



ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES TECNOLÓGICAS DE NANOFIBRAS DE CELULOSA OBTENIDAS POR DIFERENTES PROCEDIMIENTOS Y SU APLICACIÓN A PROCESOS DE ELABORACIÓN DE PANES CON GLUTEN

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2016/17

Alumno: Sonia Miguélez Santos

Tutor: Pedro Antonio Caballero Calvo

Cotutora: Felicidad Ronda Balbás

Cotutora: Marina Villanueva Barrero

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

ÍNDICE

Resumen	1
Abstract	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. OBJETIVOS	5
3. MATERIALES Y MÉTODOS	5
3.1 Materiales.....	5
3.2 Métodos	6
3.2.1 Caracterización de las propiedades de empastado de los geles de NFC y de las harinas aditivadas con NFC	6
3.2.1.1 Método de elaboración de geles.....	6
3.2.1.2 Medida de las propiedades de empastado de geles y harinas....	6
3.2.2 Caracterización reológica de geles y masas	7
3.2.2.1 Método de elaboración de geles.....	7
3.2.2.2 Ensayos reológicos de geles.....	7
3.2.2.3 Método de elaboración de masas.....	9
3.2.2.4 Ensayos reológicos de masas	10
3.2.3 Caracterización de pan.....	10
3.2.3.1 Método de elaboración de pan	10
3.2.3.2 Medida de propiedades físicas del pan	12
3.2.4 Análisis estadístico	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
4.1 Propiedades de empastado de los geles de NFC y de las harinas aditivadas con NFC	14
4.2 Caracterización reológica de geles y masas	17
4.2.1 Geles	17
4.2.2 Masas.....	19
4.3 Propiedades físicas del pan	21
4.3.1 Pérdida de peso, volumen específico y humedad.....	21
4.3.2 Parámetros cromáticos de la miga y la corteza.....	22
4.3.3 Propiedades del alveolado de la miga	23
4.3.4 Propiedades texturales de la miga.....	24
5. CONCLUSIONES	26
6. BIBLIOGRAFÍA	27

RESUMEN

La inclusión de fibra dietética en la matriz alimentaria puede incrementar la ingesta diaria de este componente reduciendo el riesgo de padecer ciertas enfermedades crónicas. Aunque no se haya demostrado su total inocuidad, las fibras insolubles de celulosa de tamaño “nano” constituyen un potencial ingrediente natural en matrices como el pan de trigo. Debido a la carencia de investigaciones científicas, hemos estudiado el efecto de la adición de nanofibras de celulosa, obtenidas mediante métodos mecánicos y enzimáticos, en la calidad del pan. A pesar de que el perfil de viscosidad y las propiedades viscoelásticas de las nanofibras obtenidas por medios mecánicos fueron más notables, han sido las de origen enzimático las que mejoran la calidad del pan. A bajas concentraciones se incrementó el volumen específico, la uniformidad de la miga y se redujo la dureza del pan. Si bien queda pendiente realizar análisis sensoriales que demuestren la aceptabilidad por parte de los consumidores, esto significa que podría utilizarse en la industria alimentaria como mejorante natural en matrices “Clean Label”.

Palabras clave: nanofibras de celulosa, panificación, reología, perfiles de viscosidad, propiedades funcionales.

ABSTRACT

The inclusion of dietary fiber into food matrix could improve their daily intake value, thereby decreasing the risks of some chronic diseases. The cellulose insoluble fibers of “nano” size are a potential natural ingredient in food matrices such as wheat bread; although its total safety has not been demonstrated. Due to the lack of scientific research, we have studied the effect of cellulose nanofibers addition, obtained by mechanical and enzymatic methods, in bread quality. Although the viscosity profile and the viscoelastic properties of mechanical nanofibers were more evident, enzymatic nanofibers have improved the bread quality. Low cellulose nanofibers concentrations increased the specific volume, increased crumb uniformity and reduced the bread hardness. This means that it could be used in the food industry as a natural improver in “Clean Label” products. But it is pending to carry out sensorial evaluations that demonstrate the consumer acceptability.

Keywords: bread-making, cellulose nanofibers, functional properties, rheology, viscometric profile.

1. INTRODUCCIÓN

La fibra dietética es un componente esencial de una dieta saludable que aporta unos efectos beneficiosos aprobados por la comunidad científica. Su consumo puede reducir el riesgo de padecer enfermedades crónicas como diabetes, obesidad, enfermedad cardiovascular y diverticulosis (Andrade et al., 2015; Cho & Almeida, 2012; Huang et al., 2016; Martínez et al., 2014).

La definición de fibra dietética ha evolucionado a medida que han avanzado las investigaciones científicas. En la actualidad el Codex Alimentarius (Codex Alimentarius, 2015) la define como: “Los polímeros de hidratos de carbono con diez o más unidades monoméricas, que no son hidrolizados por enzimas endógenas en el intestino delgado de humanos y que pertenecen a las categorías siguientes:

- Polímeros de hidratos de carbono comestibles presentes de modo natural en los alimentos tal como se consumen.
- Polímeros de hidratos de carbono que se han obtenido a partir de materia prima alimenticia por medios físicos, enzimáticos o químicos y que tienen un efecto fisiológico beneficioso en la salud demostrado mediante pruebas científicas generalmente aceptadas por las autoridades competentes.
- Polímeros de hidratos de carbono sintéticos que tienen un efecto fisiológico beneficioso demostrado mediante pruebas científicas generalmente aceptadas por las autoridades competentes.”

De acuerdo a su solubilidad en agua, la fibra dietética se ha clasificado tradicionalmente como: fibra soluble y fibra insoluble. La fibra soluble se caracteriza por su viscosidad, capacidad de formación de geles en el intestino delgado y fermentabilidad (como pectinas y β -glucanos). Mientras que la fibra insoluble ejerce un efecto principalmente en el intestino grueso ya que tiene mayor capacidad de retención de agua, incrementando el bolo fecal (como celulosa y lignina) (Belghith et al., 2016).

La celulosa está formada por moléculas de beta-glucosa que dan lugar a cadenas lineales de polisacáridos. Las moléculas de glucosa se unen mediante enlaces glucosídicos β -1,4. El grado de polimerización varía de 10.000 a 15.000 unidades dependiendo del origen de la celulosa, estando presente en tejidos de arbustos, árboles, fibras de algodón, etc. Los enlaces de hidrógeno inter e intracatenarios hacen a la celulosa un polímero muy estable. Las fibras de celulosa se localizan en las

parecen celulares de las plantas; una fibra es una célula vegetal alargada y dependiendo de la planta poseen diferentes dimensiones y formas (Bajpak, 2017).

En función de la biosíntesis y de la extracción de las microfibras de celulosa tenemos varios tipos de celulosa entre las que se encuentran las nanofibras de celulosa (NFC). Este término se aplica a las suspensiones acuosas donde las fibras de celulosa se han desintegrado y las nanofibras se han liberado de la pared celular. Estas suspensiones en forma de gel se encuentran a bajas concentraciones (0,5 a 2% p/p). Las NFC tienen un tamaño de menos de 100nm por lo que poseen una gran superficie específica, cristalinidad, resistencia a la deformación, módulo elástico, estabilidad térmica o funcionalidad química que hacen de las NFC un material muy versátil (Gómez et al., 2016).

El método más utilizado de obtención de NFC es de naturaleza química y emplea el reactivo TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxil) como catalizador de una oxidación a diferentes pH (Delgado-Aguilar et al., 2015). Sin embargo, existen otros sistemas de extracción de las NFC como la hidrólisis enzimática y la agitación en molino refinador. Este proceso debe ser lo suficientemente competitivo como para que finalmente las NFC se puedan poner en el mercado.

Las fibras de celulosa se han utilizado ampliamente en artículos de papel y textiles, en componentes informáticos, equipos de diálisis, en medicamentos y como aditivos alimentarios (Isogai et al., 2011). La fibra de celulosa de tamaño “nano” fue desarrollada por investigadores del ITT Rayonier Eastern Research Division Lab in Whippany, USA en el año 1977 pero su trabajo no se difundió hasta 1983 (Turbak et al., 1983). En los últimos años se han publicado muchas patentes relacionadas con aplicaciones de las NFC en materiales compuestos, telas absorbentes, papel y cartón, productos alimenticios, cosmética y materiales filtrantes.

En la industria alimentaria, la nanocelulosa se podría emplear en el material de envasado de los alimentos y como aditivo alimentario. La nanocelulosa tiene capacidad de estabilizar emulsiones en distintas matrices alimentarias como coberturas batidas, tartas heladas, aderezos para ensaladas y salsas. También se pueden emplear en alimentos con declaraciones nutricionales como bajo en calorías en quesos, hamburguesas, productos horneados y salsas. Además, se comporta como elemento funcional por su aporte de fibra dietética (Gómez et al., 2016).

En la publicación de Andrade et al. (2015) evaluaron los efectos de mejora de salud, seguridad alimentaria y efectos secundarios que la nanocelulosa puede tener en los

consumidores como fibra dietética. Los ensayos fueron llevados a cabo en ratones bajo una dieta controlada preparada usando diferentes cantidades de NFC. La dosis suministrada causó un incremento del peso sin causar pérdida de nutrientes minerales, ni daños hepáticos y sin alterar el metabolismo normal y el perfil de lípidos de los ratones.

Sin embargo, en la Unión Europea la regulación sobre nanomateriales se encuentra bajo revisión y por el momento no se permite su uso en alimentos. En la literatura no se han encontrado procedimientos validados que permitan evaluar los impactos biológicos sobre los ecosistemas y la salud humana de los nanomateriales; actividad necesaria para entender los cambios que tienen lugar en las matrices alimentarias durante las etapas de elaboración, almacenamiento y consumo de los productos (Szakal et al., 2014).

El pan de harina de trigo ha sido durante cientos de años un alimento básico pero en la actualidad no solo continua el interés por su aporte de carbohidratos sino también por su contenido en proteínas, fibra y nutrientes esenciales. Es muy común el uso de aditivos en panificación cuyos efectos en el producto final se han descrito por la comunidad científica resultando, en algunos casos rechazados por parte de los consumidores. Con este fin, se utilizan enzimas, agentes oxidantes, emulsificantes o hidrocoloides. La adición de hidrocoloides a las masas tiene importantes consecuencias: requieren la adición de agua de forma suplementaria y dan lugar a cambios reológicos en la masa que pueden variar los atributos sensoriales del producto final (Corral et al., 2017; Ronda et al., 2011).

En las últimas décadas, los productos de panadería se han estudiado con el objetivo de convertirlos en alimentos funcionales a través de la fortificación con ingredientes biológicamente activos, debido a que los consumidores demandan alimentos más saludables y con una elevada calidad organoléptica. El pan se puede enriquecer con fibra dietética, lo que contribuye a la demanda creciente de la ingesta diaria de fibra (Mudgil et al., 2016). Sin embargo, muchos son los estudios que demuestran efectos negativos en el producto final debido a que modifica su volumen, su elasticidad, la suavidad de la miga y la firmeza del pan. Cantidades muy elevadas de fibra insoluble tiene un efecto negativo en la formación de la red de gluten y reduce la calidad del pan debido a la interacción entre el gluten y la fibra (Belghith et al., 2016; Gómez et al., 2003; Huang et al., 2016).

Existe una carencia de investigaciones científicas sobre la inclusión de fibras de celulosa de tamaño “nano” en matrices alimentarias. Como se ha comentado, el pan

de trigo es una matriz muy interesante a la hora de desarrollar alimentos funcionales. La publicación de Encinas (2016) constituye una excepción donde se evalúan las interacciones de las NFC de origen químico con las masas panarias. En la literatura científica no se han encontrado ensayos con NFC de distintos orígenes en esta matriz. De modo que debido a la falta de información, es necesario entender cómo se comportan los elementos de la matriz de harina de trigo al incorporar NFC obtenidas mediante métodos diferenciados de extracción.

2. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto que la adición de NFC obtenidas mediante métodos mecánicos y enzimáticos tiene en las propiedades del pan de harina de trigo; de modo que podamos contribuir a llenar las lagunas de conocimiento que en la bibliografía científica existe sobre la aplicación de este tipo tan característico de fibras en panificación.

Para conseguir este objetivo principal se han propuesto otros más específicos:

- La determinación de las propiedades de empastado de la harina aditivada con los dos tipos de NFC de que disponemos.
- El análisis de las propiedades reológicas de geles y masas.
- La medida de varios parámetros que definen la calidad del pan elaborado con NFC tales como el peso, el volumen, el color, las propiedades texturales, la evolución de la textura durante el envejecimiento del producto, la humedad y diversas propiedades relacionadas con el alveolado de la miga.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

Las NFC empleadas en el estudio fueron proporcionadas por el grupo LEPAMAP del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Girona. Se obtuvieron a partir de una pasta blanqueada de eucalipto que, en el caso de las NFC enzimáticas se sometió a hidrólisis enzimática (Novozym 476). Las NFC mecánicas se prepararon tras un proceso de agitación en un molino refinador a 20000 rpm. El área superficial específica fue de 63,5m²/g y 76,3m²/g, el diámetro medio 39,4nm y 32,8nm, y el contenido de materia seca 1,68% y 1,54% p/p para las NFC de origen enzimático y mecánico respectivamente (Delgado-Aguilar et al., 2015).

Se empleó harina de trigo de gran fuerza suministrada por Emilio Esteban S.A. (Renedo de Esgueva, España). Los parámetros que la caracterizaron fueron una

humedad del 14,28%, un contenido en proteína del 14,86% y de gluten seco del 12,25%. En cuanto a la relación entre tenacidad (P) y extensibilidad (L), la harina dispuso de un valor de P/L de 1,14 y su fuerza (W) fue de $451 \cdot 10^{-4}$ Julios.

Otros ingredientes utilizados fueron la levadura instantánea deshidratada y granulada “European” (Estambul, Turquía), mejorante en polvo “Toupan” y sal marina refinada yodada “Carrefour”; todos ellos fueron adquiridos en el mercado local. Se empleó también agua procedente de la red local.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE EMPASTADO DE LOS GELES DE NFC Y DE LAS HARINAS ADITIVADAS CON NFC

La primera etapa de estudio de los dos tipos de NFC previa a su empleo en panificación consistió en determinar las propiedades de empastado de geles de NFC mecánicas y enzimáticas a diferentes concentraciones (0,5%, 1% y 1,5% p/p) así como de la harina aditivada con los mismos porcentajes de NFC.

3.2.1.1 MÉTODO DE ELABORACIÓN DE GELES

Se prepararon geles de NFC a partir de las soluciones de partida y agua destilada, calculando previamente las cantidades de cada componente. Para ello se tuvo en cuenta la concentración de materia seca de las NFC enzimáticas y mecánicas y las deseadas en el gel final que fueron 0,5%, 1% y 1,5% (p/p). Con ayuda de una balanza se pesaron las cantidades correspondientes y se procedió a la homogenización de la mezcla con el agitador Ultra-Turrax IKA T25 (IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany) a 10.000 rpm durante 5 minutos. Finalmente se pesaron 28 gramos de cada preparación en un vaso cilíndrico apropiado para el equipo RVA y se introdujo una hélice. Manualmente se procedió a girar cinco veces dicha hélice antes de introducirla en el equipo.

En cuanto a la obtención de geles de harina con NFC se preparó por un lado la mezcla de nanofibras realizando un ajuste del agua destilada añadida en función del contenido de agua de los geles de NFC de partida. Se siguió exactamente el procedimiento descrito anteriormente. Sobre esta mezcla se añadió la cantidad de harina que el método estándar ICC 162 nos indica en función de la humedad de la misma.

3.2.1.2 MEDIDA DE LAS PROPIEDADES DE EMPASTADO DE GELES Y HARINAS

Los geles y las harinas aditivadas con NFC se analizaron en el equipo Rapid Visco™ Analyser (RVA) (Newport Scientific Pty Ltd, Warriewood, Australia) utilizando el método estándar ICC 162. 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 obtenidos fueron: *pasting temperature* o temperatura de empastado (°C) (temperatura a la que los gránulos de almidón comienzan a hincharse y gelatinizar debido a la absorción de agua), *peak viscosity* o viscosidad de pico (Pa) (viscosidad máxima alcanzada por la pasta), *trough viscosity* o viscosidad de caída (Pa) (viscosidad mínima durante la aplicación de temperatura constante a 95°C), *final viscosity* o viscosidad final (Pa) (viscosidad final del ensayo después de enfriar a 50°C), *breakdown viscosity* o ruptura (Pa) (diferencia entre *peak viscosity* y *trough viscosity*) y *setback viscosity* (Pa) (*final viscosity* menos *peak viscosity*) (Collar, 2003). Dichos parámetros han sido calculados a partir de la curva de empastado mediante el software Thermocline v.2.2. Cada una de las muestras se analizó por duplicado.

3.2.2 CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE GELES Y MASAS

Para caracterizar el comportamiento reológico de las nanofibras de celulosa de origen enzimático y mecánico se prepararon geles y masas panarias con NFC para someterlas a ensayos oscilatorios y de flujo.

3.2.2.1 MÉTODO DE ELABORACIÓN DE GELES

El método de elaboración de geles con NFC y agua destilada a concentraciones de 0,5%, 1% y 1,5% (p/p) fue el mismo que el descrito para la medida de las propiedades de empastado. La única variación fue que las preparaciones resultantes se conservaron en botecitos de plástico de 10mL con tapa en la que se colocó un trozo de papel humedecido de forma que la muestra se conservara en el tiempo y así obtener repetibilidad en los ensayos.

3.2.2.2 ENSAYOS REOLÓGICOS DE GELES

Se llevaron a cabo **ensayos oscilatorios** de deformación con un reómetro rotacional Kinexus KNX2500 (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK) para determinar el comportamiento viscoelástico de los geles empleando geometrías serradas placa-placa de acero inoxidable y de 40 mm de diámetro. El software con el que se manejó el equipo fue rSpace for Kinexus. En estos ensayos el gap entre los platos fue de 0,5

mm, el tiempo de reposo antes de comenzar con la medida de 5 minutos y la temperatura constante fijándose en 20°C.

En primer lugar, las muestras por duplicado fueron sometidas a un barrido de esfuerzos para detectar la zona viscoelástica lineal y conocer la resistencia a la deformación del material. Se aplicó un esfuerzo cortante de 0,1 a 500 Pa y a una frecuencia de 1 Hz. A partir de estos resultados se tomó un valor de esfuerzo cortante (*shear stress*, σ^*) comprendido en la zona viscoelástica lineal que está limitada por el esfuerzo máximo (aquel en el que la estructura se rompe). A partir de este esfuerzo máximo la componente elástica (G') disminuye mientras que la tangente del ángulo de fase ($\tan \delta$) aumenta.

A continuación se llevaron a cabo barridos de frecuencias de las muestras por duplicado desde 20 Hz hasta 0,1 Hz. En cuanto al esfuerzo cortante aplicado, determinado en función de los barridos de esfuerzo, fue de 0,2 Pa para los geles de NFC enzimáticas y de 0,3 Pa para los geles de NFC mecánicas que se mantuvo constante durante el barrido. Se obtuvieron las curvas del módulo elástico (G'), el módulo viscoso (G'') y la tangente de δ respecto a la frecuencia. El módulo G' representa la energía almacenada en el material que es recuperable por ciclo de deformación, mientras que G'' mide la energía que se pierde a causa de la componente viscosa. También se obtuvo el factor de pérdidas ($\tan \delta = G''/G'$), el cual relaciona los dos módulos anteriormente mencionados. Valores de $\tan \delta$ menores a la unidad indican predominio de la componente elástica y valores mayores a la unidad muestran comportamientos donde domina la componente viscosa (Kulkarni & Shaw, 2016).

Los resultados se ajustaron a la Ley de la Potencia en función de las siguientes expresiones (Ronda et al., 2014):

- Módulo elástico: $G'(\omega) = G' \cdot \omega^a$
- Módulo viscoso: $G''(\omega) = G'' \cdot \omega^b$
- Tangente del ángulo de fase: $\tan \delta(\omega) = \left(\frac{G''(\omega)}{G'(\omega)} \right) = \left(\frac{G''}{G'} \right) \cdot \omega^{(b-a)} = (\tan \delta) \cdot \omega^c$

Los exponentes a, b y c muestran la dependencia de los módulos y la tangente con la variación de frecuencia. Las curvas de los geles menos consistentes se ajustaron en los tramos comprendidos entre las frecuencias de 0,1 a 1 Hz mientras que los más consistentes, entre las frecuencias de 0,1 a 10 Hz.

Sobre los geles de NFC enzimáticas y mecánicas se aplicaron también **ensayos de flujo** por duplicado empleando el reómetro rotacional citado, con el objetivo de saber

cómo se comporta la muestra bajo condiciones de estrés creciente y cómo se recupera cuando ese estrés cesa. Las geometrías más apropiadas para estos geles fueron las cono-placa (de acero inoxidable y 40 mm de diámetro) que aumentan la zona de contacto con la muestra respecto a las placa-placa, como experimentaron Nechyporchuk et al. (2014). Esto permitió que para los geles menos consistentes las curvas de flujo resultantes (esfuerzo cortante frente a velocidad de deformación) fuesen lineales. La distancia o gap entre la geometría superior e inferior fue de 0,15 mm, el tiempo de reposo antes de comenzar con la medida fue de 5 minutos y la temperatura se mantuvo constante a 20°C. Las curvas de subida resultantes se generaron partiendo de una velocidad de deformación de 0,1s⁻¹ e incrementándose hasta los 300 s⁻¹ durante 4 minutos. A continuación se obtenían las curvas de bajada desde una velocidad de deformación de 300 s⁻¹ hasta 0,1s⁻¹ en otros 4 minutos.

Los resultados obtenidos se ajustaron al modelo de Herschel-Bulkley en función de esta expresión (Kulkarni & Shaw, 2016):

$$\sigma = \sigma_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n$$

donde: σ = esfuerzo (Pa)
 σ_0 = esfuerzo umbral (Pa)
 K = índice de consistencia (Pa · sⁿ)
 $\dot{\gamma}$ = velocidad de deformación (s⁻¹)
 n = índice de flujo (adimensional)

Para ajustar los datos al modelo indicado se recurrió al software estadístico Statgraphics Centurion XVII (StatPoint Technologies Inc, Warrenton, United States). A través del método Marquardt y mediante regresiones no lineales se estimaron los valores ajustados para el esfuerzo umbral, el índice de consistencia y el índice de flujo a un intervalo de confianza del 95%.

3.2.2.3 MÉTODO DE ELABORACIÓN DE MASAS

Las masas panarias o plastones se prepararon a base de harina, agua y sal en las muestras control y mientras que en las aditivadas con NFC se empleó el mismo porcentaje que en los geles: 0,5%, 1% y 1,5% (p/p en base harina). Se elaboraron sin levadura para que el proceso de fermentación de la masa no modifique las propiedades reológicas de los plastones durante el ensayo. La hidratación en base de harina húmeda fue del 75%; valor que se mantuvo constante en todas las muestras realizándose un ajuste de la cantidad de agua añadida en función del contenido de agua que aportó la solución de NFC, en cada una de las concentraciones empleadas.

Los ingredientes por cada 100 gramos de harina fueron del 75% de agua y 1,8% de sal que se pesaron en una balanza Cobos (Cobos Precision, Hospitalet de Llobregat, España). Como equipo de amasado se empleó el Auto Bakery FAB-1800 (Funai Electric CO. Ltd., Osaka, Japón) que permite trabajar con cantidades de masa reducidas. En primer lugar se añadieron los sólidos y finalmente el agua en el caso del control, o el agua más las NFC para las muestras aditivadas. El tiempo de amasado fue de 8 minutos en todos los casos.

La masa resultante fue boleada ligeramente y se mantuvo en reposo sobre una superficie enharinada bajo un recipiente de plástico y en presencia de agua, para evitar pérdida de humedad y lograr la relajación de la masa. Tras 10 minutos se procedió al laminado con rodillo a 4 mm de altura; comenzando en el centro de la masa se laminó 3 veces en cada sentido. A continuación se dejó reposar la lámina resultante 5 minutos para impedir la contracción de la masa al extraer los plastones. Se extrajeron con un sacabocados de 34,4 mm aceitado en su cara interna. Con ayuda de unas placas de acero inoxidable cubiertas levemente de aceite se introdujeron en un tupper herméticamente cerrado hasta su caracterización reológica.

3.2.2.4 ENSAYOS REOLÓGICOS DE MASAS

Se realizaron ensayos oscilatorios de barrido de esfuerzo y de frecuencias de las muestras por duplicado con los mismos parámetros que en el análisis de geles de NFC. Al obtenerse una zona viscoelástica lineal más amplia que en los geles, el esfuerzo cortante aplicado en los barridos de frecuencia fue de 1 Pa. El ajuste de los resultados también se realizó siguiendo la Ley de la Potencia, mediante las ecuaciones citadas en el epígrafe 3.2.2.2.

3.2.3 CARACTERIZACIÓN DE PAN

Una vez caracterizadas las NFC en forma de geles y en masas panarias se procedió a realizar un proceso de panificación con las masas aditivadas con NFC y la caracterización de sus parámetros de calidad.

3.2.3.1 METODO DE ELABORACIÓN DE PAN

El pan control se elaboró siguiendo la siguiente formulación por cada 100 g de harina:

- 75% de agua
- 2% de levadura
- 1,8% de sal
- 0,5% de mejorante panario

En total se emplearon 400 g de harina y la cantidad proporcional del resto de los ingredientes indicados, para obtener tres panes por cada elaboración.

La formulación descrita se ajustó en el resto de elaboraciones con el objetivo de mantener constante la consistencia de las masas respecto a la masa control, siguiendo las hidrataciones de la Tabla 1 y la cantidad de agua que la adición de NFC a las tres concentraciones de estudio aporta a la masa (0,5%, 1% y 1,5% p/p en base harina).

Tabla 1. Hidrataciones en base húmeda de las diferentes elaboraciones panarias en función del tipo de NFC y su concentración en el producto final. La hidratación del pan control al que no se añade ninguna NFC es del 75%.

NFC	ENZ 0,5%	ENZ 1%	ENZ 1,5%	MEC 0,5%	MEC 1%	MEC 1,5%
HUMEDAD	81%	85%	93%	80%	98%	104%

ENZ: NFC de origen enzimático; MEC: NFC de origen mecánico.

Para determinar la hidratación de las masas y conseguir una consistencia constante, se partió del barrido de frecuencias del plastón control, obtenido con un esfuerzo cortante de 1Pa, tomándose como referencia el valor de G^* (Shear modulus complex component, Pa) correspondiente a la frecuencia de 1 Hz. Este valor se igualó en los plastones aditivados con las diferentes concentraciones de NFC tras una serie de iteraciones. Se observó que al aumentar el porcentaje de hidratación se consiguió reducir y ajustar el módulo complejo (G^*) al de la masa control. Este método de consecución de una consistencia constante se ha aplicado también a trabajos previos como los de Encinas (2016), Hager et al. (2011) y Ronda et al. (2015).

Los ingredientes sólidos necesarios para la elaboración de los panes se pesaron con una balanza Cobos (Cobos Precision, Hospitalet de Llobregat, España) en un bol de acero inoxidable. El agua y las fibras se pesaron individualmente. Se utilizó una amasadora KitchenAid Heavy Duty 5KPM5 (KitchenAid, Michigan, USA) para mezclar los sólidos a velocidad 2 durante 1 minuto. A la misma velocidad y durante 1 minuto se añadieron los ingredientes líquidos. Posteriormente, para que se genere la red de gluten, se incrementó la velocidad de amasado a 4 durante 8 minutos. Al finalizar este proceso se realizó un control de temperatura de la masa obtenida, estando comprendida en todos los casos entre 24 y 26°C. En 3 moldes de aluminio previamente enharinados se añadieron 200 gramos de masa; que se distribuyó uniformemente con la yema de los dedos.

A continuación se llevaron a una fermentadora Sveba Dahlen AB ST2/300 (Sveba Dahlen, Fristad, Sweden) durante 60 minutos programada a 20°C y el 80% de

humedad. Al finalizar esta etapa se hornearon en un horno eléctrico giratorio Sveba Dahlen S400 (Sveba Dahlen, Fristad, Sweden) a 170°C durante 20 minutos, con aplicación de 5 segundos de vapor.

Se procedió al desmoldeo de los tres panes una hora tras la finalización del horneado. Uno de ellos fue introducido en una bolsa de plástico para su conservación en condiciones de refrigeración con el objetivo de determinar la evolución de su textura durante el envejecimiento del producto.

3.2.3.2 MEDIDA DE PROPIEDADES FÍSICAS DEL PAN

Las propiedades que a continuación se describen se midieron en dos de los tres panes a día cero y tras el enfriamiento de los mismos.

- **ASPECTO VISUAL**

Se tomaron fotografías con una cámara digital Canon IXUS 285HS (Canon Inc, Tokyo, Japan) de los panes en vista superior y vista frontal así como de las rebanadas de 20 mm de espesor obtenidas del centro de los panes en vista frontal. Las fotografías se realizaron colocando las muestras en una caja con el interior blanco, iluminada artificialmente con luz blanca y sobre una escala que se empleó como referencia del tamaño de las piezas.

- **PÉRDIDA DE PESO**

Tras desmoldar el pan se procedió a registrar su peso utilizando una balanza Gram FR-3200 (GRAM, Barcelona, España) para obtener el porcentaje de pérdida de peso experimentado durante el proceso de elaboración sabiendo que se partía de una masa inicial de 200 gramos.

- **VOLUMEN ESPECÍFICO**

El volumen de los panes fue determinado mediante el método internacional de desplazamiento de semillas 10-05.01 (AACC, 2001) empleando el equipo Bread Volume Tester (JMTY, Hangzhou, China). A partir de estos datos y los del peso de cada pan se calculó el volumen específico. Las medidas fueron realizadas por duplicado.

- **HUMEDAD**

El procedimiento de medida de la humedad de los panes (empleando corteza y miga) se llevó a cabo a día 0 comenzando con el registro de la pérdida de humedad

accidental a temperatura ambiente durante 24 horas. Siguiendo el método internacional 44-19.01 (AACC, 1995) se determinó la pérdida de humedad total. Consistió en pesar dos gramos de las muestras, tras su molturación, con una balanza de precisión Cobos AX-200 (Cobos Precision, Hospitalet de Llobregat, España) en cápsulas de metal. Se sometieron a una desecación forzada por convección en una estufa Binder FD115 (Binder, Tuttlingen, Germany) durante 1 hora a 130°C. Tras este tiempo las cápsulas se introdujeron en un desecador con gel de sílice hasta que alcanzaron la temperatura ambiente y se registró el peso de la cápsula. La relación entre la pérdida de humedad accidental y la forzada constituye la humedad total de las muestras a día 0.

- **PARÁMETROS CROMÁTICOS DE LA MIGA Y LA CORTEZA**

Se procedió a evaluar colorimétricamente la corteza y la miga de los panes. Los resultados se obtuvieron usando un colorímetro PCE-CSM 5 (PCE Instruments, Meschede, Germany) y el software CQCS3. El iluminante patrón fue el D65 y observador patrón 2º y se expresaron en el espacio de color CIE L*a*b* y CIE L*C*h. El parámetro L* informa de la luminosidad mientras que a* y b* son las coordenadas cromáticas donde +a* es la coordenada para el color rojo, -a* la verde, +b* la amarilla y -b* es la del azul. La variable C* informa directamente de la saturación o viveza del color y “h” el tono; ambos son atributos cromáticos. La medida se llevó a cabo mediante 5 disparos en cuatro puntos de la corteza de cada pan y cinco disparos en la miga por cada lado de las dos rebanadas obtenidas por unidad.

- **PROPIEDADES DEL ALVEOLADO DE LA MIGA**

Las rebanadas muestrales estudiadas se escanearon en escala de grises a 300ppp de resolución empleando el escáner HP Scanjet G3110 (Hewlett-Packard, California, United States) y el software Fax y Escáner de Windows. Las imágenes resultantes se analizaron con el programa de dominio público ImageJ versión 1.38c. Para ello se escogió un área en cada imagen de 40x40mm y se estableció un área mínima de defectos de 10mm².

Las características del alveolado de la miga se determinaron mediante tres parámetros: el área media de los alveolos (mm²), la densidad alveolar (alveolos/cm²) y su uniformidad (adimensional). Cuando el número de alveolos por unidad de superficie es muy elevado, el tamaño de los mismos es muy pequeño y por tanto la estructura alveolar de la miga es más compacta y uniforme. De este modo los tres parámetros se relacionan entre sí (Caballero et al., 2007). Se aplicó una macro preestablecida sobre

los resultados del análisis de imagen; que directamente nos proporcionó el área media y la densidad alveolar. La uniformidad se calculó mediante el cociente entre el número de alveolos de tamaño inferior (inferior a 4mm^2) y el número de alveolos de tamaño superior (comprendido entre 4 y 10mm^2).

- **PROPIEDADES TEXTURALES DE LA MIGA**

Empleando un texturómetro universal TA-TX2 (Stable Microsystems, Surrey, UK) que se maneja con el software Texture Expert y una sonda cilíndrica de aluminio de 20 mm de diámetro, se procedió a medir varios parámetros en las dos rebanadas centrales de 20 mm de espesor procedentes de cada pan a día 0. El ensayo Texture Profile Analysis (TPA) al que fueron sometidas las rebanadas consiste en una doble compresión con una pausa entre ambas. La deformación aplicada fue del 50% a una velocidad de 1mm/s, con un tiempo de espera de 30 segundos entre compresiones.

Los parámetros analizados fueron: dureza (gf) (fuerza necesaria para alcanzar una deformación determinada), cohesividad (adimensional) (deformación sufrida por el alimento antes de romperse), resiliencia (adimensional) (capacidad de recuperación instantánea), gomosidad (gf) (energía necesaria para desintegrar un alimento listo para deglutir) y masticabilidad (gf) (energía necesaria para masticar un alimento y que esté listo para ser deglutido).

La textura de los panes fue determinada también sobre la tercera unidad muestral, almacenada en condiciones de refrigeración (4°C) durante 7 días con el fin de evaluar el envejecimiento de la miga. Para ello las muestras se atemperaron a las condiciones ambientales durante una hora previamente a la medida.

3.2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los resultados obtenidos de los ensayos descritos se analizaros empleando un análisis de varianza, ANOVA simple, mediante el test LSD (Least significant difference) de Fisher que detecta diferencias significativas entre las medias con un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$). Todos los análisis se llevaron a cabo usando el software Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies Inc, Warrenton, United States).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PROPIEDADES DE EMPASTADO DE LOS GELES DE NFC Y DE LAS HARINAS ADITIVADAS CON NFC

Los ensayos de medida de viscosidad de geles de NFC dieron como resultado curvas que no respondieron a un comportamiento característico de empastado y retrogradación posterior propios del ensayo RVA (datos no mostrados). Las curvas obtenidas mostraron una evolución de la viscosidad del gel coherente con la evolución de la temperatura del mismo. En primer lugar la viscosidad del gel se redujo hasta un valor mínimo a medida que la temperatura se incrementó; mientras que aumentó posteriormente durante la fase de enfriamiento. Los resultados evidencian que los geles no experimentaron un proceso de gelatinización ni retrogradación durante el ensayo. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Encinas (2016), quien mostró que la viscosidad de los geles de NFC es dependiente de su concentración, evolucionando este parámetro en función de la temperatura durante el ensayo RVA.

Por el contrario, en el caso de los análisis de harinas aditivadas con NFC se obtuvieron curvas que responden al perfil característico del ensayo RVA, apreciándose diferencias en función de la concentración y el tipo de fibra empleada (Figura 1). El perfil de viscosidad fue idéntico en todas las muestras, resultando más notable cuando se adicionaron nanofibras. El incremento de la viscosidad fue proporcional a la concentración de NFC empleada, observándose un efecto más acusado cuando se añadieron nanofibras obtenidas mediante un procedimiento mecánico (NFC MEC).

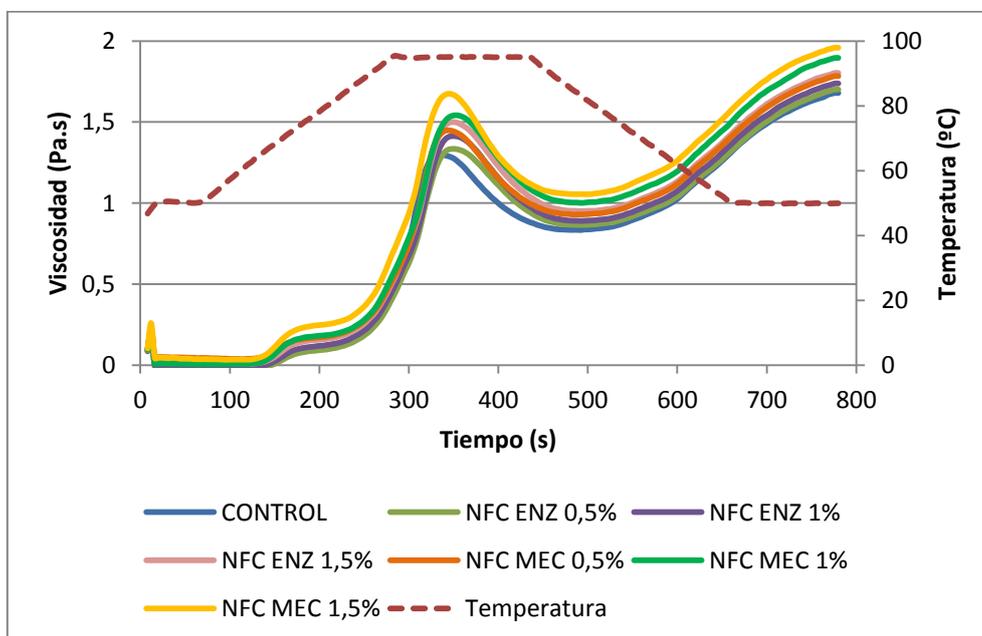


Figura 1. Perfiles de viscosidad de harinas de trigo con adiciones de NFC de diferentes orígenes y concentraciones (0,5%, 1% y 1,5% p/p en base harina). Control: harina de trigo; NFC ENZ: harina de trigo con NFC de origen enzimático; NFC MEC: harina de trigo con NFC de origen mecánico.

La Tabla 2 recoge las propiedades de empastado de la harina control y las harinas de trigo analizadas tras la adición de nanofibras de origen enzimático y mecánico. La mayoría de los parámetros se incrementaron de forma significativa respecto al control con la adición de NFC en harina de trigo. Este comportamiento fue más acusado en el caso de aquellas muestras aditivadas con NFC de origen mecánico. El empleo de tres niveles de concentración de NFC nos permitió observar incrementos más evidentes de las viscosidades estudiadas en las muestras con 1,5% (p/p) de NFC. La diferencia entre los valores de los parámetros RVA en función de la concentración de NFC empleada fue significativa ($p < 0,05$) para cada muestra analizada excepto, en la mayoría de los casos, la menor concentración de NFC enzimática debido, previsiblemente, a la menor consistencia del gel, que apenas modifica el perfil de viscosidad de la harina.

Bajo las mismas condiciones de estudio y con una NFC de origen químico, Encinas (2016) describió una relación de dependencia entre el aumento de concentración de NFC y la viscosidad de las muestras. Yildiz et al. (2013) observaron el mismo comportamiento al estudiar almidón de trigo en combinación con fibra dietética. Justificaron este incremento de viscosidad debido a la competencia que se produce entre la fibra y el almidón por el agua y a la elevada capacidad de retención de agua de la fibra. Durante el proceso hidrotérmico, la capacidad de hinchamiento de los gránulos de almidón se incrementó respecto al control, antes de perder su integridad y descender la viscosidad durante el ensayo.

Tabla 2. Propiedades de empastado de la harina de trigo con la adición de NFC de origen enzimático y mecánico a diferentes concentraciones (0,5%, 1% y 1,5% p/p en base harina).

Muestra	Peak viscosity (Pa.s)	Trough (Pa.s)	Breakdown (Pa.s)	Final viscosity (Pa.s)	Setback (Pa.s)	Pasting temperature (°C)
CONTROL	1,3050 ^a	0,8445 ^a	0,4605 ^a	1,6800 ^a	0,8355 ^a	87,68 ^{ab}
ENZ 0,5%	1,3305 ^a	0,8535 ^a	0,4770 ^a	1,7040 ^b	0,8505 ^a	88,10 ^b
ENZ 1%	1,3970 ^b	0,8745 ^a	0,5225 ^b	1,7315 ^c	0,8570 ^{ab}	88,10 ^b
ENZ 1,5%	1,4835 ^d	0,9490 ^c	0,5345 ^b	1,8040 ^e	0,8550 ^a	88,05 ^b
MEC 0,5%	1,4385 ^c	0,9180 ^b	0,5205 ^b	1,7740 ^d	0,8560 ^a	87,33 ^a
MEC 1%	1,5370 ^e	0,9985 ^d	0,5385 ^b	1,8830 ^f	0,8845 ^{bc}	88,08 ^b
MEC 1,5%	1,6740 ^f	1,0510 ^e	0,6230 ^c	1,9530 ^g	0,9020 ^c	87,33 ^a
ES	0,0096	0,0092	0,0078	0,0071	0,0085	0,15

Valores con letras en común en la misma columna indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). ES: error estándar agrupado obtenido del análisis ANOVA; ENZ: NFC enzimáticas; MEC: NFC mecánicas.

Los valores de *peak viscosity* y *trough viscosity* aumentaron progresiva y significativamente con la adición de NFC, de forma más acusada en el caso de las NFC mecánicas; las concentraciones más bajas de NFC enzimática no difirieron del control. En cuanto al *breakdown* el efecto de la concentración no fue tan notable como

para *final viscosity*, parámetro en el que el incremento de viscosidad fue significativo entre el control y cada una de las muestras de NFC a concentraciones crecientes. La muestra con 1,5% (p/p) de NFC mecánica se diferenció en mayor medida del control que la muestra elaborada con NFC enzimática a la misma concentración. Para el *setback* la tendencia fue la misma pero la significación estadística solo se registró entre el control y las muestras formuladas con 1% y 1,5% de NFC mecánicas.

Estas tendencias fueron observadas por otros autores como Li et al. (2011) y Sasaki et al. (2004) en estudios realizados tras la adición de distintos tipos de fibra en matrices con gluten. Estos autores relacionaron el incremento de la viscosidad de caída con la elevada capacidad de retención de agua de las fibras. La adición de fibra ocasionó una reducción de la estabilidad y resistencia del almidón al calentamiento y al estrés mecánico; lo que se puso de manifiesto con valores de *breakdown* elevados (baja estabilidad del producto final). De igual modo, el *setback* se incrementó con la concentración de fibra; estando asociado con el incremento de las interacciones entre las fibras y la amilosa que ha salido fuera de los gránulos. Estas moléculas se unen a las cadenas laterales de la amilopectina mediante puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals; lo que también afecta a la retrogradación y reorganización durante el enfriamiento (Zhu et al., 2009).

La temperatura de empastado no mostró ninguna tendencia durante el ciclo de calentamiento y enfriamiento de las muestras aditivadas con NFC. Yildiz et al. (2013), por el contrario, registró su reducción a medida que la concentración de fibra de las muestras se incrementaba, evidenciando una menor temperatura de empastado y consecuentemente, una menor resistencia al hinchamiento y a la ruptura.

Li et al. (2016) estudiaron el efecto de la adición de β -glucano al almidón de trigo. Una fibra soluble cuya capacidad de retención de agua es mayor al de las fibras insolubles. Observaron al igual que en este trabajo, un incremento significativo de los parámetros de viscosidad. La fibra favoreció la salida de la amilosa fuera de los gránulos de almidón y ocasionó una mayor sensibilidad de los mismos al tratamiento térmico. También se facilitó la reorganización de la amilosa durante el enfriamiento.

4.2 CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE GELES Y MASAS

4.2.1 GELES

Sobre los geles de NFC a las tres concentraciones de estudio se aplicaron ensayos oscilatorios con el objeto de caracterizar sus propiedades viscoelásticas. Los resultados se muestran en la Tabla 3, donde vemos los valores medios para el módulo

elástico, viscoso y el factor de pérdidas; así como para sus correspondientes exponentes.

Tabla 3. Valores medios de los parámetros reológicos de los barridos de frecuencia para los geles de NFC enzimáticas y mecánicas, a las tres concentraciones de estudio (0,5%, 1% y 1,5% p/p en base harina).

Muestra	G' (Pa)	a	G'' (Pa)	b	tan(δ)	c
ENZ 0,5%	1 ^a	2,085 ^b	1 ^a	0,861 ^c	0,724 ^b	-1,224 ^a
ENZ 1%	11 ^b	0,001 ^a	2 ^b	0,140 ^a	0,156 ^a	0,139 ^b
ENZ 1,5%	59 ^c	0,033 ^a	8 ^c	0,166 ^{ab}	0,135 ^a	0,133 ^b
MEC 0,5%	43 ^c	0,0348 ^a	7 ^c	0,203 ^{ab}	0,165 ^a	0,169 ^b
MEC 1%	410 ^d	0,0792 ^a	60 ^d	0,238 ^b	0,148 ^a	0,154 ^b
MEC 1,5%	1419 ^e	0,0688 ^a	213 ^e	0,217 ^{ab}	0,150 ^a	0,148 ^b
ES	118	0,044	19	0,024	0,011	0,024

Valores con letras en común en la misma columna indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). ES: error estándar agrupado obtenido del análisis ANOVA; ENZ: NFC enzimáticas; MEC: NFC mecánicas; G': módulo elástico; G'': módulo viscoso; tan(δ): tangente del ángulo de fase; a, b y c: parámetros experimentales.

Las medias de G' y G'' evidenciaron grandes diferencias entre las muestras por lo que para realizar el análisis estadístico, se recurrió al uso de logaritmos neperianos de forma que la variabilidad se redujera y se pudieran analizar adecuadamente los efectos de la adición de las NFC, tal y como realizaron en su estudio Ronda et al. (2011).

El módulo elástico resultó ser más elevado que el módulo viscoso en todas las muestras y la tan δ inferior a la unidad, de modo que los geles presentaron un comportamiento viscoelástico donde predominó la componente elástica frente a la viscosa. Este comportamiento fue descrito previamente por Encinas (2016) y Nechyporchuk et al. (2014) en geles de NFC de origen químico y enzimático, respectivamente.

El predominio de la componente elástica fue más notable en las muestras elaboradas con NFC de origen mecánico. La concentración empleada también incrementó esta relación tanto en las NFC de origen mecánico como en las de origen enzimático. En cuanto a la dependencia de los módulos y la tangente con la variación de frecuencia no se obtuvieron grandes diferencias entre muestras. Dicha dependencia es significativamente superior para los módulos elásticos y viscosos en las muestras elaboradas con NFC enzimática al 0,5% (p/p), respecto al resto. Contrariamente a la dependencia negativa de la tangente con la variación de frecuencia.

En la Tabla 4 se presentan los parámetros reológicos de los ensayos de flujo para las NFC correspondientes a los tramos de ascenso de velocidad.

Tabla 4. Valores medios de los parámetros reológicos para los geles de NFC enzimáticas y mecánicas a las tres concentraciones de estudio (0,5%, 1% y 1,5% p/p en base harina). Ajuste al modelo de Herschel-Bulkley.

Muestra	σ_0 (Pa)	K (Pa · s ⁿ)	n
ENZ 0,5%	0,34 ^a	0,0476 ^a	0,6263 ^{bc}
ENZ 1%	0,55 ^b	1,0400 ^c	0,2689 ^a
ENZ 1,5%	0,95 ^c	4,6965 ^d	0,1410 ^a
MEC 0,5%	3,68 ^d	0,5112 ^{ab}	0,4655 ^b
MEC 1%	20,49 ^e	0,8298 ^{bc}	0,5576 ^b
MEC 1,5%	51,77 ^f	0,4039 ^{ab}	0,7994 ^c
ES	0,66	0,1386	0,0555

Valores con letras en común en la misma columna indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). ES: error estándar agrupado obtenido del análisis ANOVA; ENZ: NFC enzimáticas; MEC: NFC mecánicas; σ_0 : esfuerzo umbral; K: índice de consistencia; n: índice de flujo.

Los geles de NFC se caracterizaron por presentar un comportamiento no Newtoniano debido a que en todos los casos el esfuerzo umbral fue distinto de cero y el índice de flujo inferior a la unidad. En concreto presentaron un perfil característico de los plásticos de Casson que comienzan a fluir cuando superan el esfuerzo umbral y la viscosidad depende del gradiente de velocidad aplicado.

Los geles de NFC se manifestaron también como dependientes del tiempo y tixotrópicos como ya indicaron Jia et al. (2013), Pääkkö et al. (2007) y Saito et al. (2007) sobre celulosa microcristalina, celulosa microfibrilada de origen enzimático y NFC de origen químico, respectivamente. Este comportamiento responde a que las rampas de subida y de bajada correspondientes a los ensayos de flujo no se superponen generándose un lóbulo de histéresis entre ellas. La máxima reorganización estructural posible del material (la reorganización no es completa) se produce en un tiempo medible tras alcanzar una viscosidad de equilibrio.

Mientras que el esfuerzo umbral siguió una tendencia clara en todas las muestras, es decir, se incrementó significativamente con la concentración de NFC empleada y en mayor proporción en las NFC de origen mecánico, el resto de parámetros reológicos no la manifestaron. El índice de consistencia para las unidades muestrales con nanofibras enzimáticas se incrementó significativamente con la adición de proporciones superiores de NFC; mientras que para las mecánicas no se detectó ninguna tendencia. El índice de flujo se redujo a concentraciones crecientes en las muestras con NFC enzimáticas, observándose el efecto contrario en las mecánicas.

4.2.2 MASAS

Las masas panarias se sometieron a ensayos oscilatorios para comprobar los efectos que la adición de NFC supone en cuanto al comportamiento reológico. Los resultados

se exponen en la Tabla 5 donde se recogieron los valores medios para cada parámetro de las muestras control y las aditivadas con cada tipo de NFC.

Tabla 5. Valores medios de los parámetros reológicos de los barridos de frecuencia para las masas aditivadas con NFC enzimáticas y mecánicas a las tres concentraciones de estudio (0,5%, 1% y 1,5% p/p en base harina).

Muestra	G'	a	G''	b	tan(δ)	c
CONTROL	6266 ^a	0,2220 ^c	2274 ^a	0,2912 ^d	0,3628 ^e	0,5324 ^a
ENZ 0,5%	7680 ^{ab}	0,2218 ^c	2749 ^{ab}	0,2806 ^{cd}	0,3580 ^e	0,0588 ^a
ENZ 1%	8843 ^b	0,2162 ^{bc}	3102 ^b	0,2730 ^{bc}	0,3507 ^d	0,0570 ^a
ENZ 1,5%	11201 ^c	0,2158 ^{bc}	3846 ^c	0,2707 ^{bc}	0,3436 ^c	0,0548 ^a
MEC 0,5%	8655 ^b	0,2020 ^{ab}	2889 ^b	0,2672 ^{abc}	0,3338 ^b	0,0650 ^a
MEC 1%	11699 ^c	0,2044 ^{ab}	3895 ^c	0,2623 ^{ab}	0,3330 ^b	0,0580 ^a
MEC 1,5%	15690 ^d	0,1958 ^a	5008 ^d	0,2517 ^a	0,3192 ^a	0,0560 ^a
ES	426	0,0046	145	0,0054	0,0017	0,1744

Valores con letras en común en la misma columna indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). ES: error estándar agrupado obtenido del análisis ANOVA; ENZ: NFC enzimáticas; MEC: NFC mecánicas; G': módulo elástico; G'': módulo viscoso; tan(δ): tangente del ángulo de fase; a, b y c: parámetros experimentales.

Al igual que en los ensayos con geles de NFC, los resultados revelaron un comportamiento viscoelástico de las masas donde predomina la componente elástica frente a la viscosa. El módulo elástico resultó ser más elevado que el módulo viscoso y la tangente del ángulo de fase inferior a la unidad. Este mismo comportamiento fue descrito previamente por Correa et al. (2010) y Encinas (2016) en masas con celulosa microcristalina y en masas con NFC de origen químico, respectivamente.

La adición de NFC en masas panarias ocasionó un incremento de los módulos elástico y viscoso y una reducción de los valores de la tangente de δ respecto al control. Esta consecuencia es más notable en el caso de las NFC de origen mecánico, muestras para las que la consistencia alcanzada resultó ser superior. La concentración empleada en cada muestra es un factor a tener en cuenta ya que nos permite detectar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las muestras con respecto al control, exceptuando aquellas aditivadas con 0,5% (p/p) de NFC enzimática.

La relación de los módulos elástico y viscoso con la frecuencia aplicada en el ensayo presentó una tendencia decreciente tras la aditivación con NFC. Las diferencias en los parámetros reológicos "a" y "b" fueron significativas ($p < 0,05$) entre el control y todas las unidades muestrales elaboradas con NFC de origen mecánico. Sin embargo, a tenor de la evolución del parámetro reológico "c", se pudo concluir que la relación entre la frecuencia y el factor de pérdidas no se modificó con la adición de nanofibras de celulosa.

4.3 PROPIEDADES FÍSICAS DEL PAN

4.3.1 PÉRDIDA DE PESO, VOLUMEN ESPECÍFICO Y HUMEDAD

La evolución de varias propiedades físicas como son la pérdida de peso, el volumen específico y el contenido en humedad de los panes elaborados en este estudio se plasma en la Tabla 6.

Tabla 6. Valores medios obtenidos tras la medida de la pérdida de peso, el volumen específico y el contenido de humedad para los panes control y los panes aditivados con NFC enzimáticas y mecánicas a las tres concentraciones de estudio (0,5%, 1% y 1,5% p/p en base harina).

Muestra	Pérdida de peso (%)	Volumen específico (mL/g)	Humedad (%)
CONTROL	13,530 ^{ab}	3,773 ^d	28,603 ^a
ENZ 0,5%	14,655 ^c	4,789 ^e	29,642 ^b
ENZ 1%	13,508 ^{ab}	3,844 ^d	31,402 ^d
ENZ 1,5%	13,300 ^{ab}	3,503 ^c	33,264 ^f
MEC 0,5%	13,045 ^a	3,795 ^d	31,038 ^c
MEC 1%	15,563 ^d	3,286 ^b	33,157 ^e
MEC 1,5%	13,688 ^b	2,860 ^a	35,793 ^g
ES	0,167	0,043	0,003

Valores con letras en común en la misma columna indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). ES: error estándar agrupado obtenido del análisis ANOVA; ENZ: NFC enzimáticas; MEC: NFC mecánicas.

La adición de NFC a la fórmula cualitativa del pan no afectó al porcentaje de pérdida de peso que sufrieron durante el horneado. Tampoco cabe destacar tendencias en función de la concentración empleada tal y como expusieron Belghith et al. (2016) y Encinas (2016). Sin embargo, el volumen específico mostró una dependencia con el tipo y concentración de NFC. De modo general, la adición de NFC provocó una reducción significativa ($p < 0,05$) del volumen específico de los panes siendo más significativo cuando se emplearon NFC de origen mecánico. La concentración es un factor importante ya que a medida que se aumentó el porcentaje de NFC añadido, el volumen se redujo. Esta tendencia se observó en estudios previos como los de Encinas (2016) y Gómez et al. (2003) y se podría explicar debido a la interacción entre las fibras empleadas y la red de gluten y, consecuentemente, a la menor capacidad de retención de CO₂ durante la fermentación (Belghith et al., 2016).

En el caso de las muestras elaboradas con 0,5% (p/p) de NFC de origen enzimático, se registró, por el contrario, un incremento significativo del volumen específico respecto al resto de elaboraciones. Efectos similares registraron Turfani et al. (2017) donde la adición de hidrocoloides al pan de harina de trigo incrementó la estabilidad de la masa y el volumen debido a la capacidad de absorción de agua y a sus propiedades gelificantes. Encontramos la misma tendencia en el estudio de Corral et al. (2017) donde se analizó la incorporación de nanocelulosa de origen bacteriano al pan. De forma que cuando se adicionan geles de nanocelulosa enzimática en una

concentración reducida, podría producirse una estabilización de la red de gluten similar a la observada tras la adición de otros hidrocoloides empleados en panificación.

El porcentaje de humedad de las muestras aditivadas con NFC fue significativamente superior ($p < 0,05$) al del control siendo este efecto más acusado cuando se emplearon nanofibras de origen mecánico. La tendencia mostrada responde a la capacidad de retención de agua que manifiestan las NFC, por lo que a mayor concentración de NFC adicionada, mayor es la cantidad de agua retenida en las muestras de pan. Aquella que alcanzó un valor superior fue la NFC MEC 1,5% (p/p), debido a que se empleó un porcentaje de hidratación muy elevado (104% en base de harina húmeda) para panificar a consistencia constante. Por su parte, Corral et al. (2017) y Encinas (2016) constataron el mismo comportamiento, debido a que la elevada capacidad de las nanofibras de retener agua se manifiesta específicamente durante el proceso de panificación.

4.3.2 PARÁMETROS CROMÁTICOS DE LA MIGA Y LA CORTEZA

Se analizaron la luminosidad, la saturación y el tono de corteza y miga de cada uno de los panes elaborados en este estudio con el objeto de comprobar si la adición de NFC afecta al color de las muestras de pan. Como se puede apreciar en la Tabla 7, los tres parámetros del color comparados, de forma general, no difirieron significativamente ($p < 0,05$) entre los panes control y las muestras aditivadas con NFC. Tampoco se pudo apreciar ninguna tendencia clara con respecto al tipo de NFC y la concentración empleada.

Tabla 7. Valores medios de los parámetros cromáticos de los panes control y los aditivados con NFC enzimáticas y mecánicas a las tres concentraciones de estudio (0,5%, 1% y 1,5% p/p en base harina).

Muestra	Corteza			Miga		
	L*	C*	h	L*	C*	h
CONTROL	63,95 ^{abc}	21,71 ^b	61,90 ^b	66,97 ^a	9,04 ^{bc}	75,67 ^{bc}
ENZ 0,5%	64,65 ^{bc}	21,80 ^b	61,56 ^b	66,66 ^a	7,00 ^a	73,74 ^{ab}
ENZ 1%	63,33 ^{ab}	21,39 ^b	61,16 ^b	67,55 ^a	7,49 ^a	80,10 ^d
ENZ 1,5%	62,85 ^a	21,16 ^{ab}	62,39 ^b	67,13 ^a	7,96 ^{ab}	72,81 ^a
MEC 0,5%	65,24 ^c	21,92 ^b	62,46 ^b	67,97 ^a	9,36 ^c	76,52 ^c
MEC 1%	63,18 ^{ab}	21,57 ^b	59,20 ^a	66,10 ^a	7,74 ^a	77,72 ^{cd}
MEC 1,5%	63,67 ^{abc}	19,71 ^a	64,77 ^c	66,64 ^a	7,75 ^a	75,86 ^{bc}
ES	0,50	0,46	0,55	0,63	0,34	0,77

Valores con letras en común en la misma columna indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). ES: error estándar agrupado obtenido del análisis ANOVA; ENZ: NFC enzimáticas; MEC: NFC mecánicas; L*: luminosidad; C*: saturación; h: tono.

Este comportamiento coincide con el observado por de Gómez et al. (2003) y Martínez et al. (2014) en ensayos de panificación realizados tras la adición de distintos tipos de

fibras, quienes justificaron la estabilidad del color de la corteza debido a que está asociado a las reacciones de Maillard y de caramelización durante el horneado. Por el contrario, el color de la fibra podría determinar el color de la miga debido a que ésta no alcanza temperaturas tan elevadas. Las características cromáticas de las fibras empleadas en este estudio (éstas fueron traslúcidas) y las pequeñas dosis en las que fueron empleadas las NFC, justificarían la ausencia de efectos significativos sobre el color de la miga del pan.

4.3.3 PROPIEDADES DEL ALVEOLADO DE LA MIGA

Los resultados del análisis del alveolado de cada uno de los panes elaborados se plasmaron en la Tabla 9. En ella se pueden observar ciertas diferencias significativas ($p < 0,05$) para los tres parámetros analizados; que afectaron fundamentalmente a la uniformidad del alveolado.

Tabla 9. Valores medios resultantes del análisis de imagen sobre los panes control y los aditivados con NFC enzimáticas y mecánicas a las tres concentraciones de estudio (0,5%, 1% y 1,5% p/p en base harina).

Muestra	Área media (mm ²)	Densidad alveolar (alveolos/cm ²)	Uniformidad
CONTROL	0,698 ^{bc}	35,250 ^a	34,508 ^b
ENZ 0,5%	0,532 ^a	41,500 ^b	93,857 ^e
ENZ 1%	0,515 ^a	41,844 ^b	69,433 ^d
ENZ 1,5%	0,740 ^c	31,094 ^a	25,874 ^a
MEC 0,5%	0,628 ^b	36,438 ^{ab}	42,223 ^c
MEC 1%	0,667 ^{bc}	31,094 ^a	25,933 ^a
MEC 1,5%	0,714 ^{bc}	31,344 ^a	25,395 ^a
ES	0,028	1,730	1,362

Valores con letras en común en la misma columna indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). ES: error estándar agrupado obtenido del análisis ANOVA; ENZ: NFC enzimáticas; MEC: NFC mecánicas.

En general, la adición de NFC ocasionó una reducción de uniformidad que resultó más acusada cuando se emplearon NFC mecánicas, especialmente a las concentraciones más elevadas (1% y 1,5% p/p). La adición de NFC de origen enzimático a bajas concentraciones causó efectos contrarios respecto a las NFC mecánicas. En este caso, se redujo el tamaño de los alveolos de forma significativa ($p < 0,05$), se incrementó el número de alveolos por unidad de superficie y, por lo tanto, la miga mostró una mayor uniformidad, tal y como se puede observar en la Figura 2.

Arufe et al. (2017) han correlacionado la uniformidad de la miga de los panes elaborados con mezclas de fibras dietéticas con la densidad de los mismos, habiendo concluido una relación positiva entre ambos parámetros. Las muestras formuladas con NFC enzimáticas a 0,5% (p/p) mostraron un volumen específico significativamente ($p < 0,05$) superior al de las muestras restantes, resultando también significativas las

diferencias observadas en la uniformidad de su miga con respecto al control y a los panes de las demás formulaciones estudiadas.



Figura 2. Secciones transversales centrales de las rebanadas de pan elaboradas. Pan control (A), pan con NFC enzimáticas al 0,5% p/p (B), pan con NFC enzimáticas al 1% p/p (C), pan con NFC enzimáticas al 1,5% p/p (D), pan con NFC mecánicas al 0,5% p/p (E), pan con NFC mecánicas al 1% p/p (F), pan con NFC mecánicas al 1,5% p/p (G).

4.3.4 PROPIEDADES TEXTURALES DE LA MIGA

El mismo día de elaboración de los panes se procedió a medir una serie de parámetros texturales de la miga cuyos resultados se exponen en la Tabla 8. También se determinó el incremento de dureza entre el día 0 y el día 7, lo que nos da una idea del envejecimiento del producto.

En cuanto a las mediciones a día 0, se observaron ciertas diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el control y las muestras elaboradas con NFC. De forma general, la dureza, la resiliencia, la gomosidad y la mastibilidad se vieron incrementadas con la adición de NFC mientras que la cohesividad se redujo. Las NFC de origen mecánico ocasionaron efectos más acusados cuando se trata de evaluar la dureza, la

cohesividad, la gomosidad y la masticabilidad. Por el contrario, las de origen enzimático provocaron que la resiliencia alcanzara valores superiores. La aplicación de concentraciones crecientes de NFC tuvo como consecuencia que los parámetros texturales evolucionen hacia las tendencias descritas. Este comportamiento fue observado previamente también por Encinas (2016), en matrices de pan con gluten formuladas con NFC de origen químico.

Se debe destacar las propiedades texturales de la miga de los panes elaborados con 0,5% (p/p) de NFC enzimáticas, ya que los parámetros analizados no evolucionaron siguiendo la misma tendencia. Como se ha comentado previamente, los panes elaborados con la citada nanofibra y concentración se caracterizaron por un volumen específico superior al del resto de elaboraciones, incluido el control. Se ha comprobado que los panes que presentan un elevado volumen específico se caracterizan también por una miga más blanda. La masa presenta una baja resistencia a la deformación, poseyendo un elevado contenido de aire (Gómez et al., 2003; Martínez et al., 2014). La menor gomosidad y masticabilidad de dicha muestra se relaciona con la menor dureza que presenta el pan. Debido a que se trata de un pan muy deformable, la deformación sufrida antes de romperse y la capacidad de recuperación instantánea resultaron ser las más elevadas del conjunto muestral.

Para interpretar el envejecimiento de los panes tras 7 días, se consideró el incremento de dureza entre las dos medidas realizadas a día 0 y día 7. En función de la evolución de este parámetro en los panes elaborados con nanofibras, se concluyó que la adición de NFC de distintos orígenes altera el proceso de envejecimiento de la miga. Las diferencias observadas con respecto al control en el incremento de dureza fueron significativas ($p < 0,05$) en los panes formulados con NFC de origen mecánico, siendo más acusadas a medida que la concentración empleada fue superior. Se pudo concluir que la adición de NFC de origen mecánico provoca una reducción de la vida útil del pan ya que el endurecimiento del mismo aparece de forma más acusada en el tiempo.

Los panes aditivados con NFC de origen enzimático no mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en cuanto al incremento de dureza con respecto al pan control, por lo que la vida útil se mantiene e incluso se podría incrementar en el caso de la menor concentración de dicha NFC. Se trata, como hemos visto, de un pan con una miga uniforme, elevada densidad alveolar y que posee gran cantidad de aire, por lo que mostró una escasa resistencia a la deformación incluso con 7 días de envejecimiento.

La retrogradación del almidón y la pérdida de agua causan, con una intensidad similar, el incremento en la dureza del pan. La migración del agua ocasiona el ablandamiento de la corteza y el secado de la miga (Monteau et al., 2017). Gómez et al. (2003) y Huang et al. (2016) demostraron que ciertos tipos de fibras retrasan el endurecimiento de los panes durante el almacenamiento, relacionándolo con la capacidad de retención de agua de las fibras, la posible dilución del almidón y la interacción de las fibras con las moléculas del almidón. Todo ello ocasiona un retraso en la recristalización de la amilopeptina y por tanto del envejecimiento. El incremento de las interacciones entre fibra y el almidón, así como la competencia que la fibra establece con el almidón por el agua disponible en el producto, podría ser la causa del envejecimiento acelerado observado en los panes elaborados con NFC de origen mecánico, tal y como observó Encinas (2016) cuando se emplearon NFC de origen químico.

Tabla 8. Valores medios obtenidos del ensayo TPA sobre los panes control y los aditivados con NFC enzimáticas y mecánicas a las tres concentraciones de estudio (0,5%, 1% y 1,5% p/p en base harina).

Muestra	Dureza (gf)	Cohesividad	Resiliencia	Gomosidad (gf)	Masticabilidad (gf)	Incremento dureza 0-7 (gf)
CONTROL	2,481 ^b	0,680 ^{bc}	0,499 ^a	1,684 ^b	1,643 ^b	4,298 ^{ab}
ENZ 0,5%	1,230 ^a	0,712 ^d	0,535 ^b	0,876 ^a	0,863 ^a	2,230 ^a
ENZ 1%	2,383 ^b	0,690 ^c	0,524 ^b	1,643 ^b	1,611 ^b	3,914 ^{ab}
ENZ 1,5%	2,573 ^{bc}	0,685 ^{bc}	0,530 ^b	1,759 ^{bc}	1,721 ^{bc}	4,604 ^{ab}
MEC 0,5%	3,305 ^d	0,678 ^b	0,501 ^a	2,241 ^d	2,184 ^d	6,536 ^{bc}
MEC 1%	3,107 ^{cd}	0,679 ^b	0,528 ^b	2,106 ^{cd}	2,054 ^{cd}	8,355 ^{cd}
MEC 1,5%	4,463 ^e	0,661 ^a	0,495 ^a	2,949 ^e	2,869 ^e	9,788 ^d
ES	0,207	0,004	0,062	0,137	0,131	0,882

Valores con letras en común en la misma columna indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). ES: error estándar agrupado obtenido del análisis ANOVA; ENZ: NFC enzimáticas; MEC: NFC mecánicas.

5. CONCLUSIONES

Los geles y masas panarias elaboradas con NFC de origen enzimático y mecánico presentaron una clara viscoelasticidad cuya consistencia se incrementa por efecto de la concentración empleada. La adición de NFC de origen enzimático a bajas concentraciones mejora la calidad del pan de harina de trigo, en cuanto a volumen específico, uniformidad de la miga, dureza y envejecimiento.

Estas mejoras funcionales en la panificación con gluten se deben previsiblemente a su comportamiento como hidrocoloide. El empleo de nanofibras de celulosa puede ser una estrategia para mejorar la panificación con harina de trigo e incluso actuar como mejorantes naturales en matrices “Clean Label”. Por otro lado, incrementan el contenido de fibra final de los productos.

Una vez se declare su inocuidad, será necesario realizar análisis sensoriales que demuestren la aceptabilidad por parte de los consumidores. Para completar este estudio, trabajos futuros deben analizar la retrogradación de la amilopectina, emplear la nanofibra de celulosa en matrices sin gluten y valorar su aplicación como agentes emulgentes.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto (AGL2015-63849-C2-2-R) financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y los Fondos Europeos para el Desarrollo Regional (MINECO/FEDER) y del proyecto de la Comisión Europea, Marie Skłodowska-Curie H2020-MSCA-IF-2015-EF (Ref: 706102).

6. BIBLIOGRAFÍA

AACC (1995). Method: 44-19.01 Moisture - air-oven method, drying at 135°. *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists*, 11th Ed. AACC International, Minneapolis, USA.

AACC (2001). Method: 10-05.01 Baking quality - Guidelines for measurement of volume by rapeseed displacement. *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists*, 11th Ed. AACC International, Minneapolis, USA.

Andrade, D.R.M., Mendonça, M.H., Helm, C.V., Magalhães, W.L.E., de Muniz, G.I.B., & Kestur, S.G. (2015). Assessment of nano cellulose from peach palm residue as potential food additive: part II: preliminary studies. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5641-5650.

Arufe, S., Chiron, H., Doré, J., Savary-Auzeloux, I., Saulnier, L., & Della-Valle, G. (2017). Processing & rheological properties of wheat flour dough and bread containing high levels of soluble dietary fibres blends. *Food Research International*, 97, 123-132.

Bajpai, P. (2017). Chapter 3 - Structure and properties of cellulose and nanocellulose. En: *Pulp and Paper Industry*. Bajpai, P: (eds), 27-40. Elsevier, India.

Belghith, L., Chaari, F., Maaloul, M., Kallel, F., Abdelkafi, L., Ellouz-Chaabouni, S., & Ghribi-Aydi, D. (2016). Wheat bread enrichment by pea and broad bean pods fibers: Effect on dough rheology and bread quality. *LWT – Food Science and Technology*, 73, 584-591.

Caballero, P.A., Gómez, M., Rosell, C.M. (2007). Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination. *Journal of Food Engineering*, 81, 42-53.

Cho, S., & Almeida, N. (2012). *Dietary fiber and health*. CRC Press, New York.

Collar, C. (2003). Significance of viscosity profile of pasted and gelled formulated wheat doughs on bread staling. *European Food Research and Technology*, 216(6), 505-513.

Codex Alimentarius (2015). *Guidelines on nutrition labelling CAC/GL 2-1985 as last revision in 2015*. Rome: Joint FAO/WHO, Codex Alimentarius International Food Standards, FAO.

Corral, M.L., Cerrutti, P., Vázquez, A., & Califano, A. (2017). Bacterial nanocellulose as a potential additive for wheat bread. *Food Hydrocolloids*, 67, 189-196.

Correa, M.J., Añón, M.C., Pérez, G.T., & Ferrero, C. (2010). Effect of modified celluloses on dough rheology and microstructure. *Food Research International*, 43, 780–787.

Delgado-Aguilar, M., González, I., Tarrés, Q., Alcalá, M., Pèlach, À., & Mutjé, P. (2015). Approaching a low-cost production of cellulose nanofibers for papermaking applications. *BioResources*, 10(3), 5345-5355.

Encinas, M.T. (2016). *Estudio de las propiedades funcionales de nano-fibras de celulosa y su aplicación en panificación*. Trabajo Fin de Máster, Universidad de Valladolid, España.

Gómez, M., Ronda, F., Blanco, C.A., Caballero, P.A., & Apesteguía, A. (2003). Effect of dietary fibre on dough rheology and bread quality. *European Food Research and Technology*, 216(1), 51–56.

Gómez, C., Serpa, A., Velásquez-Cock, J., Gañán, P., Castro, C., Vélez, L., & Zuluaga, R. (2016). Vegetable nanocellulose in food science: A review. *Food Hydrocolloids*, 57, 178-186.

Hager, A.S., Ryan, L.A., Schwab, C., Gänzle, M. G., O'Doherty, J.V., & Arendt, E.K. (2011). Influence of the soluble fibres inulin and oat β -glucan on quality of dough and bread. *European Food Research and Technology*, 232(3), 405-413.

- Huang, G., Guo, Q., Wang, C., Ding, H.H., & Cui, S.W. (2016). Fenugreek fibre in bread: Effects on dough development and bread quality. *LWT – Food Science and Technology*, 71, 274-280.
- Isogai, A., Saito, T., & Fukuzumi, H. (2011). TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale*, 3, 71-85.
- Jia, X., Chen, Y., Shi, C., Ye, Y., Abid, M., Jabbar, S., Wang, P., et al. (2014). Rheological properties of an amorphous cellulose suspension. *Food Hydrocolloids*, 39, 27-33.
- Kulkarni, V.S., & Shaw, C. (2016). Chapter 9—Rheological studies. En: *Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages*. Kulkarni, V.S., & Shaw, C: (eds.), 145–182. Academic press, USA.
- Lai, P., Li, K. Y., Lu, S., & Chen, H. H. (2011). Physicochemical characteristics of rice starch supplemented with dietary fibre. *Food Chemistry*, 127, 153–158.
- Li, Y., Zhu, K., Guo, X., Peng, W., & Zhou, H. (2016). Interaction of barley β -D-glucan with wheat starch: Effect on the pasting and rheological properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 70–76.
- Martínez, M.M., Díaz, Á., & Gómez, M. (2014). Effect of different microstructural features of soluble and insoluble fibres on gluten-free dough rheology and bread-making. *Journal of Food Engineering*, 142, 49-56.
- Monteau, J.Y., Purlisa, E., Besbesa, E., Jurya, V., & Le-Bail, A. (2017). Water transfer in bread during staling: Physical phenomena and modeling. *Journal of Food Engineering*, 211, 95-103.
- Mudgil, D., Barak, S., & Khatkar, B.S. (2016). Optimization of bread firmness, specific loaf volume and sensory acceptability of bread with soluble fiber and different water levels. *Journal of Cereal Science*, 70, 186-191.
- Nechporchuk, O., Belgacem, M.N., & Pignon, F. (2014). Rheological properties of micro-/nanofibrillated cellulose suspensions: Wall-slip and shear banding phenomena. *Carbohydrate Polymers*, 112, 432–439.
- Pääkkö, M., Ankerfors, M., Kosonen, H., Nykänen, A., Ahola, S., Österberg, M., Lindström, T., et al. (2007). Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing

and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules*, 8(6), 1934–1941.

Ronda, F., Oliete, B., Gómez, M., Caballero, P.A., & Pando, V. (2011). Rheological study of layer cake batters made with soybean protein isolate and different starch sources. *Journal of Food Engineering*, 102, 272–277.

Ronda, F., Villanueva, M., & Collar, C. (2014). Influence of acidification on dough viscoelasticity of gluten-free rice starch-based dough matrices enriched with exogenous protein. *Food Science and Technology*, 59(1), 12-20.

Ronda, F., Pérez-Quirce, S., Lazaridou, A., & Biliaderis, C. (2015). Effect of barley and oat β -glucan concentrates on gluten-free rice-based doughs and bread characteristics. *Food Hydrocolloids*, 48, 197-207.

Saito, T., Kimura, S., Nishiyama, Y., & Isogai, A. (2007). Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules*, 8(8), 2485-2491.

Sasaki, T., Kohyama, K., & Yasui, T. (2004). Effect of water-soluble and insoluble non-starch polysaccharides isolated from wheat flour on the rheological properties of wheat starch gel. *Carbohydrate Polymers*, 57, 451–458.

Szakal, C., Roberts, S. M., Westerhoff, P., Bartholomaeus, A., Buck, N., Illuminato, I., Canady, R., et al. (2014). Measurement of nanomaterials in foods: integrative consideration of challenges and future prospects. *ACS Nano*, 8(4), 3128-3135.

Turbak, A.F., Snyder, F.W., & Sandberg, K.R. (1983). Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential. *Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium*, 37, 815-827.

Turfani, V., Narducci, V., Durazzo, A., Galli, V., & Carcea, M. (2017). Technological, nutritional and functional properties of wheat bread enriched with lentil or carob flours. *LWT - Food Science and Technology*, 78, 361-366.

Yildiz, Ö., Yurt, B., Baştürk, A., Said-Toker, Ö., Tahsin-Yilmaz, M., Karaman, S., & Dağlıoğlu, O. (2013). Pasting properties, texture profile and stress–relaxation behavior of wheat starch/dietary fiber systems. *Food Research International*, 53, 278–290.

Zhu, F., Cai, Y.Z., Sun, M., & Corke, H. (2009). Effect of phytochemical extracts on the pasting, thermal, and gelling properties of wheat starch. *Food Chemistry*, 112, 919–923.