting.

Keywords: Gluten-Free, Acid, Proteins, Rheology, Viscosity

1. ANTECEDENTES

La enfermedad celíaca, es una intolerancia de larga duración a las proteínas del gluten, con una prevalencia del 1-2% a nivel mundial, que está en aumento. Actualmente, el tratamiento es la retirada de gluten de la dieta, pero los productos alimenticios libres de gluten presentan propiedades indeseables. Se trata concretamente de una enteropatía del intestino delgado desarrollado en individuos genéticamente susceptibles, y se caracteriza por una larga vida de la intolerancia a los péptidos derivados de las proteínas del gluten no digeridas, a partir de endospermo de trigo y proteínas similares de especies taxonómicamente relacionadas tales como el centeno y la cebada. El gluten es una mezcla de proteínas relacionadas que se dividen clásicamente en dos grupos, gliadinas (prolamina) que son solubles en las mezclas alcohol-agua y las gluteninas que son polímeros insolubles estabilizados por enlaces disulfuro (Cabrera-Chavez y Calderon de la Barca, 2010).

El arroz es uno de los cereales más adecuados para preparar productos sin gluten, debido a sus propiedades, como el sabor natural, hipoalergénico, sin color y sin sabor. Tiene también muy bajo nivel de proteínas, sodio, grasa, fibra y gran cantidad de carbohidratos. Dado que la mayor parte del arroz contienen relativamente pequeña cantidad de prolamina (2,5-3,5 %) (Gujral y Rosell, 2004), es necesario el uso de algún tipo de goma, emulsionante, enzima o producto lácteo que proporcione una mezcla viscoelástica deseada (Demirkesen et al., 2010).

Los almidones son ampliamente utilizados en los productos alimenticios debido a sus propiedades espesantes y gelificantes. También se añaden a los productos para conseguir un ahorro de costes mediante la reducción de la cantidad de proteína. (Noisuwan et al., 2008). Las propiedades físico-químicas del almidón de arroz dependen en gran medida de la variedad de arroz de la misma. Asimismo, también dependen de las condiciones climáticas y del suelo durante el desarrollo del grano (Asaoka et al., 1985). Como ocurre en otros almidones, el almidón de arroz contiene amilosa (lineal) y amilopectina (ramificada) con enlaces α 1-4, y α 1-6, respectivamente. (Lawal et al., 2011).

Sin embargo los cereales sin gluten como el arroz, no cumplen los requisitos necesarios para el procesamiento de productos alimenticios fermentados porque sus proteínas no pueden desarrollar una red viscoelástica como el gluten que permita retener el CO₂ producido durante el proceso de fermentación (Marco y Rosell, 2008a).

La matriz de gluten influye en las principales características reológicas de masa, tales como la elasticidad, extensibilidad, resistencia, la tolerancia de la mezcla, y la capacidad de retención de gas (Sivaramakrishnan et al., 2004; Lazaridou et al., 2007).

La fabricación de pan sin gluten elaborado a partir de harina de arroz u otros cereales no alergénicos, tiene considerables dificultades tecnológicas porque el gluten es la estructura más importante para la fabricación de pan (Moore et al., 2004). Por consiguiente la matriz de gluten debe ser reemplazada por otros componentes que mimeticen su actuación. Se han propuesto diferentes agentes reforzantes principalmente en la categoría de las gomas y los almidones (Marco y Rosell, 2008a) para este fin. Diversos estudios se han realizado para examinar los efectos de ciertos aditivos y enzimas en la calidad del pan de arroz. Los resultados de Sivaramakrishnan et al., (2004), demostraron que ciertas gomas, tales como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), daban lugar a la formación exitosa de pan de arroz con una óptima expansión de volumen, mientras que Gujral y Rosell, (2004) encontraron que la enzima glucosa oxidasa mejoraba la calidad del pan de arroz (Nikolić et al., 2011).

El conocimiento de las características reológicas de los productos alimentarios es necesario para el desarrollo de nuevos productos. Nos permiten obtener una descripción cuantitativa de los materiales y de sus propiedades mecánicas que están relacionadas con la estructura molecular y la composición del material. Así mismo, permiten predecir el desempeño del material durante su procesamiento, resultando una herramienta valiosa en la simulación y la predicción de la respuesta del material en las condiciones de deformación que se encuentran a menudo en la práctica. (Dobraszczyka y Morgensternb, 2003).

Varias técnicas reológicas, incluyendo la oscilación, relajación del esfuerzo, creep y creep-recovery han sido utilizadas en numerosos estudios para describir las propiedades mecánicas del gluten. Sin embargo, el uso de la reometría en los estudios de comportamiento reológico de masas sin gluten ha sido bastante limitado hasta hace apenas una década (Lazaridou et al., 2007).

Para mejorar la calidad de los panes sin gluten, se han propuesto ingredientes como almidón modificado, hidrocoloides, enzimas y proteínas de diferentes fuentes (Gujral y Rosell, 2004; Moore et al., 2004). Una práctica común en el procesamiento de alimentos es la incorporación de proteínas como ingredientes en la formulación de productos para aumentar tanto las cualidades del producto como la estabilidad del sabor, la textura y el almacenamiento. La adición de ingredientes lácteos y huevo en la

fabricación de pan ha sido ampliamente utilizada debido a que sus proteínas son muy funcionales y se pueden incorporar fácilmente en la masa (Regina et al., 2013). Estos ingredientes pueden utilizarse en pan tanto por su valor nutricional como por sus beneficios funcionales. El uso lácteos en formulaciones de productos sin gluten se ha traducido en una mejora de volumen, así como mejor apariencia y aspectos sensoriales de los panes (Gallagher et al., 2006). Demirkesen et al., (2010) también demostraron que es necesario utilizar un producto de goma, emulsionante, enzima o producto lácteo junto con la harina de arroz para la obtención de una mezcla viscoelástica que proporcione unas propiedades físicas óptimas: estructura de la masa, firmeza y volumen óptimo del pan (Demirkesen et al., 2010).

Las proteínas a menudo no cumplen con los requisitos para el procesamiento de alimentos por lo que el uso de enzimas como coadyuvantes en la panificación es frecuente para mejorar las propiedades funcionales y mejorar las características de la masa

Usando un número limitado de gama de ingredientes se pretenden generar nuevos productos panarios libres de gluten que agradan a los consumidores. Para ello, se proponen las proteínas como una de las principales clases de moléculas más importantes en ingeniería de alimentos, capaces de conferir atributos de textura y reticulación y que confieren propiedades mecánicas deseables (Regina et al., 2013).

La proteína de soja es otra proteína muy frecuentemente utilizada en formulaciones de pan sin gluten por su elevado interés nutricional (Marco y Rosell, 2008c; Ribotta y Rosell., 2010; Crockett et al., 2011). Las legumbres son un buen complemento para los alimentos a base de cereales ya que las proteínas de leguminosas y los cereales son complementarios en aminoácidos esenciales. Los cereales son deficientes en aminoácidos esenciales como la lisina, mientras que las legumbres tienen un alto contenido de este aminoácido. Por otra parte, las proteínas de cereales complementan a las proteínas de leguminosas en el aminoácido esencial metionina (Iqbal et al., 2006; Mariotti et al., 2009; Miñarro et al., 2012). La soja es muy utilizada en la dieta asiática y hoy en día su presencia en las dietas occidentales es cada vez mayor debido a la asociación del consumo de proteína de soja con un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares. Además, la soja es utilizada en la tecnología de alimentos por sus propiedades tales como emulsificación, la absorción de grasa, capacidad de retención de humedad, engrosamiento, y la formación de espuma (Marco y Rosell, 2008b).

Aunque la proteína de leguminosa más utilizada es la de soja, la proteína de guisante también se ha utilizado con éxito en productos de panadería. Trabajos

previos han demostrado que la adición de proteína de soja o guisante a la harina de arroz modifica las propiedades mecánicas de la masa, induciendo un aumento significativo en el módulo elástico registrado por pruebas reológicas oscilatorias (Marco y Rosell, 2008b). Sin embargo, aunque en un principio el objetivo de la adición de las proteínas era aumentar el valor nutricional de los productos sin gluten, recientemente se ha comprobado que la formación de una red continua de proteínas es crítico para la obtención de una mejora en la calidad de los panes sin gluten; generalmente aumenta el volumen del pan hasta un límite de adición de proteína, en que disminuye (Moore et al., 2004). Por lo tanto, la selección de la fuente de proteína con la funcionalidad adecuada parece jugar un papel importante en el proceso de elaboración de pan sin gluten. Una estructura parecida a la red de gluten podría ser creada con las proteínas aisladas y las proteínas de los cereales sin gluten, y de esta forma, mantener la estructura de la masa asemejándose a la red de gluten de trigo obtenido en las masas para pan (Marco y Rosell, 2008a).

La adición de ciertos ácidos, como ácido acético y láctico, a las masas de pan está justificada por las características que aportan al producto final. De forma natural, las bacterias ácido-lácticas presentes en la masa madre producen ácidos orgánicos, principalmente láctico y acético, en concentraciones variables dependiendo de la disponibilidad de azúcares. Esto provoca una mejora en la calidad y conservación del pan. Adicionalmente, la bajada del pH asociada con la producción de ácidos causa un incremento de la actividad de las proteasas y amilasas, favoreciendo la reducción del envejecimiento (Bernabé et al., 2007; Moore et al., 2008).

Diversos parámetros del proceso de amasado y fermentación afectan a la producción de estos ácidos. Una mayor hidratación de la masa favorece la formación de ácido láctico, mientras que masas consistentes tienden a facilitar la producción de ácido acético. Un aumento de la temperatura favorece la formación de ácido láctico y temperaturas bajas favorecen la producción de ácido acético (Bernabé et al., 2007).

La levadura de la masa madre, por la forma en que se ha obtenido, está siempre acompañada de una flora láctica y acética que no está obviamente presente en el cultivo seleccionado, por muy puro que sea, de la levadura industrial.

La presencia de estos dos ácidos, comunica a la masa una acidez mayor que la que se puede obtener con la masa y sólo levadura prensada. Esta acidez provoca una mayor duración y frescura del pan y una acción inhibidora del desarrollo de mohos y del *Bacillus mesentirucus* (responsable del ahilamiento del pan). La actividad acidificante y proteolítica de las bacterias lácticas presentes en la masa madre

empleada en la elaboración del pan van a influenciar de manera positiva a la reología de la masa y calidad del pan, en particular mejorando el aspecto de la corteza y la estructura de la miga del producto acabado (Bernabé et al., 2007).

Ya que para este estudio se opta por usar levadura industrial, el aporte de ácido acético y ácido láctico otorgará al pan unas características particulares, que serán objeto de otros estudios. En este, nos limitaremos a estudiar las propiedades que confieren a la reología de las masas y a sus propiedades de empastado.

Como ya hemos comentado, el almidón se utiliza ampliamente en la formulación de productos alimenticios y tiene muchas aplicaciones industriales. Muchas de sus características están relacionadas con la gelatinización, que describe varios cambios en el gránulo de almidón como son la pérdida de cristalinidad, la absorción de agua, la hinchazón, y la lixiviación de algunos componentes.

Cuando se calienta por encima de una cierta temperatura en un exceso de agua, los gránulos de almidón nativo sufren el proceso de gelatinización, considerado como la interrupción del orden molecular dentro del gránulo que da como resultado la hinchazón de los gránulos de almidón y la lixiviación de componentes tales como la amilosa. En las suspensiones acuosas concentradas de almidón nativo, la hinchazón inducida por la temperatura y la lixiviación de amilosa provoca la formación de una pasta viscosa. Un fuerte aumento de la viscosidad de la suspensión se lleva a cabo a la temperatura de empastado o de *pasting* y caracteriza el inicio del proceso de unión. La hinchazón del gránulo y la lixiviación de amilosa, procesos que conducen al aumento de la viscosidad (*pasting*), son procesos de no equilibrio. Después del enfriamiento, se forma un gel que consiste en una matriz de amilosa que contiene los gránulos de amilopectina (Miles et al., 1985; Ribotta y Rosell, 2010; Ronda et al., 2013).

En varios estudios realizados con adición de proteínas en diferentes dosis, se ha comprobado que éstas disminuyen la viscosidad de las muestras (Noisuwan et al., 2008; Marco y Rosell, 2008a).

No existen hasta ahora trabajos que estudien el efecto mixto de la adición de ácido en una matriz sin gluten enriquecida con proteínas. Las interacciones inter e intramoleculares que se establecen en el sistema constituido por las proteínas exógenas y el almidón responsables de la creación de estructura en la masa probablemente se vean claramente influidas por el pH del medio.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal, es el estudio del comportamiento de las distintas masas panarias sin gluten, con la adición de diferentes proteínas en diferentes dosis y la presencia o ausencia de una concentración conocida de ácido acético y láctico.

Para la consecución de este objetivo, se han llevado a cabo las siguientes fases: preparación de las masas panarias sin gluten, realización de ensayos reológicos y de empastado y análisis de los resultados obtenidos y conclusiones.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. *Materiales*

Para la elaboración de las masas de pan sin gluten se utilizó almidón de arroz (9,9 % de humedad, 0,2 % de cenizas y 0,5 % de proteína) suministrado por Ferrer Alimentación S.A. (Barcelona, España). La sal, el azúcar (Azucarera Ebro) y aceite de girasol (Coosur Premium) se adquirió en el mercado local. La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC, Methocel K4M Food Grade) fue suministrada por Dow Chemical (Midland, EEUU) (Methoxil 22,8 %, Hydroxypropoxyl 8,1 %, humedad 2 % y cenizas 0,5 %). Las diferentes proteínas utilizadas fueron aislado de proteína de soja Supro 500-E IP suministrada por Proveedora hispano-holandesa S.A. (Barcelona, España), caseinato de calcio por Armor proteines (Saint-Brice-en-Coglès, Francia), albúmina de huevo en polvo por Eurovo (Valladolid, España) y proteína de guisante Pisane C9, suministrada por Cosucra (Warcoing, Bélgica).

Los ácidos acético y láctico utilizados fueron de calidad para análisis (PA) de la marca Pancreac Química (Barcelona, España). El agua potable utilizada para la elaboración de la masa, se obtuvo de la red sanitaria de la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de Palencia.

3.2. *Preparación de la masa*

El proceso de elaboración de la masa se realizó utilizando la siguiente fórmula en base a 100 g de almidón de arroz: 6 % de aceite de girasol, 5 % de azúcar, 2 % de HPMC, 1,5 % de sal y 80 % de agua. Las distintas proteínas fueron añadidas en un porcentaje de 0, 5 ó 10 % sobre base de almidón. En el caso de las masas

acidificadas se añadió una mezcla acético y láctico en dosis 0,1 % y 0,4 % (p/p en base almidón), respectivamente.

Para la realización de los ensayos se pesaron 250 g de la mezcla almidón-proteína correspondiente, 3,75 g de sal, 12,5 g de azúcar, 5 g de HPMC y 15 g de aceite en una cubeta de amasado y se mezclaron suavemente con una cuchara. Se añadieron 200 g de agua con 0,25 g de ácido acético y 1 g de ácido láctico, mientras se siguió mezclando. Para la dosificación de los ácidos se añadieron 2,5 ml de una disolución mezcla de ambos en agua con una concentración del 10 % y 40 % peso/volumen de acético y láctico respectivamente. Se conectó la amasadora Kitchen Aid Professional (KPM5) a velocidad 2 durante 2 minutos. Cuando acabó este primer tiempo, se volvieron a mezclar con una paleta todos los ingredientes y posteriormente se conectó la amasadora a velocidad 4 durante 6 minutos adicionales. Cuando finalizó el amasado se repartió la masa en varios recipientes plásticos herméticos y se dejó reposar 10 minutos antes de los ensayos.

3.3. Evaluación reológica de la masa

Los ensayos reológicos (barrido de esfuerzos, barridos de frecuencias y creep-recovery), se llevaron a cabo con un reómetro RheoStress 1 (Thermo Haake, Karlsruhe, Alemania), con una geometría de placas paralelas PP60Ti (60 mm de diámetro de titanio) de superficie serrada y con 3 mm de separación. El exceso de masa se retiró y se aplicó aceite de vaselina para cubrir las superficies expuestas de la muestra. La temperatura de los ensayos se fijó en 25 °C mediante un baño Thermo Haake C25P (Karlsruhe, Alemania). Una vez depositada la masa en las placas se esperó 500 s para permitir su relajación antes de cada ensayo.

Los ensayos de barrido de esfuerzo se realizaron en el rango de 0,1 a 1000 Pa y a una frecuencia de 1 Hz. Estos ensayos permitieron establecer la zona viscoelástica lineal (LVR) mediante la localización del valor de esfuerzo, τ_{\max} , que producía el descenso del módulo elástico G' y el aumento de la $\tan \delta$. Los barridos de frecuencia se realizaron por duplicado en el intervalo 20 a 0,1 Hz a un esfuerzo correspondiente al centro de la región viscoelástica lineal (LVR). Los barridos de frecuencia de todas las masas se realizaron a esfuerzos comprendidos entre 2 y 10 Pa. Los módulos viscoso y elástico y la $\tan \delta$ obtenidos en los barridos de frecuencia se ajustaron a ecuaciones potenciales del tipo:

$$G' \omega = G'_{\omega_1} \cdot \omega^a$$

$$G'' \omega = G''_{\omega_1} \cdot \omega^b$$

$$\tan \delta(\omega) = \frac{G''(\omega)}{G'(\omega)} = \frac{G''}{G'} \cdot \omega^{(b-a)} = \tan \delta_{\omega_1} \cdot \omega^c$$

Donde los coeficientes G'_1 , G''_1 y $(\tan \delta)_1$, representan los módulos elástico y viscoso (en Pa) y la tangente de pérdida a un rango de frecuencia de 1 Hz. Los parámetros a , b y c representan constantes experimentales y ω la frecuencia angular en rad^{-1} (Ronda et al., 2011; 2013).

Los ensayos de deformación o relajación (*creep-recovery*) progresiva se realizaron mediante la aplicación de un esfuerzo de cizalla instantáneo sobre la muestra dentro de la zona viscoelástica lineal, que se mantuvo constante durante 150 s durante el periodo inicial para anularse en la zona de recuperación, que se prolongó durante 300 s adicionales. Estos ensayos se realizaron como mínimo por duplicado. Los resultados de *creep-recovery* se expresaron en términos de capacitancia elástica o *compliance* (1/Pa),

$$J = f t = \frac{\gamma}{\tau}$$

donde γ es la deformación y τ es el esfuerzo constante aplicado durante el ensayo. Los datos experimentales se describieron por el Modelo de Burgers de 4 parámetros en términos de capacitancia mecánica (Lazaridou et al., 2007; Van Bockstaele et al., 2011; Ronda et al., 2013).

$$J_c t = J_0 + J_1 \left(1 - \exp \left(-\frac{t}{\lambda_1} \right) + \frac{t}{\mu_0} \right)$$

En la ecuación, $J_c(t)$ es la capacitancia en la zona de *creep*, J_0 es la capacitancia instantánea y J_1 es la capacitancia elástica retardada. λ_1 es el tiempo de retardo y μ_0 la viscosidad estacionaria.

En la fase de recuperación (*recovery*) se realizó un ajuste a la misma ecuación de Burgers de 4 parámetros que en este caso, al no existir viscosidad, se puede representar por la siguiente expresión:

$$J_r t = J_{max} - J_{r0} + J_{r1} \left(1 - \exp \left(-\frac{t}{\lambda_1} \right) \right)$$

Donde J_{max} es el máximo valor de capacitancia obtenido en la fase de *creep*, y J_{r0} , J_{r1} , y λ_1 representan lo mismo que en la ecuación anterior pero referido a la fase de recuperación (Lazaridou et al., 2007; Van Bockstaele et al., 2011; Ronda et al., 2013).

3.4. Propiedades de empastado

Las propiedades de empastado se estudiaron usando el equipo RVA-4 de Newport Scientific (Warriewood, Australia) controlado por el software Thermocline v 2.2 de la misma casa comercial, utilizando la norma AACC (Método 76-21.01). Los perfiles de viscosidad durante el cocinado (o de “empastado”) de las masas fueron registrados utilizando suspensiones de 10,9 % p/p, $28,5 \pm 0,2$ g de peso total.

Las muestras se calentaron de 50 a 95 °C a un ritmo de 12,16 °C/min después de permanecer la muestra durante 1 minuto en equilibrio a 50°C, y se mantuvo durante 3,30 min a 95 °C. El enfriamiento se llevó a cabo desde 95 a 50 °C a un ritmo de 11,8 °C/min y se mantuvo durante 2 min a 50°C. Los parámetros registrados fueron la temperatura de *pasting* (temperatura a la que los gránulos de almidón comienzan a hincharse y gelatinizar debido a la absorción de agua), la viscosidad del pico (viscosidad máxima alcanzada por la pasta), el tiempo al cual se alcanza la viscosidad máxima (*peak time*), la viscosidad mínima, de caída o *trough viscosity* (viscosidad registrada en la etapa final cuando la temperatura es de 95 °C), la viscosidad final (viscosidad a 50 °C), los valores de estabilidad o *breakdown* (diferencia entre el pico de viscosidad y la viscosidad de caída) y la retrogradación o *setback* (diferencia entre la viscosidad final y la viscosidad de caída). Cada muestra se analizó por triplicado.

3.5. Análisis estadístico

Se utilizó el programa Statgraphics Centurion v.6 (Bitstream, Cambridge, MN, USA) para realizar los ajustes de los ensayos *creep-recovery* (regresión no lineal) y la tabla de correlaciones. Los coeficientes de Pearson, que pueden variar desde -1 a 1 se muestran como una medida de la fuerza de las relaciones lineales entre los pares de variables estudiadas. El número de datos para estudiar cada correlación siempre fue de 18.

Con el programa STATISTICA (Tulsa, OK, EEUU) v.6, se realizó el análisis de varianzas de los resultados obtenidos. La prueba LSD (Least Significant Difference) se utilizó para evaluar las diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Ensayos oscilatorios

Las propiedades viscoelásticas de las masas panarias a base de almidón de arroz que contienen diferentes fuentes de proteínas (albúmina, caseína, guisante y soja) en diferente dosis (0, 5 % y 10 %) y la presencia/ausencia de ácido (mezcla acético/láctico 0.1/0.4 %), se estudiaron mediante pruebas oscilatorias dinámicas. Los valores medios y grupos homogéneos obtenidos para los parámetros de los barridos de esfuerzos y frecuencias, se recogen en la Tabla 1.

4.1.1. Barridos de esfuerzos

A partir de los ensayos de barrido de esfuerzos a 1 Hz (un ejemplo de ello se muestra en la Figura 1), se obtuvieron los valores de los esfuerzos máximos en la zona viscoelástica lineal, τ_{max} , que se recogen en la Tabla 1. Los esfuerzos máximos a partir de los cuales las masas experimentaban una destrucción de su estructura oscilaron entre 6 y 108 Pa. Las masas con menores valores de τ_{max} fueron las de albúmina, tanto con ácido como sin él. Las que mayores valores de τ_{max} obtuvieron fueron las masas con 10% de guisante sin acidificar junto con las de 10% de caseína acidificada.

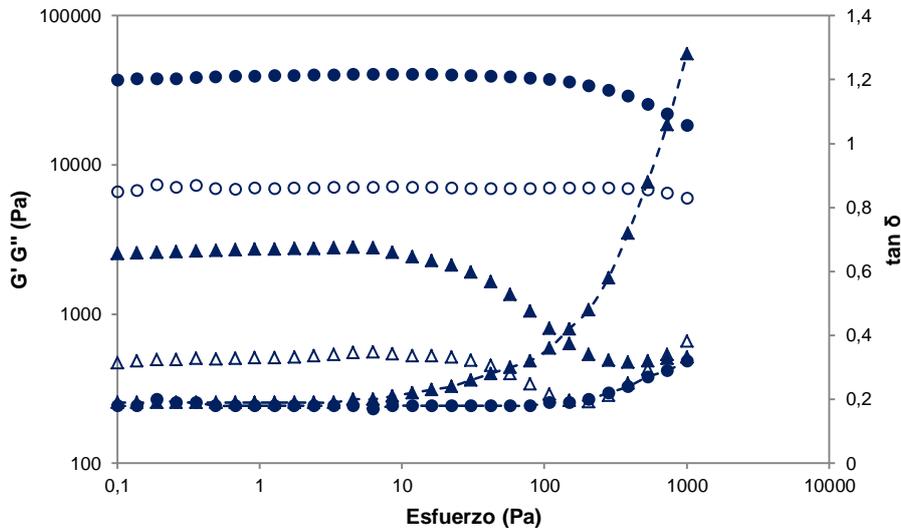


Figura 1: Barrido de esfuerzos de las masas sin acidificar con un 10 % de guisante (●) y 10 % de albúmina (▲). Los puntos rellenos representan el módulo elástico G' y los puntos huecos el módulo viscoso (G''). Los puntos unidos con línea discontinua corresponden a los valores de tan δ que se representan en el eje de la derecha.

Los efectos del tipo y dosis de proteína y de la presencia de ácido en los valores de τ_{max} se evaluaron mediante un análisis de varianza (Anexo 1, Tabla 1). Todos los factores estudiados así como sus interacciones dobles y la triple mostraron un efecto significativo a excepción de la interacción (dosis de proteína*presencia de ácido), lo

cual significa que la acidificación de la masa ejerció un efecto independiente de la dosis de proteína ensayada.

Como se muestra en la Figura 2, salvo en el caso de la albúmina, la presencia de proteína siempre produjo un aumento de τ_{max} , lo que demuestra un fortalecimiento de la estructura de las masas. El aumento de la dosis de proteína de soja y guisante también hizo aumentar los valores de τ_{max} . En el caso de la caseína sólo se detectó efecto de la dosis en las masas acidificadas. Para las proteínas vegetales (soja y guisante) se comprobó que la acidificación de las masas provocó un descenso significativo de τ_{max} . Las masas enriquecidas con proteínas de origen animal siguieron diferente comportamiento: las masas con albúmina no se vieron afectadas por la bajada de pH mientras que las de caseína se vieron reforzadas para la dosis del 10 %.

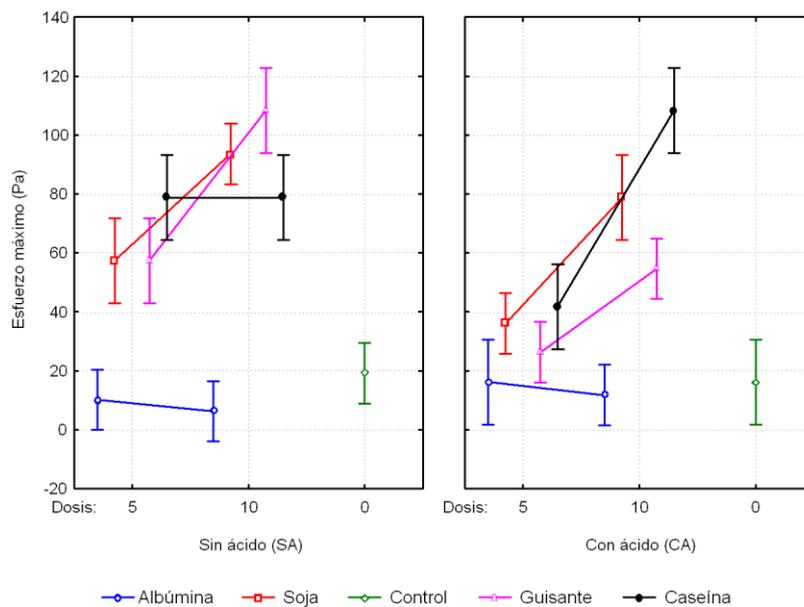


Figura 2: Efecto de la acidificación de las distintas masas con diferentes dosis de proteína, en el esfuerzo máximo.

4.1.2. Barridos de frecuencias

La Figura 3 muestra, a modo de ejemplo, las curvas obtenidas de los ensayos de barridos de frecuencia para las masas enriquecidas con 5% caseína. En el Anexo 1, figura 2, se recogen la totalidad de las curvas obtenidas. Estas curvas revelaron el comportamiento típico de los sólidos viscoelásticos con valores del módulo elástico (G'_1) más altos (de 2568 a 70665 Pa) que los valores del módulo viscoso (G''_1 de 477 a 10465 Pa), con ligera dependencia de ambos módulos con la frecuencia. Los valores de $\tan \delta = (G''/G')$ siempre fueron notablemente inferiores a 1. El mismo

comportamiento se ha descrito para masas de arroz que contienen diferentes aislados de proteína (Gujral y Rosell, 2004).

EFFECTO DE LA ACIDIFICACIÓN DE MASAS DE PAN SIN GLUTEN ENRIQUECIDAS CON PROTEÍNAS DE DIFERENTES ORÍGENES SOBRE SUS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS Y DE EMPASTADO

Tabla 1. Valores medios y grupos homogéneos obtenidos para los parámetros oscilatorios

	Dosis (%)	Ácido	G' ₁ (Pa)	a	R ²	G'' ₁ (Pa)	b	R ²	(tan δ) ₁	c	τ _{max} (Pa)
Control	0	SA	15763 d	0,13 cd	0,9969	2852 de	0,23 defg	0,9969	0,18 cd	0,10 fgh	19,1 a
		CA	11620 c	0,15 efg	0,9973	2510 d	0,24 fgh	0,9969	0,22 efg	0,09 efgh	16,1 ab
Albúmina	5	SA	3984 b	0,14 eg	0,9976	875 c	0,26 hi	0,9969	0,22 fg	0,11 hij	10,1 a
		CA	3867 b	0,16 g	0,9966	913 c	0,28 i	0,9969	0,24 g	0,12 ij	16,1 ab
	10	SA	2568 a	0,11 ab	0,9973	477 a	0,23 efg	0,9969	0,19 cd	0,12 j	6,2 a
		CA	3517 b	0,13 cd	0,9974	728 b	0,25 fh	0,9969	0,21 ef	0,12 ij	11,7 a
Caseína	5	SA	15360 cde	0,26 i	0,9999	6568 jk	0,20 abcde	0,9969	0,43 j	-0,06 a	78,8 e
		CA	23300 fgh	0,13 cdef	0,9969	4317 gh	0,22 cdefg	0,9969	0,19 bcd	0,09 efg	41,8 cd
	10	SA	30480 hij	0,21 h	0,9969	10465 lm	0,18 ab	0,9969	0,34 i	-0,03 b	78,8 e
		CA	26900 gh	0,20 h	0,9969	7826 kl	0,20 abcde	0,9969	0,29 h	0,01 c	108,3 f
Guisante	5	SA	20190 efg	0,15 eg	0,9969	4080 gh	0,22 cdefg	0,9969	0,20 def	0,08 def	57,4 d
		CA	16885 de	0,14 def	0,9969	3237 ef	0,24 fh	0,9969	0,19 cd	0,10 ghi	26,3 bc
	10	SA	39915 j	0,13 cd	0,9969	7008 k	0,19 ab	0,9969	0,18 bc	0,06 d	108,3 f
		CA	36443 ij	0,12 bc	0,9969	5877 ij	0,20 bc	0,9969	0,17 bc	0,08 def	54,6 d
Soja	5	SA	27920 hi	0,13 cd	0,9969	4902 hi	0,21 bcdeg	0,9969	0,18 bc	0,08 def	57,4 d
		CA	20748 f	0,13 cdf	0,9969	3704 fg	0,23 f	0,9969	0,18 bc	0,10 ghi	36,1 c
	10	SA	70665 k	0,10 a	0,9969	9184 lm	0,18 a	0,9969	0,13 a	0,07 de	93,6 ef
		CA	27610 h	0,14 def	0,9969	5487 ij	0,20 abc	0,9969	0,20 cde	0,06 d	78,8 e

Valores con letras distintas dentro de una misma columna indican que son significativamente diferentes (p<0,05). Los grupos homogéneos para G' y G'' se obtuvieron a partir del Ln de los valores de ambos módulos.

CA: Con ácido; SA: Sin ácido. G'₁: módulo elástico; G''₁: módulo viscoso; (tan δ)₁: pérdida de tanente; a, b, c: parámetros experimentales; τ_{max}: esfuerzo máximo

Titulación: MÁSTER EN CALIDAD, DESARROLLO E INNOVACIÓN DE ALIMENTOS

Alumna: MARINA VILLANUEVA BARRERO

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍAS AGRARIAS

En la Tabla 1, se resumen los valores de los parámetros G'_1 , G''_1 , $(\tan \delta)_1$, y de los exponentes a, b y c obtenidos tras el ajuste de dichas gráficas (en el rango de 1-10 Hz) a una función potencial. Los elevados valores de R^2 (oscilaron entre 0,9888 a 1,000) denotan el buen ajuste de los valores experimentales a la ley de la potencia.

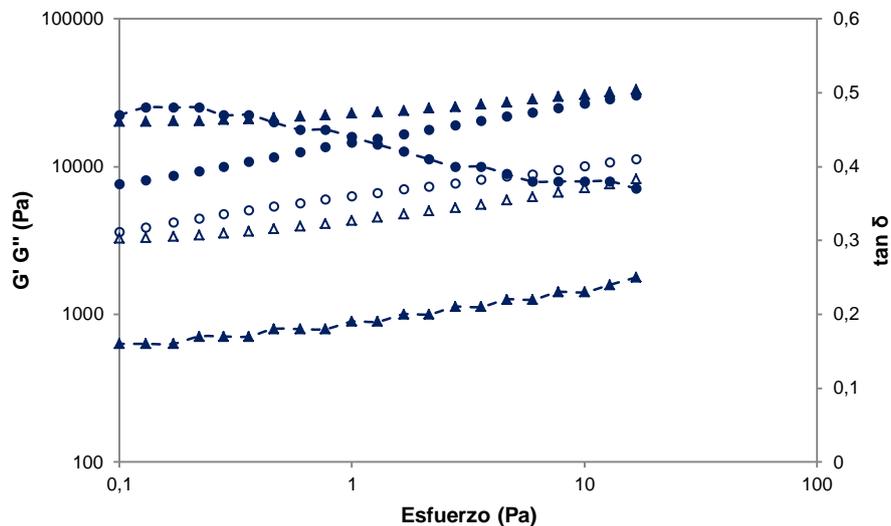


Figura 3: Barrido de frecuencias de las masas acidificadas (\blacktriangle) y sin acidificar (\bullet) con un 5 % de caseína. Los puntos rellenos representan el módulo elástico G' y los puntos huecos el módulo viscoso (G''). Los puntos unidos con línea discontinua corresponden a los valores de $\tan \delta$ que se representan en el eje de la derecha.

De forma general, la adición de proteínas afectó al comportamiento viscoelástico de las masas y la medida del efecto fue dependiente del tipo de proteína, de la dosis y de la presencia o ausencia de ácido. Los efectos del tipo, dosis de proteína y presencia de ácido en los parámetros extraídos del barrido de frecuencias se evaluaron mediante un análisis de varianza (Anexo 1, Tabla 1). Para el análisis de la varianza se realizó una transformación de las variables G'_1 y G''_1 manejando sus logaritmos neperianos en lugar de directamente los módulos debido a la heterogeneidad de varianzas de los resultados. Todos los factores estudiados así como sus interacciones dobles y la triple mostraron un efecto significativo a excepción de la interacción (dosis de proteína*presencia de ácido) que no tuvo efecto en el parámetro G''_1 , lo que significa que la presencia de ácido en el módulo viscoso de la masa a 1 Hz ejerció un efecto independiente de la dosis de proteína utilizada. Sobre el parámetro b no se observó ninguna interacción significativa, lo que permite estudiar el efecto individual de cada factor.

Como se muestra en las Figuras 4 y 5, la presencia de todas las proteínas vegetales aumentó significativamente las componentes elástica y viscosa de las masas de pan. Las masas que contenían soja mostraron un mayor incremento de los valores G'_1 y G''_1 que las masas de guisante exceptuando las que tenían una adición del 10% con ácido. El aumento de la dosis también hizo aumentar significativamente los valores de G'_1 y G''_1 . Masas acidificadas disminuyeron los valores de G'_1 en proteínas vegetales, pero sólo significativamente para soja con porcentajes de disminución de hasta un 60 %. Los valores de G''_1 también disminuyeron, en este caso de manera significativa (en torno a un 20-40 %) para ambas proteínas. En general, podemos concluir que las proteínas de leguminosas inducen un importante efecto de fortalecimiento de la estructura de la masa, y que ésta se debilita con la presencia de ácido.

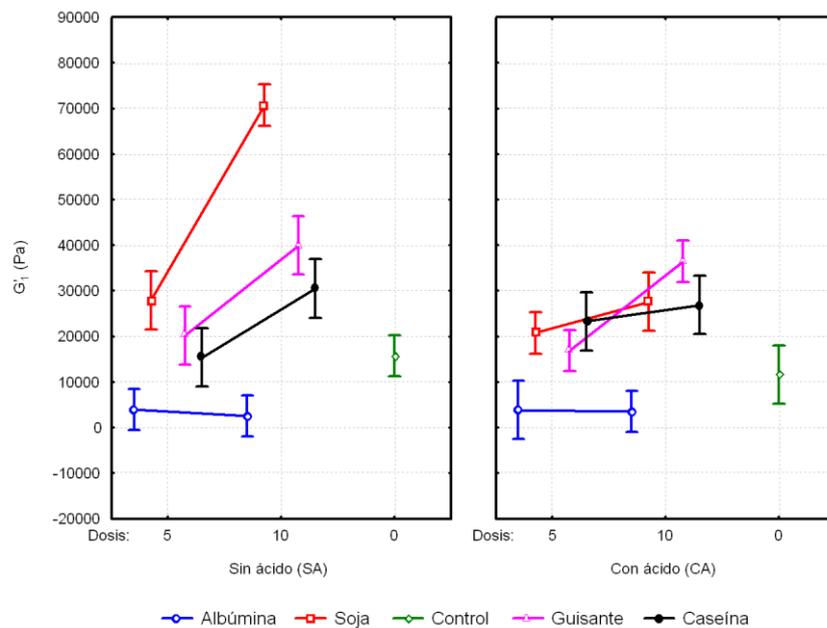


Figura 4: Efecto causado por las distintas proteínas con diferentes dosis, en ausencia y presencia de ácido sobre el módulo elástico G'_1 .

Las proteínas animales también modificaron el espectro mecánico de las masas de pan; con una tendencia distinta entre la albúmina y la caseína comparadas con el control tanto con ácido como sin él (Anexo 1, Figura 2). La adición de caseína produjo un efecto similar a lo ocurrido con las proteínas vegetales. En masas con caseína ambos módulos mostraron dependencia de la frecuencia más alta que en el control. El predominio de G'_1 sobre G''_1 fue mayor en las masas con caseína lo que indica un

comportamiento más elástico de esta masa en comparación con el control y la albúmina. La presencia de caseína aumentó los valores de G'_1 y G''_1 de forma significativa excepto para la masa sin acidificar con una dosis del 5 %. El aumento de la dosis hizo aumentar los valores de G'_1 , pero sólo de manera significativa para masas sin acidificar, mientras que los valores de G''_1 aumentaron en todos los casos de manera significativa. Se comprobó que la presencia de ácido en masas con 5 % de proteína aumentaron el valor de G'_1 y disminuyeron el de G''_1 significativamente. Totalmente diferente fue el comportamiento de las masas que contenían albúmina, las cuales presentaron módulos G'_1 y G''_1 inferiores al control y sin importantes efectos de la dosis de proteína y la presencia/ausencia de ácido, aunque algunos llegaron a ser significativos (Tabla 1, Figuras 4 y 5).

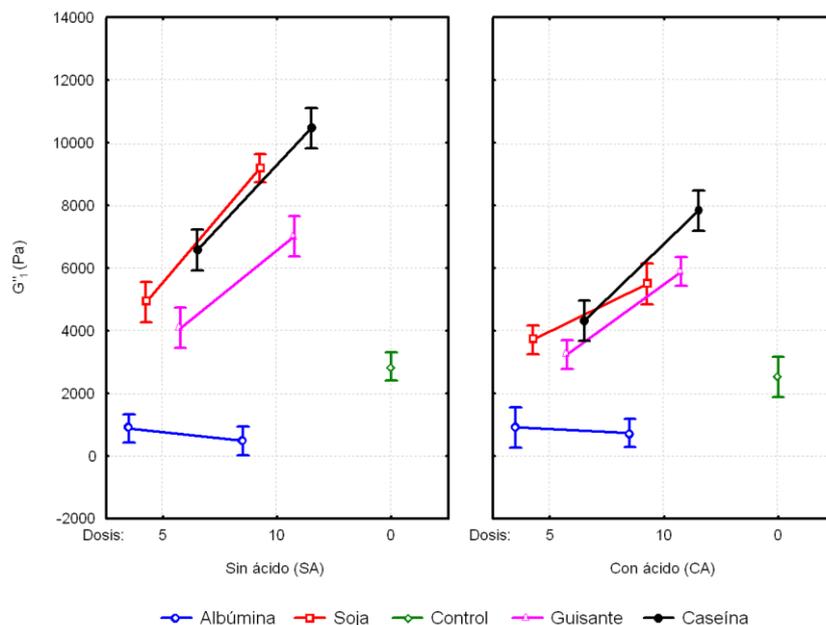


Figura 5: Efecto causado por las distintas proteínas con diferentes dosis, en ausencia y presencia de ácido sobre el módulo elástico G''_1 .

A diferencia de las proteínas vegetales, los resultados obtenidos debido al enriquecimiento de las masas con proteínas animales ensayadas fue muy diferente dependiendo del tipo concreto de proteína, no pudiéndose establecer un comportamiento homogéneo para este grupo.

Los resultados que hemos obtenido concuerdan con otros estudios previos. (Ziobro et al., 2013; Marco y Rosell, 2008a; Crockett et al., 2011). Otros autores explican este fenómeno; las proteínas presentes en la masa junto con el resto de ingredientes crea una fuerte estructura estabilizada por enlaces entrecruzados. En el caso de soja este

fenómeno se ve afianzado debido a la presencia de glicinina y la capacidad de retención de agua (Crockett et al., 2011). En estudios realizados con ácido exponen que la acidificación química provoca un descenso en la consistencia de las masas y que este hecho puede depender en gran medida del pH resultante en las masas después de la adición y de la naturaleza del ácido utilizado (Blanco et al., 2011).

Los valores de $(\tan \delta)_1$ oscilaron entre 0,13 y 0,43 (Tabla 1). Masas con albúmina mostraron una mayor dependencia del valor de $(\tan \delta)$ de la frecuencia. Con caseína esta dependencia varió notablemente en función de la dosis y de la presencia de ácido; con mayores dosis de proteína registraron menor dependencia (el comportamiento de los módulos elástico y viscosos frente a la frecuencia fue similar) y por consiguiente las masas fueron más estables. Sin ácido, los valores de $(\tan \delta)$ disminuyeron con la frecuencia (mayor dependencia con la frecuencia del módulo elástico que del viscoso), lo que hizo aumentar también la estabilidad de las masas (Anexo 1, Figura 2).

Los efectos del tipo, dosis de proteína y presencia de ácido en los valores de $(\tan \delta)_1$ se evaluaron mediante un análisis de varianza (Anexo 1, Tabla 1). Todos los factores estudiados así como sus interacciones dobles y la triple mostraron un efecto significativo a excepción del factor ácido.

En masa sin acidificar, fue la caseína en ambas dosis la que aumentó de manera más significativa el valor de $(\tan \delta)_1$ indicando un aumento de la relación G''/G' y, por lo tanto, del comportamiento viscoso de la masa. La presencia de soja al 10 % destacó por el efecto contrario. El aumento de la dosis de proteína hizo disminuir de forma significativa los valores de $(\tan \delta)_1$ en todos los casos lo que demuestra un fortalecimiento de la estructura de la masa. En presencia de ácido, la masa que presentó valores más altos fue caseína al 10 %, mientras que el resto obtuvo valores similares o inferiores al control. El incremento de la dosis no tuvo efecto significativo en las proteínas vegetales, en masas con albúmina provocó una disminución en torno al 12% del valor y con caseína un aumento del mismo. En el caso de las masas con dosis más altas de albúmina y soja se comprobó que la acidificación de las masas aumentaba los valores de $(\tan \delta)_1$, mientras que en el caso de caseína, independientemente de la dosis, disminuía.

El exponente "a" osciló entre valores de 0,10 y 0,26. Entre las masas sin acidificar fueron las masas con caseína las que mostraron los valores más elevados del exponente "a", y por lo tanto, módulos elásticos, G' , más dependientes de la frecuencia. El incremento de la dosis siempre produjo una disminución de "a". En

masas acidificadas, el aumento de la dosis tuvo un comportamiento desigual sobre el exponente “a” en función de la proteína empleada: En las masas con caseína al 5 % una bajada del pH provocó un descenso significativo del exponente “a” mientras que la presencia de un 10% de albúmina y soja lo aumentaron. Para el resto de las masas enriquecidas no se encontraron diferencias significativas con la masa control.

El exponente b, osciló entre los valores de 0,18 y 0,28 y no se observaron diferencias significativas asociables a los factores estudiados.

4.2. Ensayos de Creep-recovery

Se llevaron a cabo ensayos de *creep-recovery* con aplicación de esfuerzos entre 2 y 10 Pa, siempre dentro de la LVR, que se mantuvieron durante 150 segundos, tiempo suficiente para la que masa alcanzase el flujo estacionario. Las curvas obtenidas mostraron un comportamiento viscoelástico típico de masas de pan sin gluten (un ejemplo de ello se muestra en la Figura 6) similares a las obtenidas por otros autores (Sivaramakrishnan et al., 2004, Lazaridou et al., 2007, Ronda et al., 2013). La representación de J frente al tiempo, t, informa de la deformación que experimenta la masa y cómo se recupera una vez que cesa la aplicación del esfuerzo. El Anexo 1, Figura 3 recoge la totalidad de las curvas obtenidas.

A partir de estos ensayos y ajustando los resultados al modelo de Burgers, se obtuvieron los valores de los parámetros de ajuste que se recogen en la Tabla 2. Como era de esperar, una fuerte correlación fue encontrada entre los parámetros de capacitancia elástica en la fase de *creep* y los equivalentes en la fase de *recovery* ($p < 0,001$) ya que los ensayos se llevaron a cabo en la LVR.

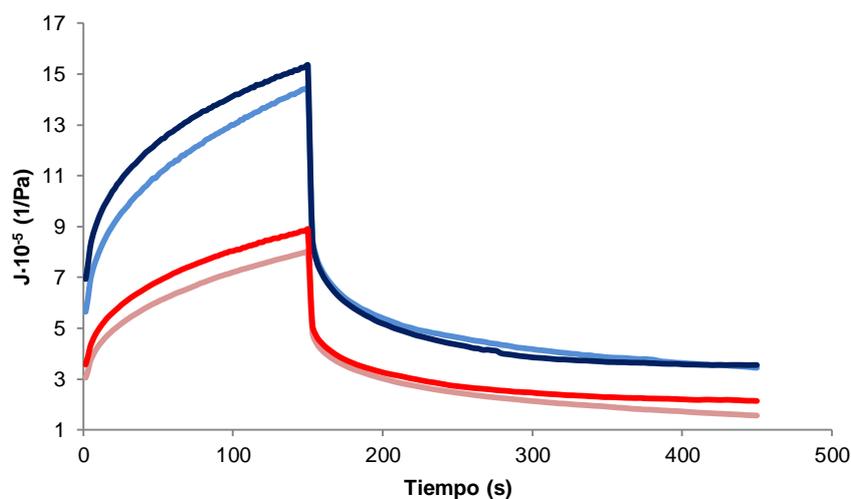


Figura 6: Representación del ensayo *creep-recovery* de las masas de guisante con dosis del 5% acidificadas (→) y sin acidificar (←) y con dosis de 10% acidificadas (→) y sin acidificar (←).

La incorporación de proteínas vegetales, hizo disminuir los valores de J lo que demuestra un incremento de la resistencia de la masa a la deformación. La acidificación de estas masas provocó un incremento de la capacitancia, lo que indica una mayor capacidad de deformación de las masas para un esfuerzo dado. El aumento de la dosis sólo ejerció un efecto significativo sobre este parámetro en el caso de la proteína de guisante, no en el caso de la soja.

En masas con proteínas animales, la presencia de albúmina produjo un aumento notable en los valores de J respecto al control, siendo mayores con las más altas dosis de proteína. Los valores alcanzados con adición de albúmina a una dosis del 10 % sin ácido, destacan por encima del resto de las masas. La presencia de caseína hizo aumentar los valores de J en todos los casos salvo en masas acidificadas con dosis del 5 %. Destacan principalmente los altos valores registrados por masas sin acidificar.

Los porcentajes de recuperación de la masa, o grado en el que la masa recupera su estado inicial tras la liberación del esfuerzo en términos de capacitancia, oscilaron entre 53 y 100 % del máximo de deformación. En general, las masas recuperaron peor en presencia de proteínas, excepto la masa con caseína al 5 % acidificada. Tanto la presencia de ácido como su dosis, mostraron efectos muy variables. Destacan las masas con 10 % de caseína tanto con ácido como sin él, por ser las que menores valores de recuperación obtuvieron (Tabla 2).

Los efectos del tipo, dosis de proteína y presencia de ácido en los parámetros de *creep-recovery* se evaluaron mediante un análisis de varianza (Anexo 1, Tabla 2) Todos las interacciones dobles y tripe mostraron un efecto significativo a excepción de la interacción (dosis de proteína*ácido) para los parámetros J_{1creep} y $J_{1recovery}$, lo cual significa que la presencia de ácido en la masa ejerció un efecto independiente de la dosis de proteína.

Para todas las masas, la deformación elástica instantánea (J_{0creep}) relativa al esfuerzo aplicado, presentó valores significativamente inferiores que sus controles respectivos excepto en masas con albúmina y masas acidificadas con caseína al 5 %. (Figura 7). El aumento de la dosis provocó un incremento del valor de J_{0creep} de forma significativa en masas con albúmina, mientras que con el resto de proteínas, el efecto fue el contrario, no siendo significativo para masas acidificadas de caseína. La disminución del pH de las masas no provocó ningún efecto sobre el valor de la deformación instantánea en masas con caseína y guisante al 10 % y tuvo un comportamiento variable para el resto de masas en función del tipo y de la dosis de proteína.

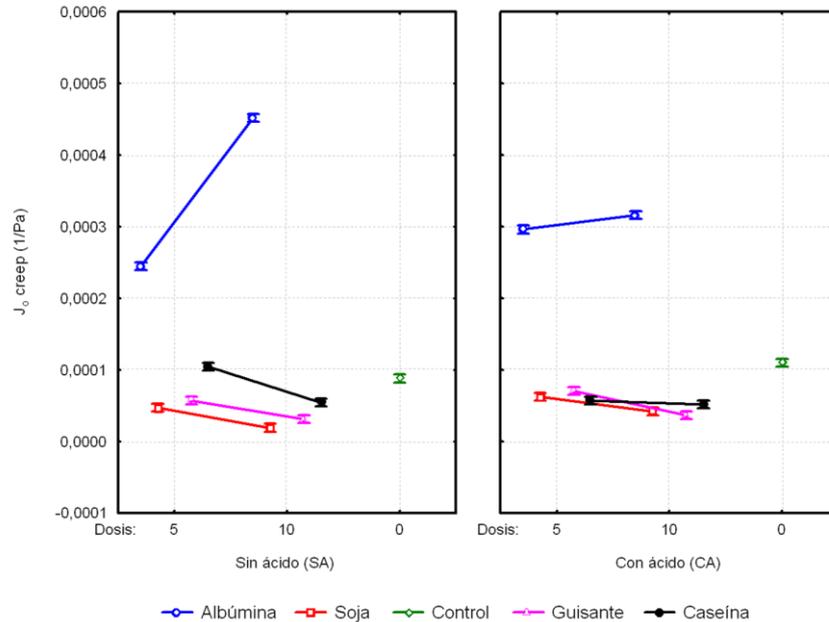


Figura 7: Efecto causado por las distintas proteínas con diferentes dosis, en ausencia y presencia de ácido sobre J_{0c} .

En masas sin acidificar, los valores de J_{1creep} (correspondientes a la deformación elástica retardada) fueron superiores en presencia de proteínas animales, mientras que para masas con proteínas vegetales los valores de este parámetro fueron iguales o inferiores a los del control (50-60 %). Esto demuestra que masas con proteínas animales sufrieron mayor deformación al aplicar un esfuerzo constante a lo largo del tiempo que con adición de proteínas vegetales, y está relacionado con la disminución de la consistencia de las masas. Al aumentar la dosis, se produjo una disminución significativa de J_{1creep} para todas las proteínas (del orden de un 50 %), excepto para masas con albúmina, donde el efecto fue el contrario. En masas con ácido, la presencia de proteína de albúmina y caseína al 10 % provocó un incremento en los valores de J_{1creep} , mientras que en el resto de proteínas el efecto fue el contrario. El aumento de la dosis en masas acidificadas mostró un efecto variable en función de la proteína ensayada, destacando las masas con albúmina y soja donde no tuvo ningún efecto significativo. Se comprobó que la acidificación hizo disminuir los valores de capacitación elástica retardada J_{1creep} de forma significativa para las masas con proteínas animales, mientras que en las masas enriquecidas con proteínas vegetales no provocó efectos significativos en guisante e incrementó estos valores en masas con soja.

EFFECTO DE LA ACIDIFICACIÓN DE MASAS DE PAN SIN GLUTEN ENRIQUECIDAS CON PROTEÍNAS DE DIFERENTES ORÍGENES SOBRE SUS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS Y DE EMPASTADO

Tabla 2. Valores medios y grupos homogéneos obtenidos para los parámetros de *creep-recovery*

	Dosis (%)	Ácido	Fase de Creep						Fase de Recovery				
			J_0 (10^{-5}) (Pa $^{-1}$)	J_1 (10^{-5}) (Pa $^{-1}$)	λ_1 (s)	μ_0 (10^{+5}) (Pa·s)	J_{max} (10^{-5}) (Pa $^{-1}$)	R^2	J_0 (10^{-5}) (Pa $^{-1}$)	J_1 (10^{-5}) (Pa $^{-1}$)	λ_1 (s)	R^2	PR (%)
Control	0	SA	8,78 i	4,36 c	15,83 ab	57,90 p	15,60	0,9941	9,71 g	10,17 h	153,06 m	0,9909	100,0
		CA	10,98 j	6,51 d	17,29 abc	28,73 h	22,47	0,9959	13,00 h	7,78 f	87,99 j	0,9768	92,9
Albúmina	5	SA	24,46 k	26,86 i	22,33 f	6,65 f	73,37	0,9985	29,55 j	18,34 j	49,70 a	0,9703	66,3
		CA	29,58 l	25,99 h	18,80 cde	5,98 d	79,40	0,9962	35,02 k	26,78 k	80,70 h	0,9764	78,8
	10	SA	45,18 n	43,34 j	18,72 cde	3,31 a	132,25	0,9979	53,93 m	35,11 m	51,52 b	0,9757	68,1
		CA	31,59 m	25,48 h	15,85 ab	4,73 b	87,73	0,9974	39,40 l	28,35 l	74,73 g	0,9776	78,0
Caseína	5	SA	10,45 j	23,83 g	19,55 de	5,64 c	60,30	0,9988	17,36 i	26,60 k	69,29 f	0,9782	74,4
		CA	5,71 fg	3,72 c	15,75 a	54,72 m	12,07	0,9965	6,71 d	6,58 e	124,38 l	0,9871	100,0
	10	SA	5,43 ef	12,69 f	20,27 ef	11,04 e	42,00	0,9995	8,40 f	13,69 i	62,26 d	0,9843	53,1
		CA	5,14 ef	8,48 e	22,25 f	6,21 g	27,00	0,9994	7,35 de	9,22 g	74,76 g	0,9841	62,0
Guisante	5	SA	5,68 fg	4,03 c	17,90 bcd	30,75 i	14,47	0,9982	6,74 d	4,12 d	66,44 e	0,9730	76,2
		CA	7,05 h	4,25 c	18,51 cde	36,12 j	15,35	0,9974	7,48 e	4,28 d	52,60 b	0,9857	76,9
	10	SA	3,09 b	2,27 b	19,44 de	55,19 o	8,01	0,9982	3,65 b	2,75 b	82,90 i	0,9827	80,5
		CA	3,63 bc	2,57 b	20,34 ef	54,82 n	8,89	0,9981	4,13 b	2,57 b	60,30 c	0,9862	76,0
Soja	5	SA	4,72 de	2,85 b	39,92 h	90,88 q	10,70	0,9978	4,91 c	3,08 bc	63,11 d	0,9840	75,4
		CA	6,23 g	3,76 c	18,47 cde	36,81 k	13,95	0,9978	6,90 de	3,91 d	66,83 e	0,9820	78,1
	10	SA	1,89 a	1,17 a	25,43 g	135,78 r	4,13	0,9974	2,03 a	1,34 a	99,82 k	0,9809	81,6
		CA	4,16 cd	3,86 c	21,84 f	38,51 l	11,80	0,9977	5,18 c	3,67 cd	66,80 e	0,9808	76,0

Valores con letras distintas dentro de una misma columna indican que son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

CA: Con ácido; SA: Sin ácido. J_0 : capacitancia instantánea, J_1 : capacitancia elástica retardada, λ_1 : tiempo de retardo; μ_0 : viscosidad estacionaria; J_{max} : máximo valor alcanzado en la fase de *creep*; PR: porcentaje de recuperación.

Titulación: MÁSTER EN CALIDAD, DESARROLLO E INNOVACIÓN DE ALIMENTOS

Alumna: MARINA VILLANUEVA BARRERO

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍAS AGRARIAS

La presencia de proteína en masas sin acidificar, incrementó los valores del tiempo de retardo λ_{1creep} en todos los casos de forma significativa excepto en masas con guisante al 5 %. El incremento de la dosis, no provocó un efecto significativo sobre λ_{1creep} en masas que contenían caseína y guisante, mientras que para soja y albúmina disminuyeron los valores indicando una respuesta elástica retardada más rápida. En presencia de ácido, al adicionar un 10 % de caseína, guisante o soja, los valores del tiempo de retardo se incrementaron respecto al control, mientras que con el resto de masas no se obtuvo ningún efecto significativo. En función de la proteína el incremento de la dosis mostró un efecto variable y la acidificación de las masas disminuyó de forma significativa los valores de λ_{1creep} excepto en masas con guisante al 5 y 10 % y con caseína al 10 % sobre las que no provocó ningún efecto.

La presencia de proteína en masas sin ácido, hizo aumentar todos los valores de viscosidad estacionaria (μ_0) significativamente excepto en masas con 10 % de albúmina y 5 % de caseína que disminuyó. Salvo en masas con albúmina que descendió, el aumento de la dosis, produjo un incremento significativo en los valores de la viscosidad. En masas con ácido, la presencia de proteína hizo aumentar los valores de μ_0 excepto en masas tanto con 5 como con 10 % de albúmina y masas con 10 % de caseína, que disminuyeron significativamente.

De forma significativa en todos los casos, en presencia de ácido masas con soja disminuyeron los valores de viscosidad estacionaria. Albúmina con dosis del 5% disminuyó el valor de μ_0 y en masas con 10 % aumentó. Tanto en masas con caseína como en masas con guisante con dosis del 5 % los valores aumentaron mientras que con dosis del 10 %, disminuyeron.

4.3. *Propiedades de empastado*

Se midió la viscosidad de las masas panarias descritas en este estudio durante un ciclo de calentamiento-enfriamiento de la masa, para evaluar el efecto del enriquecimiento con diferentes proteínas en diferentes dosis y la presencia/ausencia de ácido en las propiedades de empastado. Las curvas de *pasting* obtenidas (un ejemplo de ello se puede observar en la Figura 8), mostraron la evolución típica de la viscosidad de la masa durante un ciclo de calentamiento programado en el equipo RVA; en este ensayo los gránulos de almidón presentes en la masa comienzan a absorber agua al comienzo del ciclo de calentamiento. A una determinada temperatura comienza la gelatinización del almidón con el consiguiente incremento de la viscosidad de la pasta. Al mantenerse la temperatura, llega un momento en que los gránulos

comienzan a romperse, por lo que una vez alcanzado un máximo de viscosidad, ésta tiene a disminuir. Cuando la pasta vuelve a enfriarse el almidón se reorganiza y como consecuencia de este fenómeno, llamado retrogradación, la viscosidad vuelve a incrementarse. (Marco y Rosell, 2008a; Noisuwan et al., 2008; Ronda et al., 2013). Los valores medios y grupos homogéneos obtenidos para los parámetros de empastado, se recogen en la Tabla 3.

Para determinar los efectos provocados por los factores de estudio así como sus interacciones dobles y la triple sobre las propiedades de empastado, se sometieron los resultados obtenidos a análisis de varianza (ANOVA) (Anexo1, Tabla 3). Los factores estudiados y sus interacciones mostraron efecto significativo sobre la práctica totalidad de los parámetros estudiados a excepción del factor “ácido” y la interacción (dosis*ácido) que no afectó a la viscosidad del pico (PV) y la interacción (tipo de proteína*dosis) que no tuvo efecto sobre el parámetro *setback* o retrogradación. Esto significa que la acidificación no ejerció un efecto significativo en los valores de pico de viscosidad y que la dosis de proteína ensayada ejerció un efecto independiente del tipo de proteína en los valores de *setback*.

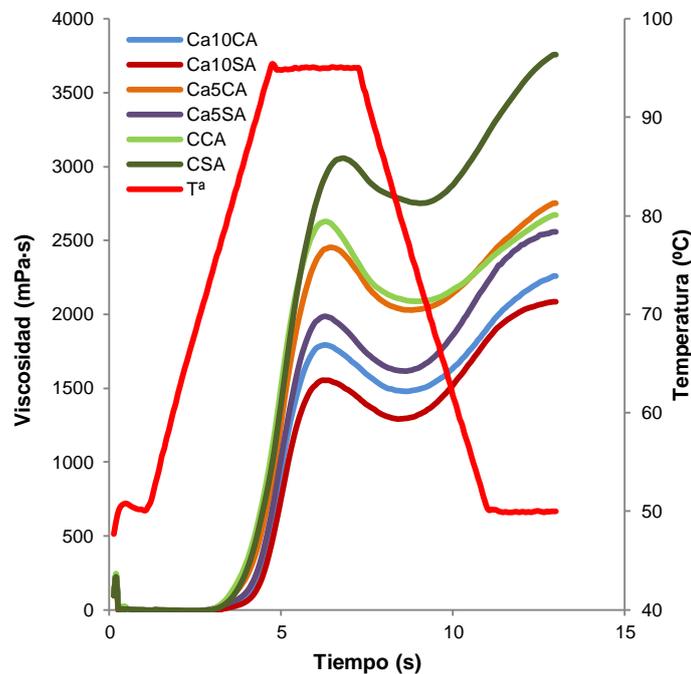


Figura 8: Efecto de la presencia de caseína, dosis y acidificación en las propiedades de empastado. Ca: caseína; C: control; 5: dosis del 5 %; 10: dosis del 10 %; SA: sin ácido; CA: con ácido

EFFECTO DE LA ACIDIFICACIÓN DE MASAS DE PAN SIN GLUTEN ENRIQUECIDAS CON PROTEÍNAS DE DIFERENTES ORÍGENES SOBRE SUS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS Y DE EMPASTADO

Tabla 3. Valores medios y grupos homogéneos para los parámetros de viscosidad

Tipo	Dosis (%)	Ácido	PV (mPa-s)	VC (mPa-s)	BD (mPa-s)	VF (mPa-s)	SB (mPa-s)	VT (s)	PT (°C)
Control	0	SA	3091 k	2771 k	320 bc	3783 k	1012 hi	6,80 i	80 cd
		CA	2629 hi	2087 hi	542 e	2672 fg	586 a	6,29 f	78 b
Albúmina	5	SA	2384 fg	2158 i	226 a	3401 j	1243 k	6,64 h	81 de
		CA	2852 j	2291 j	561 ef	3128 i	837 ef	6,31 f	78 b
	10	SA	2086 de	1876 f	209 a	3077 hi	1201 k	6,69 h	84 g
		CA	2770 ij	2095 hi	675 hi	2955 hi	861 f	6,18 de	78 b
Caseína	5	SA	1990 cd	1615 e	375 cd	2558 def	943 g	6,26 ef	86 h
		CA	2454 g	2028 h	427 d	2752 g	724 bc	6,42 g	82 ef
	10	SA	1536 a	1275 b	261 ab	2068 ab	793 de	6,24 ef	88 i
		CA	1794 b	1479 cd	315 bc	2259 c	780 d	6,31 f	87 h
Guisante	5	SA	2239 ef	1455 c	784 j	2521 de	1066 ij	6,09 cd	81 de
		CA	2612 h	1903 fg	709 i	2593 def	689 b	6,27 ef	74 a
	10	SA	1869 bc	1151 a	718 i	2227 c	1076 j	6,05 bc	79 bc
		CA	2200 e	1281 b	920 k	1952 a	672 b	5,98 ab	80 cd
Soja	5	SA	2615 h	2008 gh	607 fg	2986 hi	978 gh	6,29 f	84 g
		CA	2421 g	1902 fg	518 e	2658 efg	755 cd	6,33 fg	81 de
	10	SA	2451 g	1581 de	871 k	2518 d	937 g	5,93 a	83 fg
		CA	2136 de	1509 cde	627 gh	2181 bc	672 b	6,09 cd	84 g

Valores con letras distintas dentro de una misma columna indican que son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

CA: Con ácido; SA: Sin ácido. PV: viscosidad del pico; VC: viscosidad de caída o *trough*; BD: *breakdown* o estabilidad; VF: viscosidad final; SB: *setback* o retrogradación; VT: tiempo al que se alcanza la viscosidad máxima y PT: temperatura de *pasting*.

En ausencia de ácido, la presencia de proteína hizo disminuir la viscosidad del pico significativamente y con aumento de la dosis de proteína, ésta disminuyó en todas las masas (Figura 9). El pico de viscosidad de la curva de empastado, asociado a la gelatinización del almidón es razonable que disminuya cuando el contenido de almidón de la mezcla se ve reducido por la presencia de proteína. Por su parte, la acidificación de la masa control, sin enriquecimiento proteico, disminuyó el parámetro PV. Sin embargo, en presencia de proteínas, la acidificación aumentó significativamente el PV de todas las masas respecto a sus equivalentes sin acidificar (ver Tabla 3), excepto en el caso de la soja, en que se observó un descenso independientemente de la dosis de proteína empleada.

La viscosidad de caída se vio afectada por la presencia y dosis de proteína y por la acidificación de la masa de manera totalmente análoga a lo descrito para PV. Algo similar se observó para la viscosidad final (FV), si bien, el diferente efecto de la acidez

sobre la retrogradación (*setback*, SB) puede explicar algunas de las diferencias observadas en este parámetro.

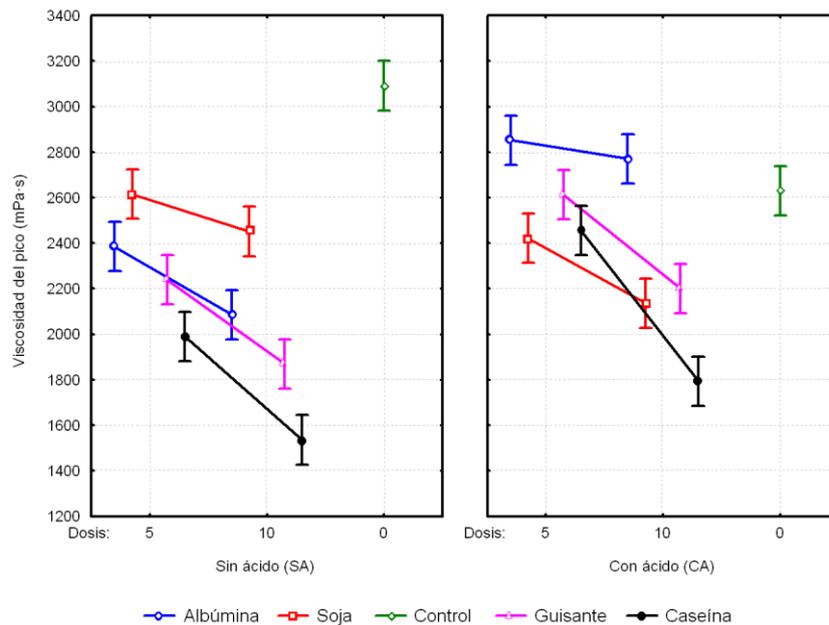


Figura 9: Efecto causado por las distintas proteínas con diferentes dosis, en ausencia y presencia de ácido sobre el pico de viscosidad.

La estabilidad (*breakdown*, BD) del gel mostró un efecto muy variable en función del tipo de proteína y la dosis empleada. Las proteínas vegetales aumentaron de forma importante el valor BD, pasando desde 320 mPa·s para el gel control hasta 784 mPa·s para el que contenía un 5 % de guisante u 871 mPa·s para los geles con un 10% de soja. Esto indica un descenso de la estabilidad del gel durante el calentamiento. El efecto de las proteínas animales sobre el parámetro BD fue notablemente inferior y en general opuesto al de las vegetales: la albúmina y la caseína en su dosis alta estabilizaron el gel de arroz.

La presencia de ácido hizo aumentar el BD del gel control en un 70 %. Sin embargo, en el caso de mezclas enriquecidas en proteínas su efecto fue variable y claramente dependiente del tipo de proteína y su dosis. Desestabilizó (aumentó BD hasta triplicar su valor) los geles de albúmina y estabilizó los de soja. El efecto sobre los geles con proteína de guisante dependieron del contenido en proteína, mientras que los geles con caseinato no se vieron perjudicados por la presencia de ácido a este respecto.

La presencia de proteína afectó al valor de *setback* (SB) de los geles de diferente manera según el tipo de proteína. La caseína disminuyó la retrogradación de los geles

de almidón de arroz, en mayor magnitud cuanto mayor era su dosis, mientras que la presencia de albúmina la favoreció. Las proteínas vegetales, por el contrario, apenas ejercieron efecto alguno. La presencia de ácido, sin embargo, siempre provocó un descenso en el valor del *setback*, tanto del gel control como de los enriquecidos en proteína. Sin embargo la magnitud del descenso dependió del tipo de proteína y dosis. El aumento de la viscosidad durante el enfriamiento o retroceso, que normalmente se refiere a la cristalización de las cadenas de amilosa de los almidones, podría verse afectado por la reorganización de las proteínas desnaturalizadas de los aislados de proteína. La distinta naturaleza de las proteínas también podría ser responsable de que el comportamiento sea diferente (Marco y Rosell, 2008a). Los resultados obtenidos concuerdan con lo descrito por otros autores en similares estudios con aislado de proteínas y ácido acético (Ohishi et al., 2007; Marco y Rosell, 2008a; Noisuwan et al., 2008; Ribotta y Rosell, 2010).

La presencia de proteína aumentó la temperatura de empastado del almidón de arroz de forma significativa, a excepción de la proteína de guisante. Las creaciones de interacciones con la proteína estabilizan al almidón y retrasan su gelatinización (Crockett et al., 2011). Por su parte, la adición de ácido hizo disminuir la temperatura de empastado tanto del control como de los geles enriquecidos en proteínas, con las excepciones de la soja y guisante al 10 %.

4.4. Correlaciones

El análisis de las variables reológicas suministra información útil sobre la relación significativa entre las características viscoelásticas de las masas de pan sin gluten. Mediante el análisis de los coeficientes de Pearson, un rango de coeficientes (desde -0,84 a 1,00) fue obtenido relacionando las propiedades de masas de pan enriquecidas con diversas proteínas en presencia o ausencia de ácido.

Como era de esperar, una fuerte correlación fue encontrada entre los parámetros de capacitancia elástica en la fase de *creep* y los equivalentes en la fase de *recovery* ($0,86 < r < 1,00$ con $p < 0,001$), ya que estos ensayos se llevaron a cabo en la zona viscoelástica lineal. Además se observó que los factores que incrementaron la viscosidad en estado estacionario (μ_0) hicieron disminuir los parámetros de capacitancia tanto en la fase de *creep* como en la fase de *recovery*. Similares tendencias fueron observadas por Lazaridou et al., (2007) y Ronda et al., (2013).

Los módulos elástico (G'_1) y viscoso (G''_1), indicadores del comportamiento viscoelástico de la masa, resultaron correlacionados entre sí ($p < 0,001$, $r = 0,81$), de

manera que cuando uno aumentaba el otro también lo hacía. La tangente de pérdida $(\tan \delta)_1$, no resultó correlacionada con ninguno de los dos módulos. Esto indica que su aumento pudo ser debido indistintamente a un aumento de G'' o a un descenso de G' , sin poder establecer una regla fija, como se observó en otras masas batidas de bizcocho (Ronda et al., 2011). Sí se observó una estrecha correlación de signo positivo de $(\tan \delta)_1$ con el exponente "a" ($p < 0,001$, $r = 0,95$). Esto indica que las masas con mayores tangentes de pérdida, o de mayor carácter viscoso, menos estructuradas, coincidían con aquellas que tenían módulos elásticos, G' , más dependientes de la frecuencia. El exponente "b" no resultó correlacionado significativamente ni con G'_1 , ni con G''_1 ni con $(\tan \delta)_1$.

A partir de las mediciones de *creep*, se observó que la viscosidad en el estado estacionario, μ_0 , presenta una correlación negativa con los parámetros J_0 y J_1 ($r = -0,56$ y $r = -0,66$ respectivamente). Las masas con altos valores en deformación instantánea y deformación retardada fueron las de menores valores de viscosidad. Además, μ_0 aumentó al tiempo que lo hacía el módulo elástico G'_1 .

Dentro de los parámetros de viscosidad, el pico de viscosidad se encuentra correlacionado negativamente con el módulo viscoso G''_1 y positivamente con la viscosidad de caída (VC), y viscosidad final (VF).

Al aumentar la variable pico de viscosidad, disminuyen los valores de temperatura de *pasting*, ya que estas variables están correlacionadas negativamente. El parámetro *setback* (diferencia entre la viscosidad final y viscosidad de caída) correlaciona positivamente con el parámetro "b"

Se observaron algunas correlaciones significativas ($-0,74 < r < 0,98$) entre las mediciones reológicas de las muestras sin gluten, especialmente las que directamente o indirectamente evalúan las características de resistencia de la masa. Masas consistentes corresponden con mayores módulos dinámicos (G'_1 , G''_1), mayores valores de τ_{max} , menor deformación elástica a tensión constante (J) y mayor viscosidad estacionaria (μ_0). Además, masas con mayor componente viscosa (G''_1) mostraron menores valores en los perfiles de viscosidad (prueba RVA).

Estos datos indican que los ensayos realizados pueden ser útiles para caracterizar muestras de masas libre de gluten en términos de comportamiento viscoelástico a base de almidón de arroz complementado con proteínas y ácido.

Tabla 8. Correlaciones entre las distintas variables reológicas

	G'_1	a	G''_1	b	$(\tan \delta)_1$	c	τ_{max}	$J_{0 \text{ creep}}$	$J_{1 \text{ creep}}$	μ_0	PV	VC	BD	VF	SB	VT	PT
G'_1		ns	0,81***	ns	ns	ns	0,75***	-0,70**	-0,66**	0,80***	ns	-0,56*	0,52*	-0,55*	ns	-0,64**	ns
a			ns	ns	0,98***	-0,84***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
G''_1				ns	ns	ns	0,89***	-0,73***	-0,52*	ns	-0,65**	-0,71***	ns	-0,71***	ns	-0,55*	0,59*
b					ns	0,68**	ns	0,66**	0,67**	ns	ns	ns	ns	ns	0,65**	ns	ns
$(\tan \delta)_1$						-0,81***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
c							ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,47*	ns	ns
τ_{max}								-0,67**	-0,48*	ns	-0,67**	-0,74***	ns	-0,68**	ns	-0,55*	0,57*
$J_{0 \text{ creep}}$									0,93***	-0,56*	ns	ns	ns	0,54*	ns	0,50*	ns
$J_{1 \text{ creep}}$										-0,66**	ns	ns	-0,55*	ns	0,48*	0,48*	ns
μ_0											ns	ns	0,56*	ns	ns	ns	ns
PV												0,85***	ns	0,73***	ns	ns	-0,66**
VC													ns	0,92***	ns	0,72***	ns
BD														ns	ns	-0,81***	ns
VF															0,50*	0,79***	ns
SB																ns	ns
VT																	ns

J_0 : capacitancia instantánea, J_1 : capacitancia elástica retardada, μ_0 : viscosidad estacionaria, PV: Pico de viscosidad; VC: viscosidad de caída o trough; BD: breakdown o estabilidad; VF: viscosidad final; SB: setback o retrogradación; VT: tiempo al que se alcanza la viscosidad máxima y PT: temperatura de *pasting*.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns: no significativo.

5. CONCLUSIÓN

El enriquecimiento de masas de pan libres de gluten con proteínas vegetales fortaleció la consistencia de las mismas, aumentando con el incremento de la dosis y debilitándose en presencia de ácido. La adición de proteínas animales mostró comportamientos diferentes en función del tipo de proteína y muy variables en función de la dosis y de la presencia de ácido, especialmente para masas con caseína. La acidificación ejerció una menor deformación en masas con proteínas animales que vegetales y el efecto de la dosis varió en función del tipo de proteína. La interacción proteína-ácido hizo aumentar los perfiles de viscosidad, siendo mayores para masas con menor dosis de proteína.

Las proteínas aportan características reológicas adecuadas para procesar y lograr productos libres de gluten. Sin embargo, la dosis de ácido debe ser experimentalmente determinada con el fin de obtener masas con características óptimas. Para completar este estudio, trabajos futuros deben determinar la calidad de los panes a través de propiedades físicas y las características sensoriales.

Agradecimientos

Este Trabajo Fin de Master ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2012-35088) y por la Comunidad de Castilla y León (Proyecto VA252A12-2). Las proteínas utilizadas fueron suministradas gratuitamente por Innovafood, Ferrer Alimentación, Proveedora hispano-holandesa y Armor Proteines.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Bernabé, C.J., Llin, M.L., Pérez C. (Febrero, 2007). La masa madre: el secreto del pan. *Alimentaria*, 51-62.
- Blanco, C.A., Ronda, F., Pérez, B., Pando, V. (2011). Improving gluten-free bread quality by enrichment with acidic food additives. *Food Chemistry*, 127, 1204-1209.
- Cabrera-Chávez, F., Calderón de la Barca, A.M. (2010). Trends in wheat technology and modification of gluten proteins for dietary treatment of coeliac disease patients. *Journal of Cereal Science*, 52, 337-341.
- Crockett, R., le, P., Vodovotz, Y. (2011). Effects of soy protein and egg white solids on the physicochemical properties of gluten-free bread. *Food Chemistry*, 129, 84-91.

- Demirkesen, I., Mert, B., Sumnu, G., Sahin, S. (2010). Rheological properties of gluten-free bread formulations. *Journal of Food Engineering*, 96, 295-303.
- Gallagher E., Kunkel A., Gormley T.R., 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. *European Food Research and Technology*, 218, 44-48.
- Gujral, H.S., Rosell C.M. (2004). Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Research International*, 37, 75-81.
- Iqbal A., Khalil I.A., Ateeq N., Khan M.S. (2006). Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry*, 97, 331-335.
- Katina, K., Arendt, E., Liukkonen, K.H., Autio, K., Flandera, L., Poutanen, K. (2005). Potential of sourdough for healthier cereal products. *Food Science and Technology*, 16, 104-112.
- Lawal, O.S., Lapasin, R., Bellich, B., Olayiwola, T.O., Cesàro, A., Yoshimura, M., Nishinari, K. (2011). Rheology and functional properties of starches isolated from five improved rice varieties from West Africa. *Food Hydrocolloids*, 25, 7, 1785-1792.
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C.G., (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79, 1033-1047.
- Marco, C., Rosell, C.M., (2008a). Effect of different protein isolates and transglutaminase on rice flour properties. *Journal of Food Engineering*, 84, 132-139.
- Marco, C., Rosell, C.M. (2008b). Functional and rheological properties of protein enriched gluten free composite flours. *Journal of Food Engineering*, 88, 94-103.
- Marco, C., Rosell, C.M. (2008c). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 227, 1205-1213.
- Mariotti, M., Lucisano, M., Pagani, M.A., Ng, P.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.
- Miles, M.J., Morris, V.J., Orford, P.D., Ring, S.G. (1985). The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate Research*, 135 (2), 271-281.
- Miñarro, B., Albanell, E., Aguilar, N., Guamis, B., Capellas, M. (2012). Effect of legume flours on baking characteristics of gluten-free bread. *Journal of Cereal Science*, 56, 476-481.
- Moore, M., Tilman, T.S., Dockery, P., Arendt, E.K. (2004) Textural comparisons of gluten-free and wheat-based doughs, batters, and breads. *Cereal Chemistry*, 81 (5), 567-575.
- Moore, 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. *European Food Research and Technology*, 226, 1309-1316.
- Nikolić, N., Dodić, J., Mitrović, M., Iazić, M. (2011). Rheological properties and the energetic value of wheat flour substituted by different shares of white and brown rice flour. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 17 (3), 349-357.

- Ohishi, K., Kasai, M., Shimada, A., Hatae, K. (2007). Effects of acetic acid on the rice gelatinization and pasting properties of rice starch during cooking. *Food Research International*, 40, 224-231.
- Regina, C., Da Rosa, E., Arocha, M, Cardoso, M., Rosell, C.M., Guerra, AR. (2013). Protein enrichment and its effects on gluten-free bread characteristics. *Food Science and Technology*, 53, 346-354.
- Ribotta, P.D. y Rosell, C.M. (2010). Effects of enzymatic modification of soybean protein on the pasting and rheological profile of starch–protein systems. *Starch*, 62, 373-383.
- Ronda, F., Pérez-Quirce, S., Angioloni, A., Collar, C. (2013). Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behaviour of gluten-free formulated rice doughs: A fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids*, 32, 252-262.
- Ryan, K.J., Brewer, M.S. (2007). In situ examination of starch granule-soy protein and wheat protein interactions. *Food Chemistry*, 107, 619-629.
- Sivaramakrishnan, H., Senge, B., Chattopadhyay, P.K. (2004). Rheological properties of rice dough for making rice bread. *Journal of Food Engineering*, 62, 37-45.
- Ziobro, R., Witczak, T., Juszcak, L., Korusa, J. (2013). Supplementation of gluten-free bread with non-gluten proteins. Effect on dough rheological properties and bread characteristic. *Food Hydrocolloids*, 32, 213-220.