



CAMBIOS MICROESTRUCTURALES Y REOLÓGICOS DE MASAS Y PANES SIN GLUTEN

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso 2014/15

Alumno: José Octavio Rivera Flores

Tutor: Manuel Gómez Pallarés

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

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

Resumen

El estudio de la microestructura de las masas y panes sin gluten nos permite predecir el comportamiento de estos durante los procesos de elaboración y por ende la maquinabilidad de los mismos. Se hizo un análisis reológico de masas sin gluten y un análisis de perfil de textura (TPA) a los panes elaborados a partir de estas, también se tomaron imágenes por medio del microscopio electrónico de barrido, tanto de las masas como de los panes. Para hacer el perfil reológico se hicieron ensayos oscilatorios a las muestras de masas a 0, 45 y 90 minutos de fermentación sin inactivar a la levadura. Se hicieron también ensayos de deformación-relajación a las masas obteniendo las gráficas para los valores de capacitancia elástica (J) contra el tiempo (s), de cada masa según su tiempo de fermentación. Las masas con 90 minutos de fermentación presentaron mayores valores en cuanto a sus módulos dinámicos y de entre ellos el módulo de elasticidad (G') resultó mayor en cada masa. Las capacitancias elásticas resultaron menores en las masa con 90 minutos de fermentación y mayores en las masas de 45 minutos. En cuanto a la textura los panes de almidón demostraron mayor elasticidad y menor dureza que los de harina y por medio de la imágenes obtenidas por SEM y el TPA se encontró que los cambios texturales derivan sobre todo de la pérdida de agua durante el horneado.

Abstract

The study of the microstructure of gluten-free dough and bread allow predicting their behaviour during manufacturing and therefore their machinability. In this work, the rheology (oscillatory and creep-recovery tests) and microstructure of gluten-free dough at different fermentation times (0, 45 and 90min) as well as the texture (TPA) and microstructure of crumb and crust at the middle and at the end of the baking step. Doughs proofed for 90 min displayed higher values of their dynamic moduli, whereas showing lower elastic capacitances. These changes were attributed to the evolution of the bubbles of fermentation gas produced by yeast as well as to the consumption and production of other compounds, such as sucrose, ethanol and organic acids. With regard to the texture, breads made with starch showed higher elasticity and lower hardness than those made with flour. In addition, SEM and TPA results showed that microstructural changes were attributed to the water loss during baking.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

1. Introducción

En el trigo (*Triticum aestivum* L.) las proteínas de reserva comprenden de 80 a 85 % del total de proteínas presentes en el grano. Estas proteínas de reserva ya hidratadas y orientadas forman una red insoluble llamada gluten. El gluten es una proteína de bajo valor nutritivo, cuyo uso se masificó debido a su capacidad de retener aire en la matriz proteica facilitando que la masa se adhiera mejor, fenómeno que favorece la elaboración del pan. (Parada y Araya, 2010). Las propiedades visco-elásticas del gluten dependen de factores como el genotipo y la distribución de las principales fracciones de proteínas de gluten (gliadinas y gluteninas). En los últimos años el gluten está ocupando un lugar importante en la mente de los consumidores, debido a que se ha sido relacionado con una serie de desórdenes y patologías que se ha demostrado son causadas por este. En general son tres las patologías relacionadas a la ingesta de gluten, que parecen estar aumentando en importancia: 1) la alergia alimentaria que afecta 0.2-0.5% de la población, pero tiene implicaciones clínicas más fuertes; 2) la enfermedad celíaca, que es un trastorno autoinmune causada por la la ingestión de gluten (de 0.1% a 1,6%); y 3) la sensibilidad al gluten, una patología de la intolerancia al gluten que recientemente ha sido redescubierto, que excluye la enfermedad celíaca y la alergia al trigo, con un prevalencia estimada de 6% para la población EE.UU. (Rosell et al., 2014). La enfermedad celíaca (EC) es un trastorno sistémico, de naturaleza autoinmune. Es causada por una intolerancia permanente al gluten, que aparece en individuos genéticamente predispuestos y afecta de forma primaria, aunque no exclusivamente, al sistema digestivo. Su mecanismo de acción se define por la presencia de un proceso inflamatorio crónico que afecta a la mucosa y submucosa del intestino delgado y se caracteriza desde el punto de vista clínico, por la presencia de diversas manifestaciones sistémicas (Parada y Araya, 2010). Puede aparecer a cualquier edad de la vida, tanto durante la infancia como en la adolescencia y es muy frecuente también su aparición en edades adultas.

Las gliadinas son la fracción soluble en alcohol del gluten y contienen la mayor parte de los componentes tóxicos para los celíacos; son ricas en glutamina y prolina, cuya digestión en el tracto gastrointestinal es más difícil que el de otros péptidos.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

Experimentalmente, se ha demostrado que después de digerir gliadina *in vitro* existen regiones sin digerir, produciéndose un péptido de a-gliadina compuesto por 33 aminoácidos (33-mer), resistente a proteasas gástricas, pancreáticas y del borde en cepillos del intestino humano. La vida media del péptido 33-mer es mayor a 20 horas, por lo que se especula que tendría amplia oportunidad para actuar como antígeno y estimular la proliferación de células malignas, induciendo fenómenos de toxicidad en los individuos genéticamente susceptibles. En experimentos *in vitro*, se ha visto que ciertos linfocitos aislados de mucosa intestinal de pacientes celíacos no tratados reconocen un péptido semejante al 33 a-gliadina. La estimulación de los linfocitos lleva, de manera aún no establecida, a la cascada inmune que resulta en la respuesta inflamatoria y daño de la mucosa propia del celíaco (Arentz-Hanzen, 2000).

Aunque en muchas regiones del mundo la enfermedad celiaca está lejos de ser una preocupación real (principalmente en regiones donde la alimentación se basa en maíz y/o arroz) es un hecho bien conocido que la intolerancia al gluten, representa un problema de salud pública a nivel mundial muy importante pues son muchos los productos alimentarios que tienen gluten en su composición (Lo et al., 2003).

A pesar de los avances médicos que se han hecho en la comprensión de la patogénesis y el desarrollo de la enfermedad celiaca y la intolerancia al gluten en general, en la actualidad el único tratamiento seguro y eficaz contra la enfermedad celiaca es una dieta totalmente libre de alimentos que contienen gluten, es decir, aquellos alimentos que contienen ingredientes a base de trigo, centeno, cebada (Ciclitira et al., 2005) así como aquellos a base de trigo duro, trigo espelta, kamut, escanda y triticale. El problema de una dieta libre de gluten radica en que el trigo es uno de los principales componentes de la alimentación diaria en todo el mundo, así como el ingrediente básico de la mayoría de productos de panadería, por lo que apearse a una dieta libre de gluten puede resultar muy complejo y puede abrumar fácilmente a las pacientes que sufren algún trastorno relacionado con este (Kupper, 2005)

Uno de los principales problemas para quienes sufren intolerancia al gluten y que por tanto buscan apearse completamente a una dieta libre del mismo, es encontrar alimentos libres de gluten cuya calidad sea igual a aquellos alimentos que si lo tienen.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

A pesar de que hoy día existe una amplia cartera de productos sin gluten disponibles en el mercado, los productos horneados a base de ingredientes sin gluten generalmente son de mala calidad debido a la falta de la red de gluten (Arendt et al., 2002). En el trigo las gliadinas (prolaminas) son responsables de la cohesión de la masa, mientras que las gluteninas (glutelinas) son aparentemente responsables de la resistencia de la masa a la extensión (Hoseney, 1994).

La fabricación de pan sin gluten elaborado a partir de harina de arroz, harina de maíz y almidón de maíz 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).

La combinación de estas dos proteínas es fundamental para la calidad de los alimentos con gluten pues forman el complejo de la red de gluten, y es esta red de gluten es la que confiere a la masa cualidades y propiedades viscoelásticas únicas y la capacidad de retener los gases, lo que resulta en panes y productos de buena de calidad. Tales propiedades no se encuentran en las proteínas de harinas sin gluten (como las de arroz o maíz). En el caso especial de los panes sin gluten el enfoque para buscar la sustitución del gluten se ha centrado en la adición de polímeros en la formulación, sustancias tales como la goma de xantano e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) con el fin de imitar las propiedades de gluten con un éxito discutible (Ahlborn et al., 2005; Gallagher et al., 2003).

Es por todo lo anterior que estudiar las propiedades microestructurales y reológicas de los productos sin gluten se vuelve cada vez mas importante, de vista a que la población con intolerancia va en aumento y que incluso muchas personas que no padecen ningún desorden de estos suelen inclinarse a consumir productos sin gluten por seguridad.

Sumado a lo anterior es importante para las industrias de panificación en general estudiar los perfiles reológicos de las masas elaboradas con harinas y almidones de cereales libres de gluten dado que las cualidades reológicas de las masas sin gluten inciden directamente en la microestructura final de masa y panes y por ende tienen un

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

efecto directo sobre la maquinabilidad de dichas masas y sobre el tipo de productos que se pueden elaborar a partir de las mismas (Lazaridou y Biliaderis, 2009).

El conocimiento de las características reológicas de los productos alimentarios es necesario para el desarrollo de nuevos productos. Nos permiten obtener una idea más clara a nivel cuantitativo 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).

Como es de esperar (y dada su importancia comercial) se han hecho numerosos estudios sobre microestructura de panes con gluten y las variables que influyen en ella (Bahal et al. 2013, que estudiaron la influencia de la lipoxigenasa del germen de trigo en la reología de las masas y su influencia en la calidad del pan; Barcenas y Rossel; 2005, que estudió la influencia del HPMC en la microestructura del pan con gluten; Eckardt et al. 2013, que estudió el efecto del tiempo de almacenamiento, la temperatura de almacenamiento y la adición de fibra en la calidad sensorial, estado del agua, la microestructura y la textura del pan y masa de trigo; Lampignano et al. 2013, en el que se estudió la influencia del contenido de levaduras sobre la microestructura durante la fermentación y sobre el pan de trigo; Lasekan et al. 2011, que estudiaron la influencia de diferentes preparaciones a partir de zumo de piña sobre la microestructura de panes de trigo; Salmenkallio, Katina y Autio; 2001, que estudiaron la influencia de la levadura y de un preparado de levadura y bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus brevis*) sobre la calidad del pan de trigo); y aunque se han hecho estudios sobre microestructura de panes sin gluten (Alvarez-Jubete et al. 2010, que estudiaron la influencia de pseudocereales quinoa, amaranto y trigo sarraceno sobre la microestructura y textura de panes sin gluten; O'Shea et al. 2013, que estudiaron una formulación de pan sin gluten que contiene 5,5% de orujo de naranja, la influencia de este sobre la microestructura y reología de la harina, de la masa y del pan) y las características sensoriales del pan; Renzetti et al. 2008, que estudiaron el efecto de la transglutaminasa como formador de una red que emula al gluten y por ende que

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

potencia el uso de harinas procedentes de seis cereales sin gluten diferentes (arroz integral, trigo sarraceno, maíz, avena, sorgo y teff) utilizados en la panificación.; Schober et al. 2008, donde se estudió la microestructura de panes sin gluten a base de almidón de maíz y zeína), no existen estudios sobre la evolución y cambios reológicos de masas de harinas y almidones sin gluten a través del proceso de fermentación (diferentes tiempos) ni de la estructura de sus respectivos panes horneados en diferentes tiempos de horneado.

En el presente estudio se realizó un análisis de la reología, textura y microestructura de masas y panes sin gluten. Se trazó el perfil reológico de masas de harina de maíz, harina de arroz y almidón de maíz en diferentes fases (0 minutos, 45 minutos y 90 minutos) de fermentación. También se tomaron datos de la textura de los panes horneados a distintos tiempos de horneado (20 minutos y 40 minutos de horneado). De todo lo anterior se tomaron imágenes por medio del microscopio electrónico de barrido para poder apreciar de manera más clara los cambios microestructurales a través del tiempo de fermentación y de los tiempos de horneado, pudiendo comparar así entre los diferentes ingredientes y dilucidar la evolución microestructural de cada uno.

Se hicieron análisis oscilatorios (barridos de deformación y de frecuencia) y de deformación relajación (Creep recovery) a las muestras de masas a diferentes tiempos de fermentación (0, 45 y 90 minutos de fermentación). Y análisis TPA (Texture Profile Analysis) a las muestras de pan con 20 y 40 minutos horneados.

2. Materiales y Métodos

2.1 Materiales

Los siguientes ingredientes se emplearon en este estudio: harina de arroz gruesa (132-180 μm) proporcionada por Harinera Castellana SL (Medina del Campo, España), hidroxipropilmetil celulosa (HPMC K4M) VIVAPUR de categoría alimenticia (JRS, Rosenberg, Alemania); harina de maíz elaborada por Maiceras Españolas, S.A. (Valencia, España), almidón de trigo ROQUETTE (Lestrem, Francia) y almidón de maíz (MIWON) elaborado por DAESANG Co. (Seoul, Korea).

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

Levadura seca instantánea (Lesaffre, Lille, Francia), sal refinada DISAL (Unión Salinera de España, Madrid), sacarosa (Azucarera, AB, Azucarera Iberia, S.L.V. Madrid, España), aceite refinado de girasol ABRISOL (Ourense, España) y agua.

2.2 Métodos

2.2.1 Preparación de las masas y el pan

Los ingredientes utilizados para la preparación de la masa fueron los siguientes (medidos en g/100g de harina, almidón o mezcla): sal (1.8g), aceite refinado de girasol (6g), HPMC (2g), azúcar (5g), levadura (3g) y agua (100g a una temperatura de 20 a 22°C).

Se prepararon cinco tipos diferentes de masas, según la base fueron de 100% de: harina de arroz gruesa (HA), de almidón de maíz (AM), de harina de maíz (HM), almidón de trigo (AT) o de 50% de almidón de maíz y 50% harina de arroz (AMHA).

Se pesaron y mezclaron los ingredientes sólidos en el contenedor de la mezcladora, excepto la levadura que se disolvió aparte con el agua. Para la preparación de las masas se utilizó una mezcladora Kitchen-Aid Artisan (5KSM150, KitchenAid, St. Joseph, Michigan, EE.UU.) con un gancho de la pasta (K45DH). Primero se mezclaron los ingredientes, excepto la levadura y el agua, a velocidad 1 por 1 minuto, luego se hidrató a la levadura con el agua y se mezclaron con el resto de ingredientes a velocidad 2 por 8 minutos.

A continuación se llevó a cabo la fermentación. La fermentación de las masas se realizó en una cámara fermentadora a 28°C y 90% de humedad. Las muestras se dividieron según sus tiempos de fermentación en masas de 0, 45 y 90 minutos de fermentación. Una vez cada muestra hubo cumplido sus tiempos de fermentación se sometieron de inmediato a congelación a -21°C (en el caso de la muestra de 0 minutos fue sometida a congelación lo más inmediato tras terminar el mezclado).

El horneado de los panes para los ensayos de textura se hizo en un horno eléctrico SALVA a 190°C. Se hornearon dos tipos de panes. Uno se horneó por 20 minutos (pan medio horneado) y otro se horneó por 40 minutos (pan total horneado). Una vez horneados se desmoldaron y se dejaron enfriar por 60 minutos y luego se envasaron en bolsas de polietileno selladas para prevenir la deshidratación. Los panes se almacenaron por 24 horas en una cámara a temperatura a 30°C..

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

Para reología de masas: se vertieron 100g de masa en moldes pequeños de aluminio de 140x40x35. De estas muestras se obtuvieron tres tipos de masas fermentadas diferenciadas por los tiempos de fermentación. Para cada una de las bases se prepararon y por duplicado masas de 0 minutos de fermentación, de 45 minutos de fermentación y de 90 minutos de fermentación por cada masa. Cada muestra con un peso de 100g. 6 muestras por base para un total de 18 muestras.

Para textura de pan: se vertieron 250g de masa en moldes de aluminio de 232x108x43.5 mm. De estas masas se obtuvieron dos tipos de panes. Para cada clase de masa se obtuvieron dos tipos de panes, pan de 20 minutos de horneado y pan de 40 minutos de horneado. Cada pan se hizo por duplicado. 4 panes por cada tipo de masa para un total de 12 panes.

2.3 Reología de masas

El comportamiento reológico de las masas se estudió usando un reómetro deformación controlada **Thermo Scientific Haake RheoStress1** (Thermo Fisher Scientific, Schwerte, Alemania) y un baño de agua de temperatura controlada **Phoenix II P1-C25P** (Fijado en 25°C).

El reómetro se equipó con un juego de placas paralelas (placas dentadas, de titanio y de 60 mm **PP60 Ti**) dejando para el ensayo una brecha de 3 mm. Después de establecer la brecha 3 mm, el exceso de masa era eliminado y se aplicó vaselina líquida para evitar la deshidratación (Panreac, Panreac Química SA, Castellar del Vallés, España). La masa de cada ensayo descansó durante 300 s antes de que el equipo procediera a medir. Las muestras fueron analizadas por duplicado.

En primer lugar se realizó una prueba de **barrido de deformación** a 25 ° C con un rango de deformación de 0,1-100 Pa y una frecuencia constante de 1 Hz para identificar la región viscoelástica lineal. Sobre la base de los resultados obtenidos, un valor de tensión incluida en la región viscoelástica lineal se utilizó en una prueba de **barrido de frecuencia** a 25 ° C con un rango de frecuencia de 100 a 0,1 Hz. Valores del módulo elástico (G' [Pa]), módulo viscoso (G'' [Pa]), módulo complejo (G^* [Pa]) y la tangente de pérdida ($\tan\delta$) fueron obtenidos para diferentes valores de frecuencia (Hz).

El módulo viscoso y elástico y la $\tan\delta$ obtenidos en los barridos de frecuencia se ajustaron a ecuaciones potenciales del tipo:

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

$$G'(\omega) = G'_0 \omega^a$$

$$G''(\omega) = G''_0 \omega^b$$

$$\text{Tan}\delta(\omega) = \text{Tan}\delta_0 \omega^c$$

Donde los coeficientes G' , G'' y $\text{Tan}\delta$ representa el modulo elástico, modulo viscoso y la tangente de perdida en un valor de frecuencia de 1Hz. Los parámetros a, b y c representan parámetros experimentales y ω la frecuencia angular en rad^{-1} .

En las pruebas de deformación relajación, la masa se descansó durante 600 s para permitir relajación antes de la medición. Los ensayos de deformación fueron hechos aplicando una tensión de corte en la región viscoelástica lineal durante 60 s. En la fase de relajación, la tensión se retiró y la muestra se dejó reposar durante 180 s para obtener datos de la parte elástica de la deformación. Cada ensayo se realizó por duplicado. Los datos de los ensayos de deformación relajación se describen en términos de **capacitancia elástica** o *compliance*, **J (1/Pa)**, que se define como la deformación lograda dividida por el esfuerzo aplicado (mantenido constante durante el ensayo de fluencia).

$$J = \Upsilon/\tau$$

Donde Υ es la deformación lograda y τ es el esfuerzo constante aplicado.

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). Para la zona del **Creep** la ecuación utilizada fue:

$$J_c = f(t) = J_0 + J_1 \left(1 - \exp\left(\frac{-t}{r_1}\right) \right) + \frac{t}{\mu_0}$$

J_c es la capacitancia en la zona del Creep, J_0 es la capacitancia instantánea, J_1 es la capacitancia elástica retardada, r_1 es el tiempo de retardo y μ_0 es 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:

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

$$J_r = f(t) = J_0 + J_1 \left(1 - \exp\left(\frac{-t}{\tau_1}\right) \right)$$

Donde J_r es la capacitancia en la zona del recovery.

Los ensayos oscilatorios de barrido de deformación y barrido de frecuencias y el ensayo de deformación relajación (Creep recovery) se hicieron para cada masa (masas de almidón de maíz, de harina de arroz y de harina de maíz y para cada una a diferentes tiempos de fermentación; 0, 45 y 90 minutos de fermentación y por duplicado).

2.4 Ensayos de Perfil de Textura (TPA)

La textura de la miga se midió con un textuómetro TA-XT2 (Stable Microsystems, Surrey, UK) controlado con el software "Texture Expert". Se utilizó una sonda cilíndrica de aluminio de diámetro 25 mm en una prueba de doble compresión para penetrar a 50% de la profundidad de la muestra a una velocidad de 2 mm/s y con un retardo de 30 segundos entre la primera y segunda compresión. La dureza (N), la adhesividad, la gomosidad, la resiliencia fueron calculados a partir del perfil de textura (TPA) obtenido. Los análisis se realizaron en rebanadas gruesas de 30mm, 24 horas después del horneado. Los análisis se realizaron por triplicado para cada tipo de pan según tiempo de horneado (total y medio horneados) y para cada tipo de pan según la base utilizada para elaborarlo (almidón de maíz, harina de maíz o harina de arroz).

2.5 Microscopía electrónica

Las microfotografías de masa fueron tomadas con una Quanta 200FEI (Hillsboro, Oregon, EE.UU.) microscopio electrónico de barrido (ESEM).

2.6 Análisis estadística

Para el diseño del experimento se utilizó Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies Inc, Warrenton, USA). Si aplicó el test de Fisher y se obtuvieron las medias, correlaciones y diferencias significativas entre las medias según los factores de base utilizada (almidón, harina o mezcla) y de tiempos de fermentación u horneado.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

3. Resultados y discusión

3.1. Imágenes de masas y panes a través de Microscopía Electrónica de Barrido Ambiental (ESEM).

Por medio del microscopio electrónico se obtuvieron imágenes de cada masa según su tiempo de fermentación (0, 45 y 90 minutos) y según la base utilizada para elaborarla. También se tomaron imágenes de la miga y de las cortezas de los panes a media fermentación (20 minutos) y a fermentación total (40 minutos). Se observaron diferencias en cada imagen tomada y se compararon con masas y panes de trigo.

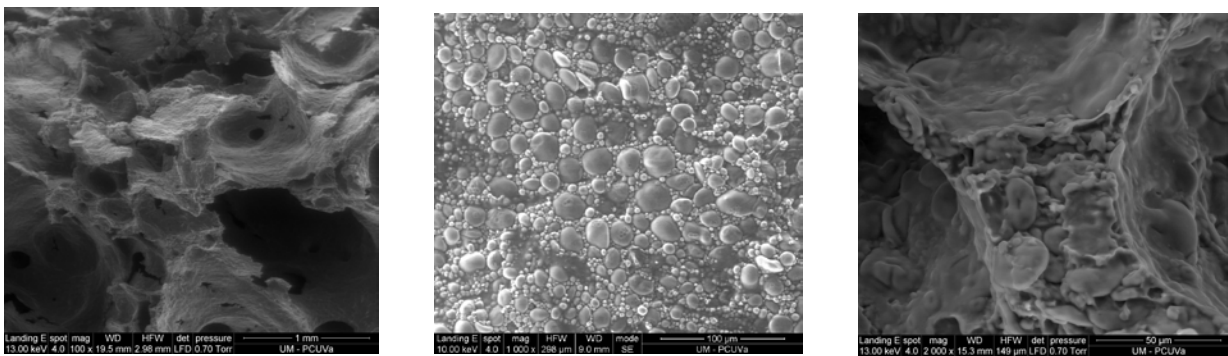


Figura 1. De izquierda a derecha. Miga de pan de trigo (100x), masa de trigo (1000x) y masa de trigo (2000x).

Para fines comparativos se aprecia en la figura 1 como el gluten forma una red que da a la masa y a la miga su estructura. En la foto del medio se ve la masa de trigo, en ella se ve que el tamaño bimodal del los gránulos de almidón en trigo refuerza la masa y por consiguiente refuerza la miga del pan como se observa también en las fotos de pan. Esta situación es diferente en la imagen de panes sin gluten.

En la figura 2 se pueden observar los cambios microestructurales de las masas según sus tiempos de fermentación (0, 45 y 90 minutos) y de las migas según su tiempo de horneado (20 y 40 minutos). La primera fila de imágenes corresponde a masas y migas de almidón de maíz (AM). Se puede ver que las masas están constituidas de gránulos de almidón que difieren poco de tamaño entre sí. Durante la fermentación no se aprecian cambios microestructurales grandes sufridos por los gránulos en sí mismo y el único cambio apreciable que se ve en cada masa corresponde al ocasionado por la presencia de gas derivado de la fermentación. En la primera imagen (comenzando de izquierda a derecha) se puede ver que la masa presenta una apariencia homogénea y constante, como es de esperar dado que su tiempo de fermentación

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

es nominalmente 0. En la segunda imagen se ve que la masa ya presenta poros resultado de la generación de gases por efecto de las levaduras. Y en la tercera imagen (90 minutos de fermentación) siempre la presencia de poros con un ligero aumento de tamaño respecto a la segunda imagen. De todo ellos se puede decir que en la masa el único cambio apreciable y que sería el que afecta las cualidades reológicas de la masa es la presencia de gas. Los gránulos de almidón no sufren cambios apreciables aunque no es descartable un ligero hinchamiento de los gránulos de almidón.

En las imágenes correspondientes a las masas de harina de maíz (HM). La diferencia entre las masas en este caso es apenas apreciable, esto puede derivar del hecho de que las masas de maíz se desplomaron durante la fermentación lo que les hizo perder el gas que había acumulado por efecto de la levadura, por lo cual y dado que las levaduras no afectan a los gránulos de almidón en sí mismos la microestructura no cambia.

Para el caso de las masas de harina de arroz pueden verse los gránulos de almidón intactos a través del proceso de fermentación y la única diferencia apreciable deriva de la presencia de los poros formados por la acumulación de gases. Para el caso de las masas de harina de arroz estas también sufrieron un ligero desplome durante la fermentación lo que al igual que en el caso de las masas de harina de maíz causó pérdida de gases.

Para el caso de las migas se pueden ver para cada caso según las masas que los tiempos de horneado no causan cambios apreciables en la apariencia de la microestructura de la miga. Naturalmente en las migas, los gránulos de almidón han perdido su forma debido a la gelatinización causada por el calor durante el horneado. De lo anterior se puede decir que de 20 a 40 minutos de horneado el cambio entre las migas se dió principalmente por efecto de la pérdida de agua que se evaporó durante el horneado del pan.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

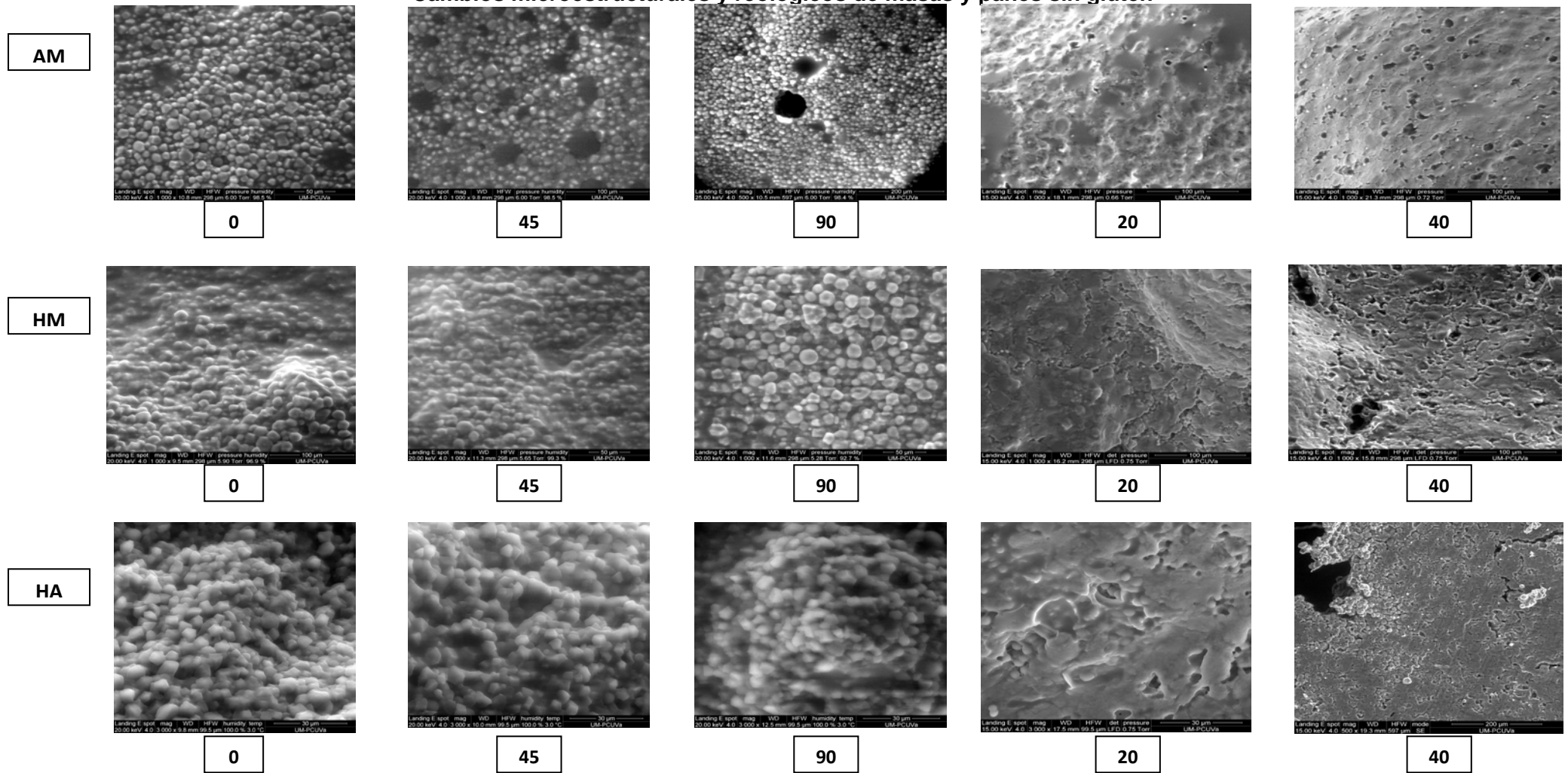


Figura 2. De izquierda a derecha. Masa a 0, masa a 45, masa a 90 minutos de fermentación, miga de pan medio horneado (20 minutos) y miga de pan total horneado (40 minutos).

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

3.2 Ensayos Oscilatorios

Se realizó un ensayo oscilatorio para estudiar el comportamiento viscoelástico de las masas de almidón de maíz (AM), harina de maíz (HM), harina de arroz (HA), almidón de trigo (AT) y mezcla de 50% almidón de maíz y 50% harina de arroz (AMHA) a diferentes tiempos de fermentación (Figuras 1, 2, 3, 4 y 5). Se puede observar a través de los valores de los módulos dinámicos de todas las masas que el comportamiento viscoelástico corresponde a llamada meseta de relajación, donde los valores de G' son mayores que los valores de G'' en todo el espectro de frecuencias y ambos módulos dependen de la frecuencia pero siguiendo diferentes comportamientos. Es importante destacar de antemano, que para los ensayos hechos a las masas con 0 y 90 minutos de fermentación no hubo mayores problemas, sin embargo en las masas con 45 minutos de fermentación la fuerte acción de las levaduras afectó los resultados. Por esta razón se realizaron los ensayos de manera inmediata tras la descongelación y en todo caso manteniendo una temperatura de 20°C. En la figura 4 se muestra el espectro mecánico de las masas de almidón de maíz.

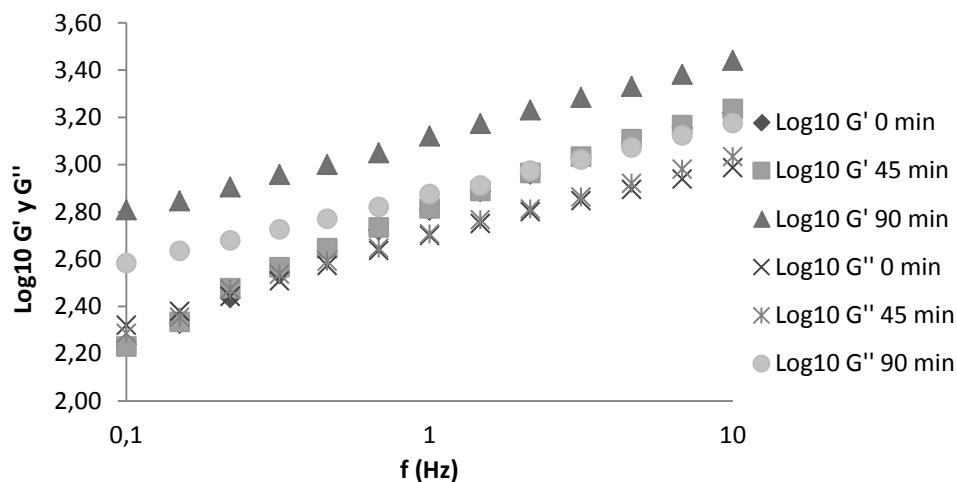


Figura 3. Módulos de elasticidad (G') y de viscosidad (G'') conseguidos del barrido de frecuencias para las masas de almidón de maíz.

En la figura 3 se aprecia que no existen diferencias en el comportamiento de los módulos dinámicos entre las masas a tiempos de fermentación 0 y 45 min. No obstante, las masas fermentadas durante 90 min manifiestan un claro aumento de los módulos dinámicos a lo largo de todo el rango de frecuencias. Además, se observó una menor dependencia de la frecuencia de los módulos dinámicos en las masas a 90 min de fermentación durante el rango

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

de frecuencias de 0.1-0.5Hz, región característica de la ocurrencia de enredos físicos en materiales poliméricos. Durante la fermentación, las levaduras producen una serie de metabolitos, como por ejemplo, el peróxido de hidrógeno, ácido succínico, otros metabolitos ácidos y etanol (Jayaram et al., 2013). En concreto, se ha demostrado que el etanol y otros metabolitos, produce una disminución de la elasticidad y un aumento de la rigidez y tenacidad de las masas de trigo a través de un mecanismo diferente al de los ácidos (Joye et al., 2009). Éstos autores atribuyeron los efectos de oxidación reducción del etanol y de otros metabolitos sobre el gluten. No obstante podríamos además encontrar en lo anterior para el caso de masas sin gluten, explicación sobre las posibles diferencias en el comportamiento reológico de las masas a 90 minutos de fermentación. Por ejemplo, la sacarosa tiene un efecto negativo sobre el HPMC afectando la capacidad de este de mejorar las cualidades viscoelásticas de las masas (Cash y Caputo, 2010), sin embargo al ser la sacarosa uno de los principales sustratos sobre los que actúa la levadura, al final de la fermentación la cantidad de sacarosa se reduce considerablemente por lo que su efecto inhibitor sobre el HPMC desaparece causando que los valores de G' al final de la fermentación sean mayores. La magnitud del efecto inhibitor de la sacarosa en este caso es desconocido, pero es importante considerar que la cantidad de sacarosa y de HPMC en las masas es pequeña, más pequeña aun en comparación con la cantidad de harina o almidón pero es una posibilidad atractiva.

El pH podría también tener un efecto sobre las proteínas y almidones de las masas. La producción de ácidos por las levaduras puede ocasionar que estos interactúen con los almidones presentes en las masas y esto tiene un impacto sobre la reología de las masas (Ulbrich et al., 2014). Dicho impacto en este caso sería mínimo debido a la poca cantidad de proteína en el pan sin gluten.

Otros metabolitos de importancia cuyo efecto sobre la reología puede ser significativo son los gases generados por las levaduras durante la fermentación (como el CO_2 y el aire), y de su expansión volumétrica por efecto de la temperatura como pudo también apreciarse por medio de las imágenes tomadas por SEM. No obstante, éste mayor número de burbujas produciría una disminución de los módulos dinámicos (Martínez et al., 2015) por lo que habría que buscar las otras causas entre los gránulos de almidón, el hidrocoloide y las proteínas en el caso de las harinas, como ya se ha expresado. Sin embargo el efecto de los gases sobre la red de panes sin gluten podría ser muy diferente de su efecto sobre redes de gluten.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

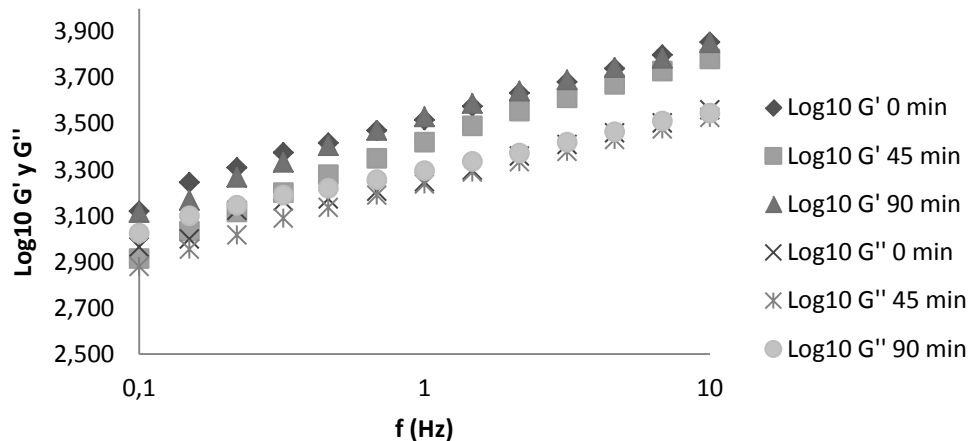


Figura 4. Módulos de elasticidad (G') y de viscosidad (G'') conseguidos del barrido de frecuencias para las masas de harina de maíz.

Para el caso de la figura 4 correspondiente a los módulos dinámicos de las masas de harina de maíz, se puede ver diferencia entre los módulos dinámicos G' y G'' en las que los valores correspondientes a G' son mayores. En cuanto a las masas según sus tiempos de fermentación no se ven claras diferencias entre las masas de 0, 45 y 90 minutos de fermentación. Este comportamiento podría deberse al hecho de que la masa de harina de maíz no mantiene la forma y estructura ganada durante la fermentación. Se pudo observar que la masa iba aumentando su volumen a medida pasaba el tiempo de fermentación pero llegado a un punto la masa perdía su volumen pues dejaba escapar el gas que había retenido durante la fermentación causando que la masa se desplomara sobre si misma por lo que su consistencia al inicio de la fermentación y al final de la misma tenían una gran similitud. Las masas con 45 minutos de fermentación presentaba diferencias (aunque apenas percibibles) debido a que esta no había perdido el gas que había ganado durante la fermentación.

En la figura 5 vemos el caso de las masas de harina de arroz. Como se esperaba todas las masas sin importar su tiempo de fermentación tuvieron valores de G' mayores que los valores de G'' . Se puede observar que entre los módulos dinámicos de las masas con 45 y 90 minutos de fermentación, las diferencias no fueron tan evidentes como se esperaba, pero si son más marcadas las diferencias de las masas con 0 minutos de fermentación con respecto a las otras dos.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

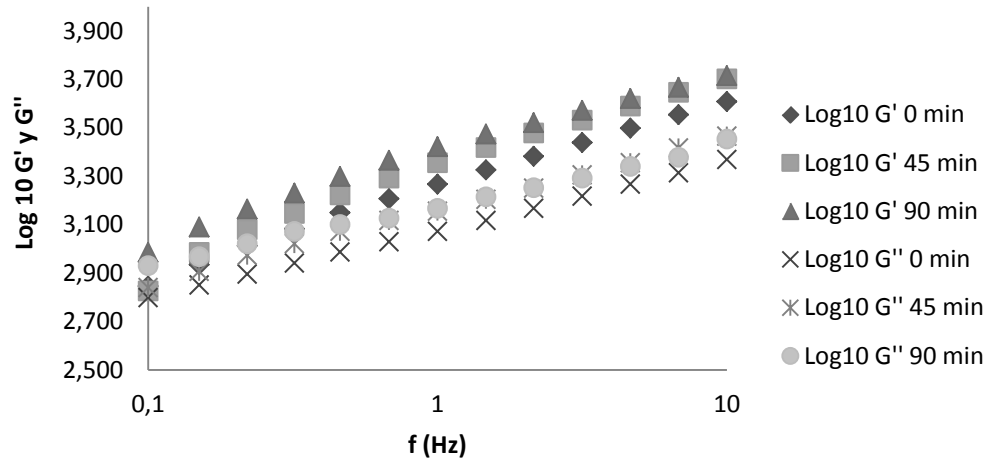


Figura 5. Módulos de elasticidad (G') y de viscosidad (G'') conseguidos del barrido de frecuencias para las masas de harina de arroz.

En las masas de harina de arroz se observó que el mayor cambio aparente (durante la fermentación de las masas) se dió en los primeros 45 minutos de fermentación. De los 45 a los 90 minutos los cambios aparentes fueron mucho menores cosa que puede verse reflejada en la gráfica pues los módulos dinámicos de 0 a 45 minutos de fermentación tiene un cambio apreciable, pero de 45 a 90 minutos de fermentación el cambio fue mucho menor. A partir de ello decimos que su cualidades reológicas fueron alcanzadas a media fermentación y se mantuvieron casi constantes hasta el final de la fermentación. Las masas de harina de arroz no sufrieron desplome al final de la fermentación pero si se observó pérdida de gas, nuevamente se puede decir que la presencia de gas aumenta el valor de los módulos dinámicos para el caso de los panes sin gluten.

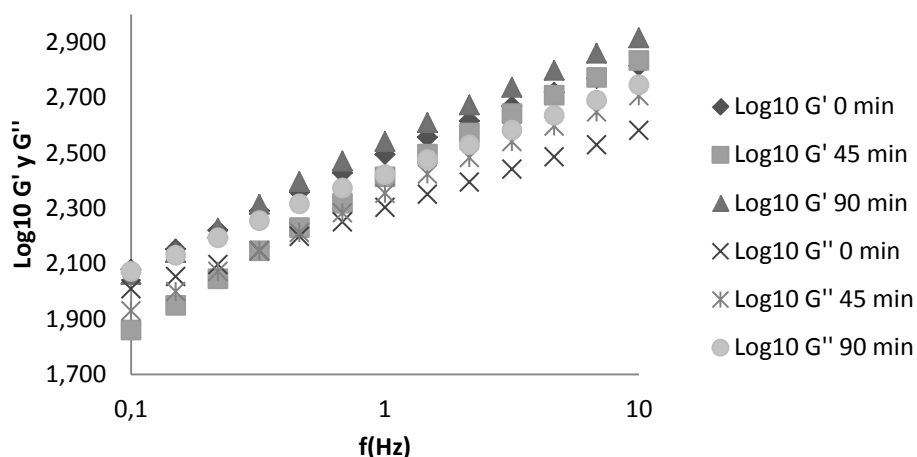


Figura 6. Módulos de elasticidad (G') y de viscosidad (G'') conseguidos del barrido de frecuencias para las masas de almidón de trigo.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

Para el caso del almidón de trigo el comportamiento de las masas con 90 minutos de fermentación fue visiblemente consistente y las masas con 0 y 45 minutos tuvieron un comportamiento más fluido. Podemos ver que el comportamiento de las masas con 0 minutos de fermentación es más constante a lo largo de las frecuencias. Las masas de almidón de trigo con 90 minutos de fermentación mostraron mayor consistencia que las de 0 y 45, lo que nuevamente nos indica que la mayor presencia de gases resultado de la fermentación da mayor consistencia a las masas. Las masas con 90 minutos de fermentación muestran una menor dependencia de la frecuencia y su comportamiento es más constante a través de estas. Las masas hechas de la mezcla AMHA tuvieron un comportamiento esperado. De 0.1 a 1 Hz los tres tipos de masas mostraron valores de G' menores a G'' lo que apunta a un predominio de un comportamiento viscoso. Antes de llegar a 1 Hz se dió la transición y de 1 a 10 Hz los valores de los módulos dinámicos se comportaron de manera más parecida al resto de masas. No hubo diferencias notorias entre las masas según su tiempo de fermentación.

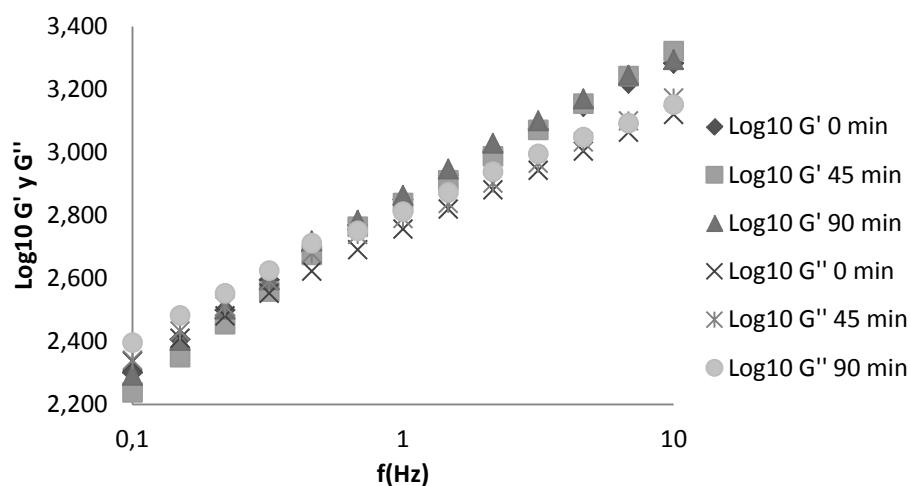


Figura 7. Módulos de elasticidad (G') y de viscosidad (G'') conseguidos del barrido de frecuencias para las masas de AMHA.

3.3 Ensayos de Creep-recovery (Deformación-relajación)

Se llevaron a cabo ensayos de *creep-recovery* con aplicación de esfuerzos entre 0.1-10 Pa, siempre dentro de la zona viscoelástica lineal (LVR). Las curvas obtenidas mostraron un comportamiento viscoelástico típico de masas de pan sin gluten similares a las obtenidas por otros autores (Sivaramakrishnan et al., 2004, Lazaridou et al., 2007). La representación de la

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

capacitancia elástica (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.

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 1. 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. Los efectos de las bases (tipo de almidón o de harina utilizado) y del tiempo de fermentación (0, 45 o 90 minutos) sobre los valores de los parámetros de capacitancia elástica en la fase de deformación (*creep*) y sus equivalentes en la fase de relajación (*recovery*) se muestran en la tabla 2.

3.3.1 Capacitancias elásticas según la base utilizada

Fase de deformación

Respecto a la base utilizada para hacer las masas (tipo de harina, almidón o mezcla utilizada) el análisis estadístico reveló que la **capacitancia elástica instantánea** (J_0) durante la **fase de deformación** (*Creep*) para el almidón de trigo fue más alto que para los demás tipos de masa. Las masas de las dos harinas (maíz y arroz) mostraron los valores de J_0 más bajos, es decir que demostraron estos últimos menor deformación instantánea cuando se aplicó el esfuerzo. La **capacitancia elástica retardada en la deformación** (J_1) en la fase de deformación (*Creep*) resultó mayor para las masas de almidón (de trigo y de maíz) que para el resto de masas. El valor más bajo para J_1 resultó de las masas de harinas (de maíz y de arroz) es decir que presentaron mayor resistencia a la deformación. La **capacitancia máxima** (J_{max}) más alta resultó del almidón de trigo. Las masas de harinas (de maíz y de arroz) demostraron valores de J_{max} más bajos lo que corresponde con los valores vistos anteriormente, pues las harinas alcanzaron menores valores máximos de deformación que los almidones.

Fase de relajación

Para la fase de relajación (*recovery*) de los ensayos de deformación relajación se obtuvieron resultados que corresponden con los obtenidos de la **fase de deformación**. La **capacitancia elástica instantánea para la fase de relajación** (J_{0r}) demostró ser mayor en las masas de almidón de trigo, pudiendo decir que la capacidad de recuperación instantánea en estas masas es significativamente mayor que para el resto de masas. Las masas de harina (de maíz y de arroz) resultaron con valores de J_{0r} menores que las de las demás masas, por lo que decimos

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

que su recuperación instantánea fue menor debido quizá a su mayor consistencia y viscosidad. La **capacitancia elástica de recuperación retardada (J_{1r})** se comportó de la forma esperada según se han visto los valores de los demás parámetros. J_{1r} fue mayor en las masas de almidón de trigo. Para el resto de masas J_{1r} resultó menor y sin diferencias significativas entre ellas, es decir que su recuperación media a la deformación que le fue causada en la fase del creep fue muy similar entre ellas y solo las masas de almidón de trigo se distinguieron. De lo anterior concluimos que según la base utilizada para la elaboración de las masas, los almidones poseen mayor capacidad de deformación y de recuperación, es decir, mayor capacidad elástica que las harinas. Está demostrado que los almidones poseen valores de módulos dinámicos más bajos y valores de capacitancia elásticas más altos que las harinas (Mancebo et al., 2015) El porqué las harinas presentan menores valores en los parámetros de capacitancias elásticas puede tener una explicación en el tamaño de sus partículas de almidón. Las masas de harina contienen partículas de tamaño más grande que las masas de almidón y esto conduce a una estructura más irregular y que a la larga influye sobre su textura (de la Hera et al. 2013). Adicionalmente durante la elaboración de harinas se utilizan métodos de molturación que causan daños mecánicos a los gránulos de almidón, la cantidad de almidón dañado y la presencia de proteínas podría favorecer una mayor absorción de agua por la masa, lo que reduciría el componente elástico en las masas de harina y por ende los valores de las capacitancias elásticas resultarían menores en masas de harinas que en masas de almidón (Lazaridou et al. 2007) lo que corresponde a los resultados obtenidos. Por lo anterior decimos que las masas de almidón son más elásticas que las masas de harinas, y que estas últimas tienen mayor consistencia.

3.3.2 Capacitancias elásticas según los tiempos de fermentación

Fase de deformación

Respecto a los **tiempos de fermentación** se observó que la **capacitancia elástica instantánea (J_0)** fue mayor a 0 minutos de fermentación y que a 90 minutos de fermentación fue menor. Es corresponde a lo visto en los ensayos oscilatorios, pues las masas con 90 minutos de fermentación posee valores de módulo elástico más altos que las masas con 0 minutos de fermentación, es decir, que las masas con 90 minutos de fermentación son más sólidas que las masas con 0 minutos y se ve reflejado en que estas últimas se deformen más al aplicar el esfuerzo. En cuanto a la **J_1** según los tiempos de fermentación, en las masas de 0 y de 45 minutos de fermentación demostró ser mayor y no demostraron ser significativamente

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

diferentes entre ellas. En las masas de 90 minutos de fermentación la J_1 resultó menor que el resto de masas. Respecto a los tiempos de fermentación las masas con 0 y 45 minutos de fermentación tuvieron un mayor J_{max} sin diferencias entre ellas. Las masas de 90 minutos de fermentación tuvieron un menor J_{max} . De lo anterior decimos que la razón por la que la J_{max} de las masas con 90 minutos de fermentación fue menor podría estar relacionada con el hecho de que su consistencia resultara mayor que el de las demás masas. La consistencia cambia a través del tiempo por efecto de la fermentación, debido a que esta juega un innegable papel en la reología de las masas. Lo anterior causa que las masas que están más fermentadas sufran menor deformación por el estado de relajación natural que posee la masa.

Fase de relajación

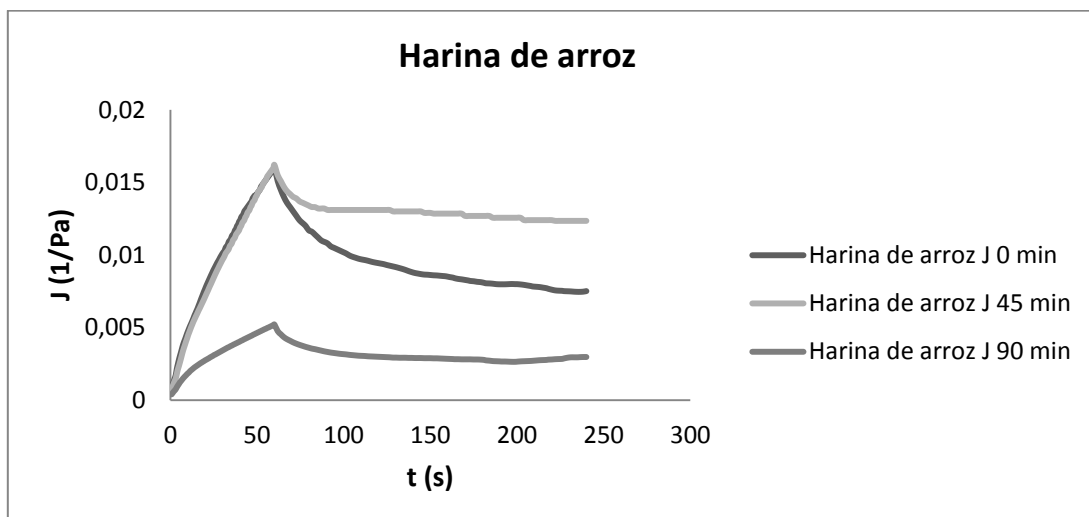
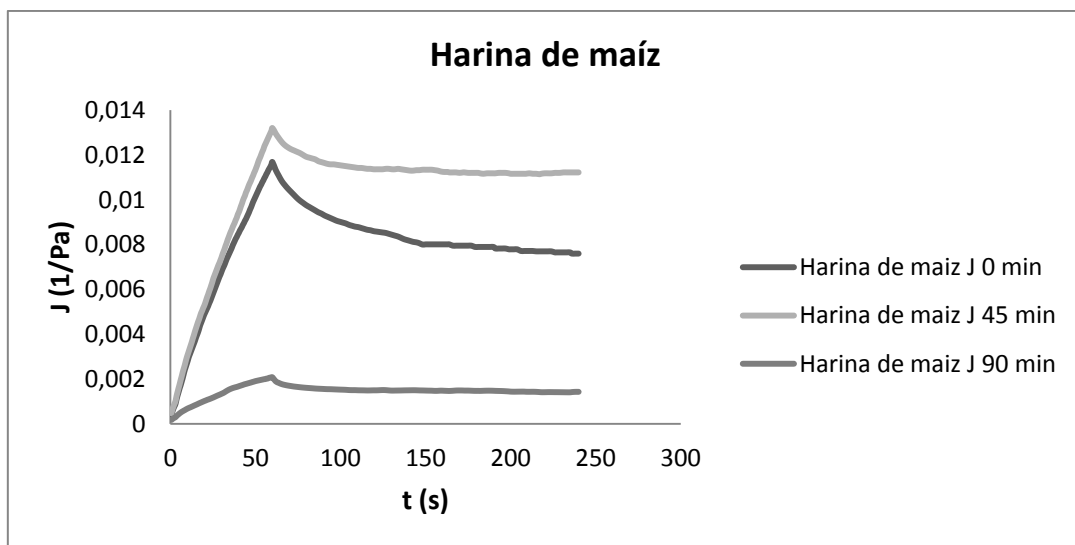
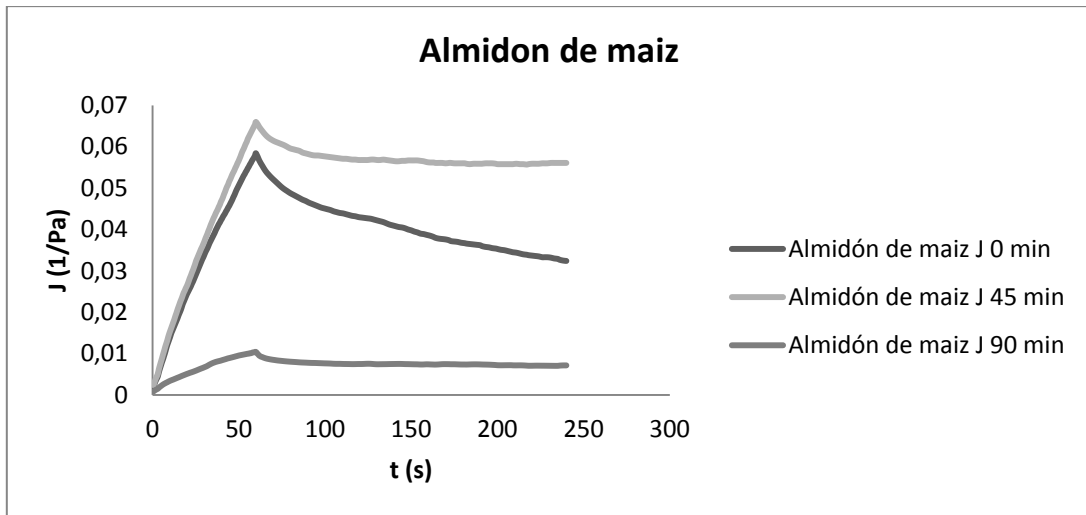
Respecto a los **tiempos de fermentación** los valores de J_{0r} demostraron ser mayores en las masas de 0 y 45 minutos de fermentación sin diferencias entre ellas. Para el caso de las masas con 90 minutos de fermentación demostraron un J_{0r} significativamente menor, es decir que su capacidad de recuperación instantánea es menor que la de las otras masas lo que puede relacionarse con la capacidad de deformación que fue menor en la fase del creep respecto a la de las otras masas. Según se puede apreciar las masas con 90 minutos de fermentación son menos elásticas que las de 0 y 45 minutos. Las masas de 90 minutos de fermentación mostraron el mayor PR. Las masas con 0 minutos y las masas con 45 minutos de fermentación no mostraron diferencias significativas en cuanto a sus valores de PR.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

| Fase Creep | Base de la masa | | | | | Tiempo de fermentación | | |
|----------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|---------------|------------------------|------------|-----------|
| | Almidón de maíz (AM) | Almidón de trigo (AT) | Harina de maíz (HM) | Harina de arroz (HA) | AM-HA (50-50) | 0' | 45' | 90' |
| J0 (1/Pa) | 0,001003b | 0,002103c | 0,000243a | 0,000271a | 0,000814b | 0,0010136b | 0,000888ab | 0,000743a |
| J1 (1/Pa) | 0,009647bc | 0,01316c | 0,002112a | 0,002096a | 0,007281b | 0,007500ab | 0,008228b | 0,004840a |
| r1 (s) | 20,881a | 11,0277a | 13,0207a | 13,0207a | 12,6943a | 14,5298a | 12,7033a | 15,1536a |
| μ0 (Pa.s) | 22181,0a | 1229,38a | 17178,9a | 17178,9a | 2459,39a | 6195,49a | 6424,19a | 23516,9a |
| Jmax | 0,033771b | 0,071516c | 0,009916a | 0,008358a | 0,035133b | 0,036494b | 0,038406b | 0,020318a |
| Fase Recovery | | | | | | | | |
| Jmin | 0,02327b | 0,049266c | 0,006751a | 0,005868a | 0,02545b | 0,025874b | 0,02839b | 0,0121a |
| R² | 99,9579a | 99,9902a | 99,9805a | 99,9768a | 99,9891a | 99,9865a | 99,9835a | 99,9689a |
| J0 (1/Pa) | 0,031508b | 0,06662c | 0,005095a | 0,010529a | 0,033307b | 0,03409b | 0,03686b | 0,01728a |
| J1 (1/Pa) | 0,008745a | 0,01870b | 0,005071a | 0,004149a | 0,007916a | 0,010255a | 0,009743a | 0,006751a |
| r1 (s) | 48,5748a | 48,5219a | 83,7424a | 55,296a | 35,0339a | 72,342a | 47,7521a | 42,6074a |
| R2 | 96,3967a | 97,885a | 94,5855a | 91,3052a | 97,3813a | 92,6414a | 96,5992a | 97,2917a |
| PR(%) | 51,3333a | 53,2583a | 46,1117a | 49,84a | 42,7467a | 45,169ab | 40,137a | 60,668b |

Tabla 1. Tabla de valores de capacitancia para las partes de deformación (creep) y de relajación (recovery) del ensayo de deformación-relajación hecho a las masas. Valores según base de la masa y tiempo de fermentación.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten



Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

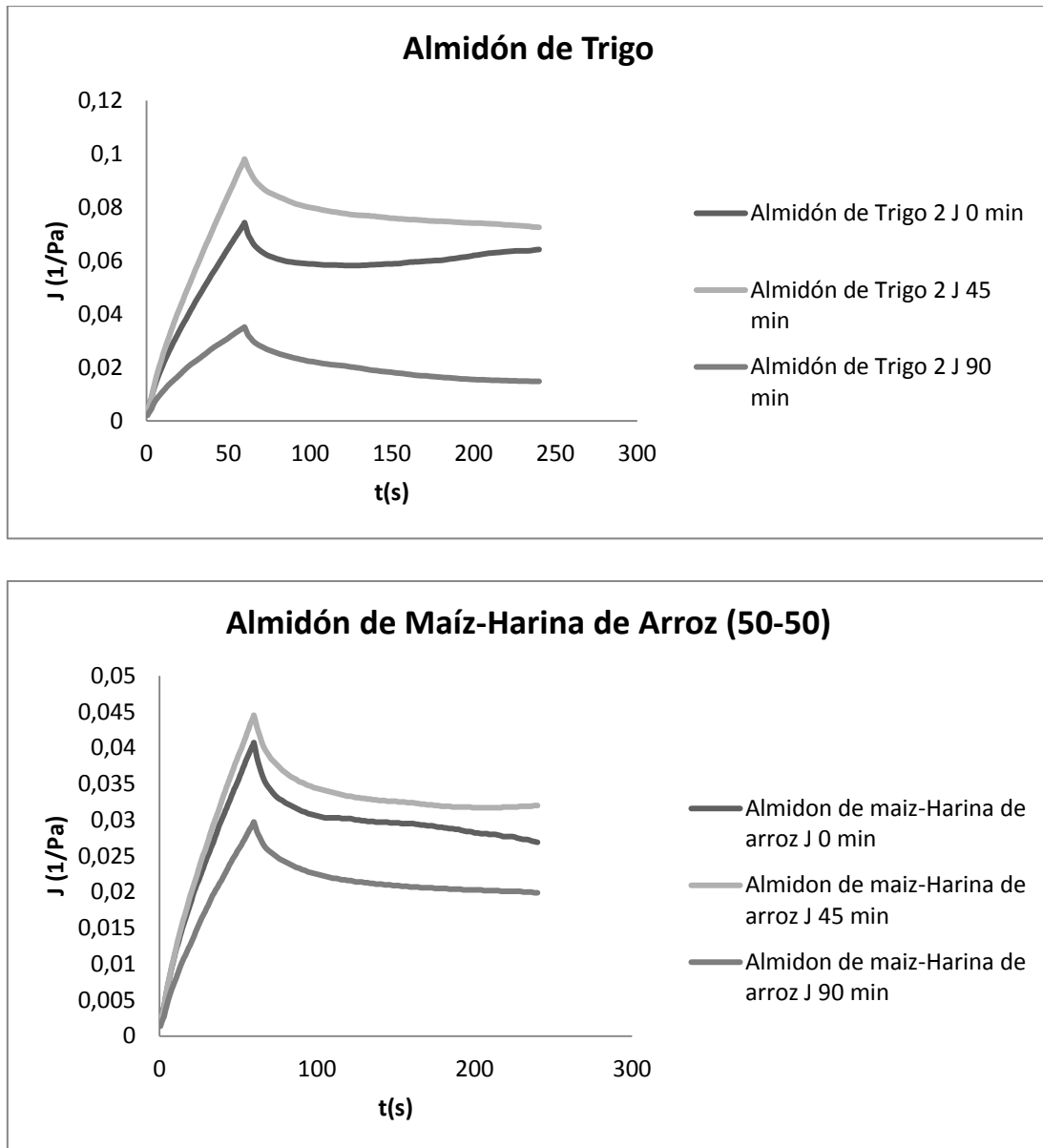


Figura 8. Gráficas de capacitancia elástica en relación al tiempo de fermentación para cada una de las bases utilizadas como ingrediente principal.

En la figura 8 podemos apreciar como las masas con 90 minutos de fermentación muestra una serie de valores de capacitancia claramente inferiores a los de las masas con 0 y 45 minutos de fermentación. Según parece la generalidad de las masas con 45 minutos de fermentación presentan valores de capacitancias más altos que las masas con 0 minutos de fermentación. En los panes con gluten el proceso de fermentación repercute sobre las cualidades elásticas de la masa de distintas formas. Los metabolitos generados por las levaduras durante la fermentación influyen de maneras diferentes sobre las cualidades de las masas. Un hecho innegable es que la levadura actúa sobre el azúcar como sustrato; Jayaram et al. 2013, indican

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

que el 66.6% de las fuentes de carbono fermentable fueron convertidos en etanol, metabolitos primarios y dióxido de carbono y el 14,3% en el glicerol, metabolitos secundarios, ácido succínico y ácido acético. Del total de metabolitos producidos por las levaduras se indica que el 45.9% es etanol, 20.7% CO₂, 11.8% glicerol, 8.8% fructosa, 5.6% glucosa, 4% maltosa y el resto diferentes ácidos orgánicos. Conocer lo anterior es importante de vista a explicar porque al concluir la fermentación (90 minutos) las capacitancias elásticas son menores en todas las masas. También el porqué el módulo de elasticidad resultó mayor en estas masas. Otro factor que puede tomarse en cuenta es que la levadura también contiene glutatión (GSH), que es liberada cuando las células son inactivadas. La elasticidad de la masa disminuye con el aumento de las concentraciones de GSH (Dong y Hoseneey, 1995). Every et al. (2006a) informaron que la textura de la miga se correlaciona negativamente con el nivel de GSH. Dos cosas pueden afectar a la reología de las masas sin gluten con 90 minutos de fermentación. Primero lo ya dicho, la cantidad de metabolitos generados por la levadura durante la fermentación. Y segundo y quizá más importante, el aumento de presencia de gases en el interior de las masas, especialmente la presencia de dióxido de carbono. Es posible que el hecho de que la masa con 0 minutos de fermentación al estar en un estado de no relajación cause valores más altos de capacitancias elásticas y tan diferentes de los valores generados de las masas de 90 minutos de fermentación. De entre los metabolitos generados el etanol y el dióxido de carbono son los que mayor efecto podrían tener sobre los valores de capacitancias elásticas encontrados debido a que son los que en mayor cantidad se producen por la levadura. En el caso del etanol, su efecto sobre el almidón o sobre la red que forma el HPMC es aun un tema no estudiado. Como se dijo para el caso de los ensayos oscilatorios, el pH podría tener un efecto sobre panes con gluten debido a que este tiene un fuerte efecto sobre las propiedades de las proteínas por lo que puede afectar a las propiedades del gluten. Para el caso de panes sin gluten este efecto es mínimo debido a que en el caso de los almidones carecen prácticamente de proteínas y en el caso de las harinas de arroz y de maíz la cantidad de proteínas es muy poca. Lo que es innegable es que lo que causó que las masas con 90 minutos de fermentación resultaran con mayores valores para el módulo de elasticidad, causa también los bajos valores de las capacitancias elásticas en las mismas. Sea que al estar la sacarosa convertida en otros metabolitos por efecto de las levaduras optimice el papel del HPMC, o que la presencia de gases de fermentación altere a la reología de las masas (como ya se describió en la parte de ensayos oscilatorios), lo cierto es que esa causa juega el mismo papel en el caso de las capacitancias elásticas. En cuanto a las masas con 45 minutos de

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

fermentación no cabe duda que la levadura (que aun está viva y sigue fermentando) influye sobre los resultados obtenidos del reómetro.

3.4. Ensayo de textura TPA

En la tabla 2 vemos resumido el análisis estadístico hecho sobre los valores obtenidos del ensayo TPA sobre la miga de los panes con 20 minutos de horneado y con 40 minutos de horneado y según el tipo de harina del que está hecho.

| Variables | Tipo de Pan | | | | | Tiempo de horneado (min) | |
|----------------|-----------------|----------------|-----------------|------------------|--------------|--------------------------|---------|
| | Almidón de maíz | Harina de maíz | Harina de arroz | Almidón de trigo | AMHA (50-50) | 20' | 40' |
| Dureza | 1,25a | 6,73325b | 0,73225a | 0,95675a | 0,73475a | 1,6849a | 2,4779b |
| Elasticidad | 0,95525d | 0,75a | 0,83325b | 0,982625d | 0,882c | 0,86955a | 0,8917a |
| Cohesividad | 0,5605b | 0,322a | 0,5765b | 0,681375c | 0,5785b | 0,54435a | 0,5432a |
| Masticabilidad | 0,66475b | 1,54875c | 0,35525a | 0,642375b | 0,38225a | 0,61785a | 0,8195b |
| Resiliencia | 0,41475c | 0,141a | 0,3275b | 0,567875d | 0,35925bc | 0,36145a | 0,3627a |

Tabla 2. Análisis de perfil de textura para panes sin gluten según base utilizada y tiempos de horneado.

En cuanto a la dureza (fuerza requerida para comprimir un alimento) según la base utilizada, los panes de harina de maíz demostraron tener mayor dureza que los demás. Los otros cuatro tipos de panes no demostraron diferencias significativas entre ellos. Después del horneado el pan de maíz no demostró tener una miga esponjosa, sino una característica textura casi quebradiza contrario a los demás panes que mostraron una miga esponjosa; esto corresponde a los resultados obtenidos en los ensayos oscilatorios y en los ensayos de deformación relajación pues mayores valores de módulos elásticos (G') y bajos valores de capacitancias se traduce en menor elasticidad y esta a su vez en mayor compactación y dureza en las harinas (Mancebo et al., 2015). Por lo general la dureza de los panes sin gluten es mayor a su elasticidad lo que limita la posibilidad de migas esponjosas (Dana et al. 2014). La elasticidad (tasa a la que un material deformado regresa a su condición inicial) fue mayor en los panes de almidón de maíz y de almidón de trigo sin diferencias entre ellos. Los panes de harina de maíz

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

demonstraron la menor elasticidad que también podrían estar relacionados a su esponjosidad. Debido a que estos demostraron ser los únicos panes con miga que podía fracturarse es natural que su elasticidad fuera, y con diferencia, menor que la de los demás. En cuanto a la cohesividad (resistencia de la estructura interna del alimento) los panes de almidón de trigo de mostraron los valores más altos y los panes de harina de maíz mostraron los valores más bajos. El hecho de que el pan de almidón de trigo sea el más elástico está asociado a que se necesite mayor esfuerzo para causar una deformación, y la baja elasticidad de los panes de harina de maíz se sabe es causa de su fácil deformación. La masticabilidad (energía necesaria para masticar un alimento) resultó más alta en los panes de harina de maíz, derivado de su dureza. El menor valor de masticabilidad fue obtenido de los panes de harina de arroz y el pan de la mezcla AMHA. Los panes de almidón de trigo y de almidón de maíz no tuvieron diferencias significativas entre ellos. La resiliencia (capacidad de recuperación instantánea) resultó mayor en los panes de almidón de trigo , esto está de acorde a la mayor capacidad elástica de sus masas sin hornear y su mayor elasticidad en miga. La menor resiliencia fue mostrada por los panes de harina de maíz que corresponde bien a su mayor dureza y baja elasticidad. Entre los panes de almidón de maíz y los panes de la mezcla AMHA no mostraron diferencias significativas entre ellos. En cuanto a los panes según los tiempos de horneado las características de textura fueron las siguientes. La dureza resultó mayor en los panes con 40 minutos de horneado (horneado total) y con significativa diferencia de los panes con 20 minutos de horneado. Según se pudo apreciar en las fotografías tomadas por el microscopio electrónico de barrido no hay cambios estructurales apreciables entre los panes con 20 o con 40 minutos de horneado. Por lo anterior podemos decir que el que la dureza sea mayor en los panes de 40 minutos de horneados no se debe a cambios mecánicos, se debe a que la cantidad de agua es menor debido a que la diferencia entre los tiempos de horneado permite la evaporación del contenido de agua, por lo tanto el porcentaje de material seco es mucho mayor y por ende es mas duro. Para la elasticidad, cohesividad y resiliencia no se encontraron diferencias significativas entre panes con 20 minutos de horneado y los panes con 40 minutos de horneado; esto como se dijo antes, quizá debido a que los panes se diferencian solo por el contenido de agua en la estructura debido a la evaporación, lo que podría jugar un papel sobre todo en la dureza y la masticabilidad. La masticabilidad fue significativamente mayor en los panes con 40 minutos de horneado.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

4. Conclusiones

En éste estudio se realizó un seguimiento reológico y microscópico, a la evolución de las masas, y textural a la evolución de los panes, durante los procesos de fermentación y horneado de panes sin gluten respectivamente. En las imágenes obtenidas del microscopio electrónico se puede ver como las masas cambian sobre todo por efecto del gas producido por las levaduras y que es acumulado a través del tiempo y que los gránulos de almidón no sufren cambios importantes durante la fermentación. No obstante, los cambios reológicos indicaron que además del gas producido por las levaduras, otros compuestos producidos por las levaduras, tales como el etanol, ácidos orgánicos (como el ácido succínico) también afectan al almidón e hidrocoloide y por tanto a la reología de las masas sin gluten. En cuanto a la evolución del producto intermedio a la entrada del horno (hasta que se convierte en pan completamente horneado), se observó cómo la gelatinización del almidón y la pérdida de agua produjo unos cambios texturales que condujeron a la propiedades finales de los panes sin gluten. Además, los resultados indicaron que los panes elaborados con harina de maíz son los más duros mientras que los elaborados con almidón de trigo fueron los más elásticos. El efecto de la fermentación y el horneado de masas y panes de diferentes materiales almidonosos serán útiles de cara a la selección de la materia prima óptima así como a la interacción de los diferentes ingredientes que componen el pan sin gluten.

5. Bibliografía

Parada, A., Araya, M. (2010). History of gluten and its effects on celiac disease; *Revista Médica de Chile*, 138: 1319-1325

Rosell, C., Barro, F., Sousa, C., Mena, M. (2014). Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection. *J. Cereal Sci.* 59, 354e364.)

Green P., Jabri B. (2003). Coeliac disease. *Lancet*; 362: 383-91.

Ciclitira, P., Johnson, M., Dewar, D., Ellis, H. (2005). The pathogenesis of celiac disease. *Molecular Aspects of Medicine* 26, 421–458.

Kupper, C. (2005). Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology* 128 (4), S121–S127.

Arendt, E., O' Brien, C., Schober, T., Gallagher, E., Gormley, T. (2002). Development of gluten-free cereal products. *Farm & Food*, 21–27.

Hoseney, R. (1994). *Principles of Cereal Science and Technology*, second ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, 40, 147–148, 194–195, 197, 342–343.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

Ahlborn, G., Pike, O., Hendrix, S.B., Hess, W.M., Clayton, S.H. (2005). Sensory, mechanical, and microscopic evaluation of staling in low-protein and gluten-free breads. *Cereal Chemistry* 82 (3), 328–335.

Gallagher, E., Gormley, T.R., Arendt, E.K. (2003). Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science & Technology* 15, 143–152.

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.

Alvarez-Jubete, L., Auty, M., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *European Food Research and Technology*, 230(3), 437-445. (Alvarez-Jubete et al. 2010)

O'Shea, N., Doran, L., Auty, M., Arendt, E., & Gallagher, E. (2013). The rheology, microstructure and sensory characteristics of a gluten-free bread formulation enhanced with orange pomace. *Food & Function*, 4(12), 1856-1863. (O'Shea et al. 2013)

Renzetti, S., Dal Bello, F., & Arendt, E. K. (2008). Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science*, 48(1), 33-45.

Schober, T. J., Bean, S. R., Boyle, D. L., & Park, S. (2008). Improved viscoelastic zein-starch doughs for leavened gluten-free breads: Their rheology and microstructure. *Journal of Cereal Science*, 48(3), 755-767.

Bahal, G., Sudha, M. L., & Ramasarma, P. R. (2013). Wheat germ lipoxigenase: Its effect on dough rheology, microstructure, and bread making quality. *International Journal of Food Properties*, 16(8), 1730-1739.

Barcenas, M. E., & Rosell, C. A. (2005). Effect of HPMC addition on the microstructure, quality and aging of wheat bread. *Food Hydrocolloids*, 19(6), 1037-1043.

Eckardt, J., Ohgren, C., Alp, A., Ekman, S., Astrom, A., Chen, G., et al. (2013). Long-term frozen storage of wheat bread and dough - effect of time, temperature and fibre on sensory quality, microstructure and state of water. *Journal of Cereal Science*, 57(1), 125-133.

Lampignano, V., Laverse, J., Mastromatteo, M., & Del Nobile, M. A. (2013). Microstructure, textural and sensorial properties of durum wheat bread as affected by yeast content. *Food Research International*, 50(1), 369-376.

Lasekan, O., Chiemela, C., Ossai, B., & Adzahan, N. M. (2011). Effect of different pineapple juice (ananas comosus L.) preparations on the microstructure, staling and textural properties of wheat bread. *Journal of Food Process Engineering*, 34(5), 1449-1463.

Salmenkallio-Marttila, M., Katina, K., & Autio, K. (2001). Effects of bran fermentation on quality and microstructure of high-fiber wheat bread. *Cereal Chemistry*, 78(4), 429-435.

Cambios microestructurales y reológicos de masas y panes sin gluten

Arentz-Hanzen H., Korner R, Molberg O., Quarsten H., Vader W., Kooy YM., (2000). The intestinal T cell response to alpha-gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase. *J Exp Med*; 191: 603-12.

Lo W, Sano K, Lebwohl B, Diamond B., Green PH. (2003) Changing presentations of celiac disease. *Dig Dis Sci* ;48 : 395-398.

Vinay B. Jayaram, Sven Cuyvers, Bert Lagrain, Kevin J. Verstrepen, Jan A. Delcour, Christophe M. Courtin., (2013). Mapping of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites in fermenting wheat straight-dough reveals succinic acid as pH-determining factor. *Food Chemistry*. 136: 301-308.

Dong,W., Hoseneey, R.C., 1995. Effects of certain breadmaking oxidants and reducing agents on dough rheological properties. *Cereal Chemistry* 72, 58–64.

Every, D., Morrison, S.C., Simmons, L.D., Ross, M.P., 2006a. Distribution of glutathione in millstreams and relationships to chemical and baking properties of flour. *Cereal Chemistry* 83, 57–61.

Lagrain, B., Thewissen, B.G., Brijs, K., Delcour, J.A., 2007. Impact of redox agents on the extractability of gluten proteins during bread making. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 5320–5325.

Joye, J., Lagrain, B., Delcour, J., (2009) Endogenous redox agents and enzymes that affect protein network formation during breadmaking – A review. *Journal of cereal science*. 50, 1-10.

Ulbrich, M., Natan, C., Flo, E. (2010) Acid modification of wheat, potato, and pea starch applying gentle conditions—impacts on starch properties. Department of Food Technology and Food Chemistry, Chair of Food Process Engineering, Technische Universität Berlin, Berlin, Germany. 66: 1-11

Román, L., Martínez, M., Gómez, M. (2015) Assessing of the potential of extruded flour paste as fat replacer in O/W emulsion: A rheological and microstructural study. *Food Research International*. 74: 72-79.

Mancebo, C., Merino, C., Martínez, M., Gómez, M. (2015) Mixture design of rice flour, maize starch and wheat starch for optimization of gluten free bread quality. *Journal Food Science Technology*. DOI 10.1007/s13197-015-1769-4

de la Hera E, Martínez M, Gómez M (2013) Influence of flour particle size on quality of gluten-free rice bread. *LWT-Food Sci Technol* 54: 199–206

Lazaridou A, Duta D, Papageorgiou M, Belc N, Biliaderis CG (2007) Effets of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten free formulations. *J Food Eng* 79:1033–1047

Lazaridou, A., Biliaderis, C. (2009) Gluten free doughs: Rheological properties, testing procedures-methods and potential problems. En: Gallagher, E., (Ed) *Gluten-free Food Science and Technology* (PP. 52-75) Wiley-Blackwell, Iowa, USA.

Cash, M., Caputo, S. (2010) Cellulose Derivatives. En: Imeson, A. (Ed.) *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents* (pp. 101-103) Wiley-Blackwell, Iowa, USA.