



ESTUDIO DE ADECUACIÓN DE ALMIDONES DE TRIGO EN LA ELABORACIÓN DE PANES SIN GLUTEN

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2016/17

Alumno: Eva de la Cal Núñez

Tutores: Manuel Gómez Pallarés

Laura Román Rivas

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. OBJETIVO	5
3. MATERIALES Y MÉTODOS	6
3.1. Materiales.....	6
3.2. Métodos	6
3.2.1. Propiedades y caracterización de los gránulos de almidón tipo A y B	6
3.2.2. Preparación de la masa y panificación	8
3.2.3. Microscopía de masas y panes	9
3.2.4. Propiedades reológicas de las masas	9
3.2.5. Desarrollo de las masas y producción de gas	11
3.2.6. Calidad de los panes.....	11
3.2.7. Análisis de la imagen (alveolado)	12
3.2.8. Análisis estadístico.....	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
4.1. Comportamiento viscoso del almidón de trigo tipo A y B en un ciclo calentamiento-enfriamiento	13
4.2. Reología de las masas	15
4.3. Desarrollo de las masas y producción de gas	18
4.4. Propiedades del pan.....	19
4.4.1. Volumen específico y pérdida de humedad.....	20
4.4.2. Ensayo de textura TPA	21
4.4.3. Propiedades de color de las cortezas y migas	22
4.4.4. Microestructura de la miga y corteza	22
5. CONCLUSIONES	25
6. BIBLIOGRAFIA	26

Resumen

En los últimos años han crecido las investigaciones sobre los procesos de elaboración de panes sin gluten. En el presente estudio se analizó la influencia de los dos tipos de gránulos presentes en el almidón de trigo, denominados tipo A (grande) y tipo B (pequeño), con la finalidad de mejorar la calidad de dichos panes. Se estudió la microestructura, la reología y el comportamiento durante la fermentación de las masas sin gluten. La calidad de los panes se evaluó en términos de volumen específico y pérdida de peso, textura y alveolado de la miga y color. Los mayores porcentajes de almidón pequeño promovieron una mayor continuidad y densidad de la estructura de las masas. La microscopía mostró que los gránulos pequeños rellenaban el espacio de los grandes, dando masas con mayor consistencia y menor grado de fluencia y recuperación, a medida que el almidón tipo B aumentaba en la fórmula. La combinación de almidón A y B en proporciones de 25-75 y 75-25 dio lugar a panes con mayor volumen específico y mejores propiedades texturales. Por otro lado, los panes con mayor proporción de almidón B dieron lugar a migas con alveolado más cerrado y las cortezas fueron más pálidas.

Palabras clave: pan sin gluten, almidón de trigo, tamaño de partícula

Abstract

Research about gluten-free bread-making techniques has experienced a remarkable increase in the last years. The present study deals with the influence of the two distinct classes of granules that compose wheat starch, named as type-A (large) and type-B (small), on the quality of gluten-free breads. In this way, the microstructure, rheology of the doughs and their behavior during fermentation has been studied. The quality of breads was evaluated in terms of specific volume and loss of weight, texture and crumb grain and colour. The highest percentages of small starch granules fostered a greater continuity and density of the structure of the doughs. The microstructure showed that small granules filled the space of the large ones, giving doughs with greater consistency and less degree of creep recovery, as starch type-B increased in the formulation. The combination of type- A and B starches in proportions of 25-75 and 75-25 resulted in loaves with higher specific volume and better textural properties. On the other hand, the breads with higher proportion of type-B starch led to crumbs with more closed cell grain and a paler crust..

Keywords: gluten free bread, wheat starch, particle size

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una creciente demanda de productos sin gluten debido al crecimiento, aparente o real, de la enfermedad celiaca, a otras reacciones alérgicas/intolerancias al consumo de gluten, o simplemente por la creencia de que una dieta sin gluten es más sana. La enfermedad celiaca está relacionada con la inflamación del intestino delgado, produciendo una mala absorción de varios nutrientes importantes y dañando la mucosa intestinal. Esta enfermedad está caracterizada por una fuerte respuesta inmune a ciertas secuencias de aminoácidos que se encuentran en la fracción de las prolaminas (gliadinas), mayoritariamente, y glutelinas (gluteninas) del trigo, cebada y centeno (Thompson, 2001; Matos & Rosell, 2012). Las personas celiacas que por un trastorno autoinmunitario, tienen una alteración de la mucosa del intestino que les hace intolerantes al gluten, representan cerca del 1 % de la población española (Catassi & Fasano, 2008).

Desde el punto de vista funcional, el gluten, que es la principal proteína de las harinas de trigo, formado por gliadinas y gluteninas, es responsable de las propiedades de elasticidad y extensibilidad necesarias para producir panes de calidad cuando es sometido a condiciones de esfuerzo mecánico, con un contenido de agua suficiente (Ylimaki et al, 1991). Estas fracciones son las responsables de proporcionar diferentes propiedades reológicas a la masa después de formarse la estructura dinámica. Se estima que la gliadina contribuye a la extensibilidad, mientras que la glutenina contribuye a la elasticidad. Actualmente, los panes sin gluten han llegado a los supermercados, pero son panes de baja calidad y alto precio, con migas más secas, dando malas sensaciones en boca y un sabor pobre (Schamne et al., 2010).

Hasta ahora el único tratamiento efectivo que se conoce para combatir la enfermedad celiaca es seguir una dieta estricta libre de gluten durante toda la vida del paciente. Esto podría prevenir mayores complicaciones causadas por el gluten en la persona que presenta este déficit. El objetivo es evitar síntomas gastrointestinales, como diarrea malabsortiva o retraso ponderoestatural, y síntomas extraintestinales, como dermatitis herpetiforme, anemia ferropénica, déficits nutricionales y neoplastias (Domarus et al., 2009).

Las fuentes de almidón más importantes son las de maíz, trigo, tapioca, arroz y patata. Mientras el uso de almidones de cereales naturalmente libres de gluten no presenta ninguna controversia, el uso de almidón de trigo (también los almidones de cebada, centeno o avena) en productos sin gluten han sido cuestionados por su posible contaminación con gluten (Capriles & Areas, 2014). De hecho, el uso de almidón de trigo

fue prohibido en algunos países y permitidos en otros en función de la definición de la dieta sin gluten (Thompson, 2001).

Hoy en día en el mercado se puede obtener almidón de trigo libre de gluten gracias a la mejora de los procesos de extracción del mismo y su uso presenta una buena alternativa en panificación sin gluten, pudiendo imitar en mayor medida las características organolépticas de un pan de trigo. Peräaho et al., (2003) mostraron que los pacientes con enfermedad celiaca que ingirieron almidón de trigo sin gluten presentaron un histológico y una recuperación clínica similar a la de aquellos pacientes que siguieron una dieta libre de gluten sin consumo de almidón de trigo. El Codex Alimentarius Standard permite ciertas cantidades de prolamina para los alimentos denominados sin gluten. Así, el almidón de trigo usado para productos sin gluten está particularmente formulado para cumplir con los requisitos del Codex Standard para Alimentos Sin Gluten (Codex Alimentarius Commission, 2000).

El principal componente del endospermo del grano de trigo es el almidón. El almidón es un polisacárido de reserva y está constituido por dos tipos de α -glucanos, amilosa y amilopectina. La amilosa es una molécula relativamente larga y lineal compuesta de α -D-glucopiranosas unidas mediante enlaces glucosídicos α (1-4), que presenta un peso molecular menor de 10^6 . Por otro lado, la amilopectina es una molécula mucho más larga, está fuertemente ramificada, y construida a partir de aproximadamente un 95% de enlaces α (1-4) y un 5 % de enlaces α (1-6). Esta molécula presenta masas moleculares superiores a 10^8 . Las unidades de la cadena principal de la amilopectina son mucho más cortas que las de las moléculas de amilosa. La cadena principal está compuesta por α -D-glucopiranosas unidas por enlaces α (1-4) y eslabonadas con cientos de pequeñas cadenas mediante enlaces α (1-6) en la ramificación. El enlace α (1-4) imparte a la molécula un giro natural, dando lugar a conformaciones de la cadena en forma helicoidal. El gránulo de almidón es un sistema semicristalino, que consta de regiones cristalinas y amorfas, estando formadas las regiones amorfas principalmente de amilosa (Tester et al., 2004).

Las propiedades físico-químicas del almidón y su idoneidad para diversas aplicaciones industriales dependen de la proporción, composición y estructura de las moléculas de amilosa y amilopectina, así como de la longitud y patrón de las ramas de amilopectina, la sustitución de monómeros de glucosa, y el tamaño y modalidad de los gránulos (Boren et al., 2008). El endospermo del trigo maduro contiene al menos dos tamaños de gránulos de almidón (Guo et al., 2014; Peng et al., 1999). Los gránulos de los almidones varían en su forma y tamaño. Los gránulos grandes (conocidos como gránulos tipo-A)

presentan forma ovalada, mientras que los gránulos pequeños (tipo-B) tienen forma de esfera. Meredith (1981) y Parker (1985) estudiaron la separación cuantitativa de los gránulos de almidón de trigo por peso e indicaron que, en su forma natural, el almidón de trigo presentaba aproximadamente un 30 % de gránulos tipo B y un 70 % de gránulos tipo A.

Los gránulos de almidón tipo A y B no solo se diferencian de su forma y tamaño sino también de su composición. Según Ao & Jane (2007), los gránulos tipo A presentan amilopectinas con cadenas laterales más largas (mayor proporción de cadenas tipo B2 frente a las A y B1). Las cadenas A y B1 son las más externas y forman dobles hélices dentro de los gránulos nativos. El porcentaje de cristalinidad de los gránulos tipo A es menor que en los gránulos tipo B, razón por la que los gránulos de almidón tipo B retrogradan más lentamente que el tipo A. Este hecho se atribuye a que el contenido de amilosa del almidón de los gránulos tipo A es mayor que el de tipo B (Tester et al., 2004).

Las diferencias respecto a la morfología, estructura y composición entre ambos tipos de gránulos permitió obtener diferencias en sus propiedades funcionales (Parker, 1985). Los gránulos tipo A presentan mayores entalpías de gelatinización, mayores parámetros de viscosidad máxima, viscosidad de caída, rotura (estabilidad), viscosidad final, y menores tiempos de comienzo de la gelatinización y “pasting temperature” (Sahlström et al., 2002; Shinde et al., 2003; Liu et al., 2007).

En los últimos años, al incrementarse el interés en desarrollar panes libres de gluten, se han realizado numerosos estudios sobre el uso de mezclas de almidones y harinas sin gluten para conseguir imitar las propiedades viscoelásticas del gluten, dando mejores estructuras, sensación en boca, aceptabilidad y vida útil de los panes. Según estos artículos, estas mezclas pueden lograr mejores resultados que solo la harina o el almidón (Mancebo et al., 2015; Martínez & Gómez, 2017; Parker, 1985).

Mancebo et al., (2015) estudiaron la optimización de la calidad de los panes sin gluten empleando mezclas de harina de arroz y almidones, de maíz y trigo. Estos autores encontraron que, con la incorporación del almidón de trigo en las formulaciones de pan sin gluten se conseguían mejores resultados respecto al volumen específico y la densidad alveolar (número de alveolos/cm²) que en aquellos panes elaborados con harina de arroz. Además, tuvieron mayor aceptabilidad y mejores propiedades sensoriales que los panes de almidón de maíz. Mezclas de harina de arroz y almidón de trigo dieron lugar a panes óptimos, obteniendo mayor aceptación sensorial, esta combinación se estableció como la mezcla óptima.

Martínez & Gómez, (2017) investigaron sobre la evolución reológica y microestructural de harinas y almidones sin gluten durante la fermentación y el horneado de panes. En el artículo se concluyó que los cambios que se produjeron durante la fermentación y el horneado de los panes sin gluten, dependían de la estructura y morfología de los gránulos de almidón y de las partículas de las harinas. Las partículas más largas y compactas dieron lugar a panes con volúmenes y propiedades texturales menores (dureza, elasticidad, cohesividad). Además observaron que el tamaño bimodal del almidón de trigo fue más propenso a formar una matriz almidón-hidrocoloide continua y uniforme, algo que se intensificó durante el horneado como consecuencia de una menor “pasting temperature” del almidón de trigo, por producirse antes la lixiviación de la amilosa (gelatinización completa).

Solo se ha encontrado un estudio que analiza el contenido en almidones de distinto tamaño en panificación, pero este se basa en panes con gluten. Park et al., (2005) analizaron el efecto de la proporción de gránulos de almidón tipo A y B en harinas de trigo reconstituidas, en la elaboración de panes con gluten. Se observó que el pan elaborado con harina reconstruida en la que se añadió un 30% de almidón tipo B y un 70 % de almidón tipo A tenía mayor aceptabilidad, en cuanto a la miga y textura. Al aumentar la proporción de gránulos pequeños se producía un pan con una textura más blanda y con mayor vida útil. Por lo tanto, se puede decir que hasta hoy no se había estudiado como afecta la proporción de los dos tipos de gránulo de almidón (A y B) en las propiedades de los panes sin gluten.

2. OBJETIVO

El objetivo de este estudio consiste en analizar el empleo almidón de trigo separado en sus gránulos de almidón de tamaño grande (A) y pequeño (B) en la elaboración de pan sin gluten. Para ello se elaboraron panes sin gluten con mezclas de almidón tipo A y B en ratios de 0-100, 25-75, 50-50, 75-25 y 100-0.

Se analizaron las propiedades y el comportamiento viscoso del almidón tipo A y tipo B y sus mezclas en un ciclo de calentamiento-enfriamiento. También se estudió la reología de las masas con ensayos oscilatorios y de fluencia-recuperación, el desarrollo y producción de gas de las masas durante la fermentación y la microestructura de las masas. A los panes sin gluten obtenidos se les analizó el volumen específico y pérdida de humedad, propiedades texturales, microestructura de las migas de los panes y color de la miga y corteza.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

Para la elaboración de los panes se empleó almidón de trigo suministrado en gránulos grandes (A) y pequeños (B) por Roquette Laisa (Lestrem, Francia). El resto de ingredientes usados para la elaboración de los panes fueron hidrocoloide VIVAPUR 4KM HPMC (Hidroxipropilmetilcelulosa, JRS, Rosenberg, Alemania), levadura seca instantánea (Dosu Maya Mayacilik A.S., Türkmali, Turquía), sal (Unión Salinera de España, Madrid, España), azúcar (Azucarera, AB, Madrid, España), aceite refinado de girasol (Langosta, Ciudad Real, España) y agua procedente de la red local.

Para el estudio se realizaron cinco mezclas, como se indica en la *Tabla 1*, teniendo en cuenta que al almidón de trigo grande se le denomina “A” y al almidón de trigo pequeño “B”.

Tabla 1. Mezclas realizadas con almidón grande (A) y pequeño (B)

Mezclas	Almidón Grande (A)	Almidón Pequeño (B)
1	100	0
2	75	25
3	50	50
4	25	75
5	0	100

3.2. Métodos

3.2.1. Propiedades y caracterización de los gránulos de almidón tipo A y B

La humedad de ambos almidones se midió mediante una termobalanza MA 150 (Sartorius, Goettingen, Alemania). La distribución del tamaño de la partícula fue medida con un analizador de difracción láser (Mastersizer 3000, Malvern Instruments, Ltd., Worcestershire, UK). Se registró el diámetro medio del volumen equivalente o de masa $d(4,3)$, que indica el punto central de la distribución del volumen de las partículas. El almidón dañado (DS, Starch damage) se analizó mediante el método AACC 76-31.01 (AACC, 2015) utilizando el Kit de almidón dañado Megazyme (Wicklow, Irlanda). Se analizó la capacidad de agua al someter a la muestra a estrés mecánico (WBC), que se puede definir como la cantidad de agua retenida por el almidón después de someterle a centrifugación. El análisis se realizó de acuerdo al método estándar AACC 56-30.01 (AACC, 2015). Las muestras ($5 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$) se mezclaron con agua destilada ($25 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$) en un tubo falcom, y fueron centrifugadas a $2000 \times g$ durante 10 min.

El índice de solubilidad (WSI, water solubility index) fue determinado por el método Toyokawa et al. (1989), con las modificaciones de Rosell et al. (2011). La muestra de almidón (1,25 g ± 1 mg) (Wi) fue disuelta en 25 g de agua destilada, agitada en vortex y calentada a 90 °C durante 10 minutos en un baño de agua. Seguidamente, la pasta caliente fue enfriada en un baño de hielo durante 10 minutos y luego se centrifugó a 3000 x g durante 10 minutos. El sobrenadante fue decantado en platos de evaporación y el residuo restante fue pesado (Wr). Posteriormente se secó el sobrenadante a 105 °C durante 24 horas y el sólido seco obtenido fue pesado (Ws). Se calculó empleando la siguiente fórmula:

$$WSI \left(\frac{g}{100 g} \right) = \frac{Ws}{Wi} \cdot 100$$

El comportamiento de los almidones en un ciclo de calentamiento-enfriamiento se analizó usando el método estándar AACC 61-02.01 (AACC, 2015) con un Rapid Visco Analyser (RVA-4) (Perten Instrument Australia, Macquarie Park, Australia). Este método consiste en someter una mezcla de almidón y agua a un calentamiento desde 50 °C hasta 95 °C, mantenerlo durante un tiempo a esa temperatura (5 minutos) y después enfriar hasta llegar a los 50°C, registrándose la viscosidad de la mezcla. Todos los análisis de caracterización se hicieron por duplicado. Los datos obtenidos se muestran en la *Tabla 2*.

Tabla 2. Composición y propiedades físicas dependiendo del tamaño de almidón

Almidón	Humedad (g agua /100 g)	D(4,3) µm	DS (g /100g)	WBC (g agua /g sólido)	WSI (g/ 100 g)	PT (°C)	PT' (min)	TR (°C)	PV (cP)	BR (cP)	FV (cP)	ST (cP)
A	13,66	19,9	1,40	0,649	1,54	69,80	6	3424	4682	1258	5554	2130
B	9,47	6,09	2,76	0,767	2,49	89,35	7	2803	3107	304	4247	1444

D(4,3) = diámetro medio volumen de Brouckere (diámetro de volumen medio ponderado suponiendo partículas esféricas del mismo volumen que las partículas reales), DS = Almidón dañado (Damaged starch), WBC= capacidad de retención de agua bajo estrés mecánico, WSI= índice de solubilidad de agua, PT= "pasting temperature", PT' = tiempo hasta alcanzar el pico (Peak Time), TR= Viscosidad de caída (Trough), PV= pico de viscosidad, BR= estabilidad (Breakdown), FV= viscosidad final, ST = retrogradación (Setback)

Los principales parámetros del ensayo RVA de viscosidad, representados en la *Figura 1*, se describen a continuación. El pico de viscosidad (PV, peak viscosity) indica la viscosidad máxima alcanzada durante la gelatinización. El tiempo del pico (PT') es el tiempo que tarda en alcanzarse la viscosidad máxima. La rotura (BR, Breakdown) representa la estabilidad del gránulo tras la gelatinización y se calcula como la diferencia entre la viscosidad máxima (PV) y la viscosidad de caída (TR, trough). La viscosidad de

caída (TR) es la viscosidad mínima alcanzada tras el calentamiento antes de que comience la retrogradación. La retrogradación (ST, Setback) se obtiene por diferencia entre la viscosidad final (FV, final viscosity) y la viscosidad de caída (TR) e indica el aumento de viscosidad con el enfriamiento. Finalmente, la viscosidad final (VF) es el valor de la viscosidad de la muestra al final del análisis.

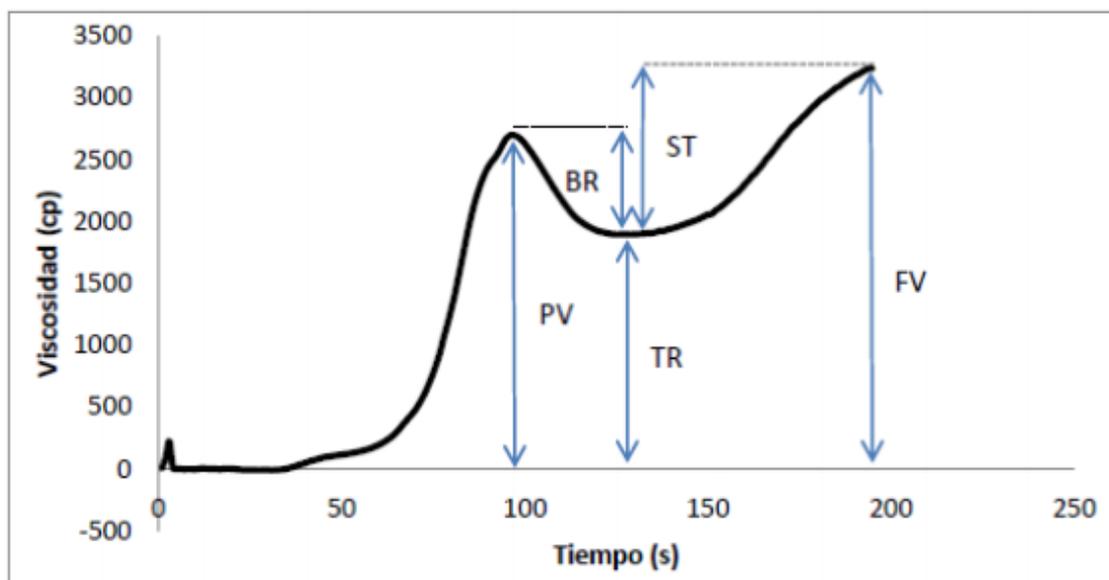


Figura 1. Parámetros que proporciona el equipo RVA en un ensayo de calentamiento-enfriamiento. Viscosidad máxima (PV), Rotura (BR), Viscosidad de caída (TR), Retrogradación (ST) y Viscosidad final (FV).

3.2.2. Preparación de la masa y panificación

Los siguientes ingredientes, presentes en la *Tabla 3*, se usaron para la panificación: agua (75 g/100 g de almidón), sal (2 g/100 g), azúcar (5 g/100 g), aceite (6 g/100 g), levadura seca instantánea (3 g/100 g) y HPMC (2 g/100 g). En todas las pruebas, la temperatura del agua se encontraba entre 20 y 22 °C. Los ingredientes se mezclaron durante 1 minuto a velocidad 1 en una Kitchen Aid 5KSM150 mezcladora (Kitchen Aid, Michigan, USA) con una pala plana. La levadura seca se disolvió, previamente, en agua y después fue añadida junto al resto de ingredientes que se mezclaron durante 8 min a velocidad 2. Para la elaboración de los panes, se pusieron 100 g de la masa obtenida en moldes de aluminio (109x159x38 cm, ALU-Schale, Wiklarn, Germany). La fermentación se llevó a cabo a 30 °C con una humedad relativa del 90 % durante 90 minutos. Finalmente, se hornearon en un horno eléctrico modular durante 40 minutos a 190 °C. Los panes obtenidos se dejaron enfriar durante 30 minutos, se introdujeron en bolsas de plástico perfectamente selladas y se almacenaron a 20 °C hasta su análisis. Para poder realizar la microscopía de la miga y corteza de los panes se congeló un pan

en cada elaboración a -20 °C, introduciéndolos previamente en bolsas de plástico perfectamente selladas. Todas las elaboraciones se realizaron por duplicado.

Tabla 3. Formulación utilizada

FORMULACIÓN DE PAN CON BAJO CONTENIDO EN AGUA		
INGREDIENTES	Peso (g)	% en base a la harina
Harina	500	100
Agua	375	75
Sal	10	2
Azúcar	25	5
Aceite	30	6
Levadura	15	3
HPMC	10	2

3.2.3. Microscopía de masas y panes

Microscopía óptica

Las muestras de las masas sin levadura se examinaron en un microscopio DM750 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania) a 1000 aumentos, equipado con cámara digital a color de alta velocidad EC3 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania). Las imágenes fueron capturadas utilizando el software LASEZ (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania). En primer lugar, la muestra de masa se depositó en un portaobjetos y se comprimió durante 30 segundos tras colocar el cubreobjetos. Las micrografías se realizaron el mismo día que se elaboraron en dos puntos al azar de cada muestra.

Microscopía electrónica de barrido ambiental

La microestructura de las cortezas y las migas de los panes fue analizada por microscopía electrónica de barrido ambiental (ESEM). Se utilizó un Microscopio ESEM (FEI, Quanta 200FEG, Oregon, USA) con un sistema de Microanálisis de Rayos-X integrado Génesis XM2i de EDAX, que permite la observación y análisis de muestras húmedas a presiones ambientales, sin necesidad de metalización superficial. La microscopía se hizo empleando un alto vacío. Las fotos de la miga se tomaron desde una inclinación perpendicular a la pared celular, por lo tanto, mostraban aire presente.

3.2.4. Propiedades reológicas de las masas

En la reología se estudió el comportamiento de las masas sin adición de levadura empleando un reómetro de esfuerzo controlado Thermo Scientific Haake RheoStress1 (Thermo Fisher Scientific, Schwerte, Alemania). Todas las medidas se monitorizaron con el programa informático Rheowin Pro Job Manager (Thermo Fisher Scientific,

Schwerte, Alemania) y para el análisis de datos se empleó el programa informático Rheowin Pro Data Manager (Thermo Fisher Scientific, Schwerte, Alemania). Se utilizó una geometría de platos paralelos de titanio de 60 mm de diámetro (PP60 Ti), de superficie rugosa con el fin de evitar el deslizamiento de la masa durante los análisis, con un espacio entre los platos de 3 mm y a una temperatura de 25 °C. El plato de abajo se mantuvo estacionario mientras que en el plato superior se impulsó una oscilación sinusoidal.

Una vez ajustado el espacio entre los platos, con objetivo de evitar la desecación de las muestras, se cubrió la superficie de masa expuesta al aire con aceite de vaselina Panreac (Panreac Química SA, Castellar del Vallés, España).

Ensayo oscilatorio

En el ensayo oscilatorio la masa se dejó reposar durante 300 segundos antes de iniciar el ensayo para eliminar posibles tensiones residuales. En primer lugar, se realizó un barrido de deformación de 0,1 a 100 Pa a una frecuencia de 1 Hz, con el fin de determinar la región viscoelástica lineal en cada muestra. Una vez definida la zona viscoelástica se escogió un valor de esfuerzo dentro de la misma para realizar el barrido de frecuencias. El barrido de frecuencias se realizó de 10 a 0,1 Hz. Para caracterizar las diferentes masas se emplearon los valores de: módulo elástico asociado con la energía almacenada por el material (G' [Pa]), módulo viscoso asociado con la energía disipada por el material (G'' [Pa]), tangente δ (G'/G'') para distintos valores de frecuencia (f [Hz]), y los coeficientes “a” y “b” que indican la dependencia de la frecuencia con G' y G'' respectivamente (Román et al., 2015). Además, se emplea el valor de G^* , que se corresponde con el modulo complejo y permite conocer la consistencia de las masas.

Ensayo de fluencia-recuperación (creep-recovery)

En los ensayos de fluencia-recuperación, la masa se dejó reposar durante 600 segundos antes de iniciarse el ensayo, seguidamente se aplicó un esfuerzo instantáneo constante en la región viscoelástica lineal de la muestra durante 60 segundos. Tras esos 60 segundos se retiró el esfuerzo y se permitió que la muestra recuperara la parte elástica (instantánea y retardada) de la deformación durante 180 segundos. Los datos obtenidos se describieron en términos de capacitancia de flujo, J , que se define como la tensión dividida entre el estrés aplicado (que se mantuvo en cero durante el ensayo). Las curvas de fluencia-recuperación se obtuvieron por combinación de tres deformaciones: elástico instantáneo, elástico retardado y deformación viscosa.

Todos los análisis de oscilatorio y fluencia-recuperación fueron realizados por duplicado.

3.2.5. Desarrollo de las masas y producción de gas

En el análisis del desarrollo de masas y la producción y retención de gas en función del tiempo se utilizó un Reofermentómetro (Chopin, Cedez, Francia) de acuerdo con el método descrito por Czuchajowska & Pomeranz (1993). Se adaptó el método a panes sin gluten, colocando 200 g de masa, fermentando a 30 °C y retirando los 2 kg de pesas del pistón, debido a que las masas sin gluten son más débiles que las masas tradicionales. Las masas empleadas fueron sometidas a las mismas condiciones que las usadas en el proceso de panificación.

3.2.6. Calidad de los panes

El estudio de la calidad de los panes se realizó a las 24 horas de la elaboración de estos. Para determinar el porcentaje de pérdida de peso de los panes se calculó la diferencia de peso entre la masa tras el horneado y la cantidad de masa puesta en el molde. El volumen del pan fue determinado usando un sensor láser con el Volscan Profiler (Stable Micro Systems, Godalming, UK). Las medidas de volúmenes se realizaron a tres panes por cada muestra. El volumen específico se calculó como la relación entre el volumen de pan y su masa.

La textura de la miga se midió con un analizador de textura TA-XT2 (Stable Microsystems, Surrey, UK) provisto del software "Texture Expert". Se utilizó una sonda cilíndrica de 25 mm de diámetro en un ensayo de doble compresión "Texture Profile Analysis" (TPA) para penetrar un 50% de profundidad, a una velocidad de 2 mm/s con un retardo de 30 segundos entre la primera y segunda compresión. A partir del gráfico TPA se calcularon dureza, elasticidad y cohesividad (Gómez et al, 2007). Las determinaciones texturales fueron realizadas en rebanadas centrales, de 20 mm de espesor, a las 24 horas. Los análisis se realizaron en cuatro rebanadas, dos de dos panes, por elaboración.

El color de los panes se midió con un espectrofotómetro Minolta CN-508i (Minolta Co. LTD, Tokio, Japón). Los resultados se obtuvieron usando un iluminador estándar D65 y el observador estándar 2°. Se expresaron en el espacio de color CIE L*a*b*, donde el parámetro L* (0-100) representa la luminosidad, mientras que a* y b* son coordenadas cromáticas (-60,60), donde +a* se corresponde con la coordenada de color rojo, -a* a la de color verde, +b* es la coordenada de color amarillo y -b* es la de color azul. Seguidamente, los valores se tradujeron al espacio de color L*C*h, donde se permitió evaluar tanto el valor del tono como el de la saturación de cada muestra, se calcularon con las fórmulas que se exponen a continuación. El color de la corteza fue medido en

cuatro puntos diferentes de una misma muestra y el color de la miga se analizó en un punto en 4 rebanadas de cada pan.

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

$$\text{Saturación o croma: } C^* = ((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2}$$

Para determinar las propiedades de la gelatinización del almidón, el grado de gelatinización y la entalpía de retrogradación de las cortezas y migas de las muestras, se empleó el colorímetro diferencial de barrido (TA Instruments DSC-Q20, Crawley, Reino Unido). Para ello se cortaron los panes y se tomó un trozo de miga del centro de la rebanada (dejando 1 cm de distancia con la corteza). La corteza se obtuvo raspando la superficie del pan. Para el análisis térmico, las muestras de la miga y de la corteza se secaron por liofilización y se molieron utilizando durante un minuto un Super Junio S molinillo de café (Moulinex, Ecully, Francia). La muestra y el agua se mezclaron en una relación 1:2 y se sellaron herméticamente. Se calentaron a 30°C y se mantuvieron durante 30 min, posteriormente se calentaron a 110 °C subiendo 10 °C/min (Sakiyan et al., 2011). Cada muestra se realizó por duplicado. El grado de gelatinización se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\text{Grado de gelatinización (\%)} = \left(\frac{\Delta H_{CoM}}{\Delta H_{MS}}\right) \times 100$$

Donde ΔH_{CoM} es la entalpía de la corteza o de la miga, y ΔH_{MS} es la entalpía de la masa.

3.2.7. Análisis de la imagen (alveolado)

Para el análisis de imagen, se escanearon 4 rebanadas en blanco y negro, de dos panes por cada elaboración, en un escáner HP Scanjet G3110 (HP, Palo Alto, EEUU). Las imágenes se escanearon a escala completa a 1200 píxeles por pulgada, se analizaron en escalas de grises (8 bits) y se guardaron en formato tiff. Se estableció una sección de visión de 15x17 mm, para capturar la mayoría de las áreas de los alveolos de la miga en cada rebanada. Las imágenes se trataron usando el programa “WCIF ImageJ” (Instituto Nacional de Salud, Bethesda, MD, USA). Los datos obtenidos del análisis de la estructura de las migas fueron el área media y la densidad alveolar (Matos & Rosell, 2012).

3.2.8. Análisis estadístico

Las diferencias entre los parámetros de las masas y los panes se estudiaron mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) con el test LSD de Fisher ($p < 0,05$, con intervalos de confianza del 95%). Además, se realizaron correlaciones de Pearson entre todas las variables estudiadas a través de un análisis multivariado para observar la

existencia de posibles relaciones lineales entre ellas. Todos los análisis se han llevado a cabo usando el software Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies Inc, Warrenton, EEUU).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Comportamiento viscoso del almidón de trigo tipo A y B en un ciclo calentamiento-enfriamiento

En la *Figura 2* aparecen representados los parámetros analizados con el RVA. Se puede apreciar, tanto en la *Figura 2* como en la *Tabla 2* (ver sección 2.2.1.), que a medida que aumentó el contenido en almidón tipo A (almidón grande) se obtuvieron mayores valores de viscosidad máxima. El almidón que gelatinizaba antes, el tipo A, poseía una mayor viscosidad de caída, es decir, presentó mayor diferencia entre el pico de viscosidad y la viscosidad mínima. Por otro lado, las mezclas de almidones presentaron propiedades intermedias a las de las pastas elaboradas con almidón tipo A (almidón grande) o almidón tipo B (almidón pequeño). Se puede observar que el pico de viscosidad máxima y la caída (Breakdown) son mayores en aquellas mezclas que presentan mayor proporción de almidón tipo A. En los estudios realizados por Sahlström et al. (2002), Shinde et al. (2003) y Liu et al. (2007) se demostró que los gránulos de almidón tipo B dieron valores mayores de “pasting temperature” y del tiempo que tardó en alcanzarse el pico de viscosidad máxima, coincidiendo con los resultados obtenidos en nuestro estudio. Estos resultados indicarían una mayor resistencia a gelatinizar de los gránulos de trigo tipo B, que puede estar relacionado con la diferente composición y organización de los gránulos. Se pudo deber al elevado contenido en amilosa y el incremento de las cadenas largas en las moléculas de amilopectina en el gránulo de almidón tipo A, facilitando su gelatinización (BeMiller et al., 2009).

El perfil de RVA está caracterizado por la absorción de agua de los gránulos de almidón al incrementarse la temperatura, y esto es regido por el proceso de gelatinización (Acosta-Osorio et al., 2011). De acuerdo con esto, el almidón tipo A tiene más amilosa (parte amorfa), que es por donde se empieza a absorber el agua, por lo tanto, presenta una menor resistencia a la gelatinización. La retrogradación en el RVA también se vería afectada por el contenido en amilosa, siendo el tipo A el que cuenta con una mayor proporción y el que tiene valores más altos de retrogradación.

En el estudio de León et al. (2006) observaron que se producía una disminución del pico de viscosidad cuando aumentaba el contenido de almidón dañado de la muestra. Por lo tanto, esto estaría de acuerdo con que el perfil que presenta menor viscosidad sea el que tiene mayor cantidad de almidón dañado, que dificulta la capacidad de hincharse, y

que se corresponde con el almidón tipo B. Otra posible explicación para el menor pico de viscosidad es que el hinchamiento se vea restringido a que el almidón tipo B es de algún modo más resistente, lo cual a su vez explicaría el mayor contenido de almidón dañado.

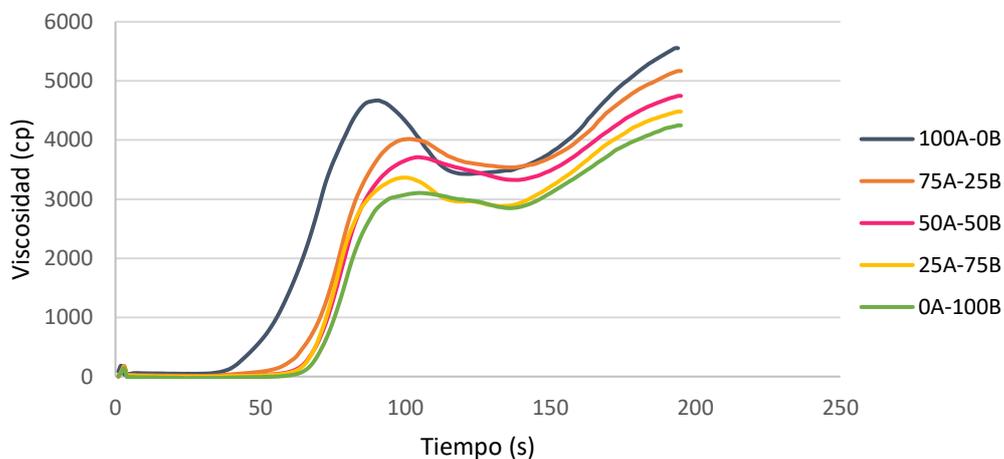


Figura 2. Gráfica obtenida por el equipo RVA en un ensayo calentamiento-enfriamiento de las proporciones de almidón grande y pequeño y sus mezclas.

4.2. Microestructura de las masas

Las micrografías obtenidas de las mezclas de los dos tipos de almidón, permitieron observar que los gránulos de almidón se encontraban atrapados en la fase continua junto al hidrocólide, mientras que las burbujas de aire daban lugar a la fase dispersa (Figura 3). La herramienta empleada para estudiar los posibles fenómenos de empaquetamiento producidos en las diferentes masas, fue el microscopio óptico. Esto permitió apoyar diversos resultados, tanto en el estudio reológico como en la calidad de los panes sin gluten.

En la masa de 100A-0B se observó una estructura menos compacta, debido a su gran tamaño y forma lenticular, dejando espacios entre los gránulos adyacentes, razón por la que pasó más luz por los vacíos en los espacios. Además, Martínez y Gómez (2017) observaron que los gránulos de tamaño grande, de patata, eran menos propensos a empaquetarse comparados con otras fuentes de almidones de menor tamaño, dando una fase continua menos uniforme en la masa de pan sin gluten. En la masa elaborada con 0A-100B, los gránulos pequeños mostraron una fase continua más uniforme debido al menor tamaño que presentan y su forma esférica, permitiendo un mejor empaquetamiento y posible interacción. Para las masas con dispersiones bimodales, es decir, con presencia de los dos tipos de gránulos de almidón de trigo, se prevé que los

gránulos pequeños (tipo B) rellenarán los espacios intersticiales de los gránulos grandes (tipo A), dando masas más densas y aumentando el volumen de relleno de la dispersión (Yano et al., 2017). Esta observación fue reportada por Martínez y Gómez (2017) al hacer panes sin gluten con almidón de trigo.

El tamaño y la forma de los gránulos de almidón tipo A dificultó la identificación de las células de gas en la masa, la cantidad de aire incorporado no fue claramente visible. Sin embargo, en las masas con proporción de almidón tipo B se pudo observar que sobre la superficie de burbujas de aire y/o gránulos tipo A los gránulos pequeños se adsorbían. Dickinson (2012) propuso que estas partículas sólidas se adsorberían en la interfase gas-fase acuosa para formar una barrera que protección de las gotitas contra la coalescencia en la fase continua, este fenómeno se conoce como “estabilización tipo Pickering”. Se espera que esta interacción positiva entre los gránulos de almidón pequeños y grandes refuerce el sistema durante la fermentación y la cocción, reduciendo la tensión interfacial entre el agua y el aire, y evitando la coalescencia del aire.

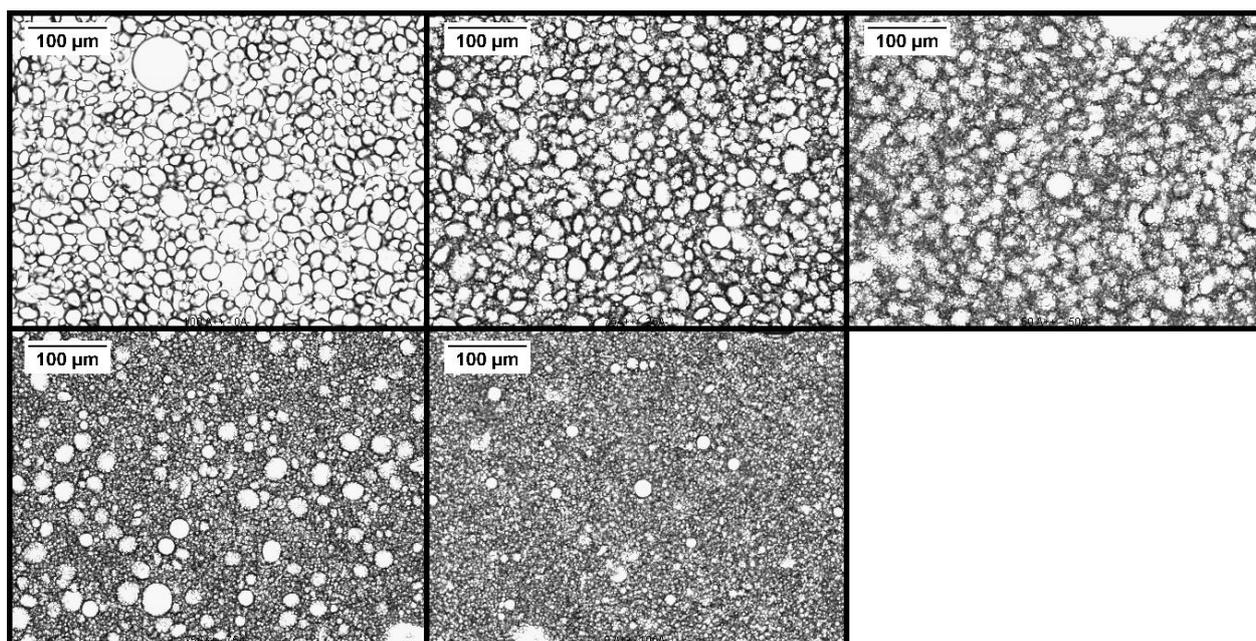


Figura 3. Micrografía óptica de 100-0 (A), 75-25 (B), 50-50 (C), 25-75 (D) y 0-100 (E) proporciones de los gránulos de almidón de trigo A y B

4.2. Reología de las masas

El carácter viscoelástico de las masas de pan sin gluten se expone en la *Tabla 4*, los módulos G' y G'' , conocidos como módulos de almacenamiento y pérdidas, respectivamente, representan la energía recuperable y perdida, cuando el material se somete a deformación. En todas las pruebas el rango de frecuencias G' fue mayor que

G'' , implicando la prevalencia del carácter elástico sobre el viscoso ($G' > G''$). Las mezclas con mayor porcentaje de almidón tipo B presentaron valores superiores de los módulos elástico y viscoso, respecto a las de almidón tipo A (Guo et al., 2014). Esto se puede atribuir a la consistencia de las mezclas, con un mayor contenido en almidón tipo A se obtuvieron menores consistencias que con el tipo B, por lo tanto, ofrecieron menores resistencias.

En los resultados obtenidos se pueden asociar una mayor absorción de agua de la muestra con el incremento en la viscoelasticidad de las masas, también puede deberse a la microestructura más cerrada que presentan las masas con almidón tipo B. Lo que permitió explicar que el almidón tipo B presentara mayor absorción de agua (ver *Tabla 2*) asociándose a mayores valores de G' y G'' , coincidiendo con los resultados que obtuvieron en sus estudios Lazaridou et al. (2007) y Chiotelli & Le Meste (2002).

El comportamiento reológico ante una pequeña deformación presentó diferencias considerables entre cada una de las mezclas. Para estudiar la dependencia de los módulos con la frecuencia se emplearon los parámetros a, b y c. Los menores valores de a y b supusieron una menor dependencia de G' con la frecuencia, dando masas con estructuras más estables. Por lo tanto, la resistencia ante una deformación fue mayor en las mezclas con mayores proporciones de almidón tipo B (Wang & Sun, 2002).

Las masas que menor G^* , módulo complejo, presentaron se corresponden con las masas de menor consistencia, es decir, las elaboradas con mayor proporción de almidón tipo A. Generalmente, las mezclas presentaron valores de G^* comprendidos entre los rangos que marcaron sus componentes individuales, tanto el almidón tipo B como el tipo A, coincidiendo con los resultados obtenidos por Mancebo et al., (2015).

La $\tan \delta$ es un parámetro que permite determinar el carácter viscoelástico relacionando G' y G'' , valores muy bajos de este parámetro indican un carácter más elástico (Korus et al., 2009). Los valores menores se obtuvieron en la masa de almidón tipo B, dando mezclas más elásticas. La determinación del coeficiente de variación del módulo complejo, d, y $\tan \delta$ se muestran en la *Tabla 4*, las diferencias que presentaron fueron significativas.

Tabla 4. *Parámetros reológicos de oscilatorio de masas de pan sin gluten.*

	$G'(Pa)$	a	$G''(Pa)$	B	$\tan\delta$	c	$G^*(Pa)$	d
100 A - 0 B	161a ± 55	0,39c ± 0,02	119a ± 42	0,37c ± 0,02	0,75c ± 0,04	-0,05b ± 0,01	200a ± 69	0,31a ± 0,12
75 A - 25 B	204a ± 78	0,36bc ± 0,04	139ab ± 40	0,34c ± 0,04	0,70bc ± 0,07	-0,04bc ± 0,01	247ab ± 87	0,35a ± 0,04
50 A - 50 B	339ab ± 47	0,33b ± 0,01	219b ± 20	0,28b ± 0,01	0,66b ± 0,03	-0,07a ± 0,00	405bc ± 50	0,32a ± 0,01
25 A - 75 B	511b ± 76	0,22a ± 0,01	221b ± 25	0,20a ± 0,02	0,43a ± 0,02	-0,03bc ± 0,00	556c ± 79	0,21a ± 0,01
0 A - 100 B	972c ± 139	0,22a ± 0,01	416c ± 50	0,20a ± 0,02	0,43a ± 0,02	-0,03c ± 0,01	1057d ± 146	0,22a ± 0,02

Valores medios ± SD (desviación estándar) seguidos por la misma letra en cada columna no fueron significativamente diferentes con un $p \leq 0,05$. G' y G'' representan los módulos de elasticidad y viscosidad, respectivamente, a 1 Hz, los coeficientes "a" y "b" indican la dependencia de frecuencia de los módulos de elasticidad y viscosidad respectivamente.

Los resultados obtenidos en el ensayo de fluencia-recuperación se encuentran en la *Figura 4*. En dicha figura se puede ver que las curvas de fluencia-recuperación de las masas sin gluten mostraron comportamiento viscoelástico típico, que combina tanto el fluido viscoso como respuesta elástica, similar a las curvas correspondientes obtenidas previamente en masas de trigo por Lazaridou et al. (2007).

Las pastas realizadas con almidón tipo B dieron unos valores más bajos respecto a la capacitancia, tanto en la etapa de fluencia como en la de recuperación, lo que indicaría una mayor consistencia que la realizada con el tipo A (Janssen et al., 1996). Coincidiendo con los resultados obtenidos en el ensayo de oscilatorio, debido a que las pastas de almidón tipo B presentaron un mayor valor de los módulos (G' y G''). A continuación, se observó que la estabilidad, diferencia entre $J_{C,max}$ y $J_{r,max}$, fue mayor para esas muestras lo cual está relacionado con una mayor elasticidad, es decir, mayor comportamiento tipo sólido de las mismas, estando de nuevo de acuerdo con el análisis oscilatorio.

En este estudio, las muestras con mayor capacidad de absorción obtuvieron valores de capacitancia más bajos, tanto en las fases de fluencia como de recuperación, lo que indicó una mayor resistencia de la masa.

La distribución de tamaño bimodal del almidón de trigo pudo promover una mayor continuidad y densidad de la estructura. La incorporación de gránulos de almidón de trigo tipo B promovió una mayor continuidad y densidad de la estructura de las masas. La microscopía mostró que los gránulos pequeños rellenaban el espacio de los grandes, dando masas con mayor consistencia y menor grado de fluencia y recuperación, a medida que el almidón tipo B aumentaba en la fórmula (*Figura 3*). Por lo tanto, se observó que las muestras siguieron un orden gradual dependiendo de la cantidad de

almidón de tipo A que poseían, cuanto menor fue el porcentaje de almidón de tipo A menor capacitancia presentó la muestra.

La reología de las masas se atribuyó a la estructura interna que presentan los almidones. En este caso se podría decir que el almidón de tipo B conseguía que los gránulos encajasen mejor por la geometría de las partículas (ver *Figura 3*) y diese lugar a menos huecos, aumentando la capacidad de compactación, dando masas más viscoelásticas y con capacitancias menores. Finalmente, esa mayor compactación y empaquetamiento de los almidones permitiría una mayor interacción gránulo-gránulo o gránulo-hidrocoloide dando lugar a una red estructural de la masa más fuerte.

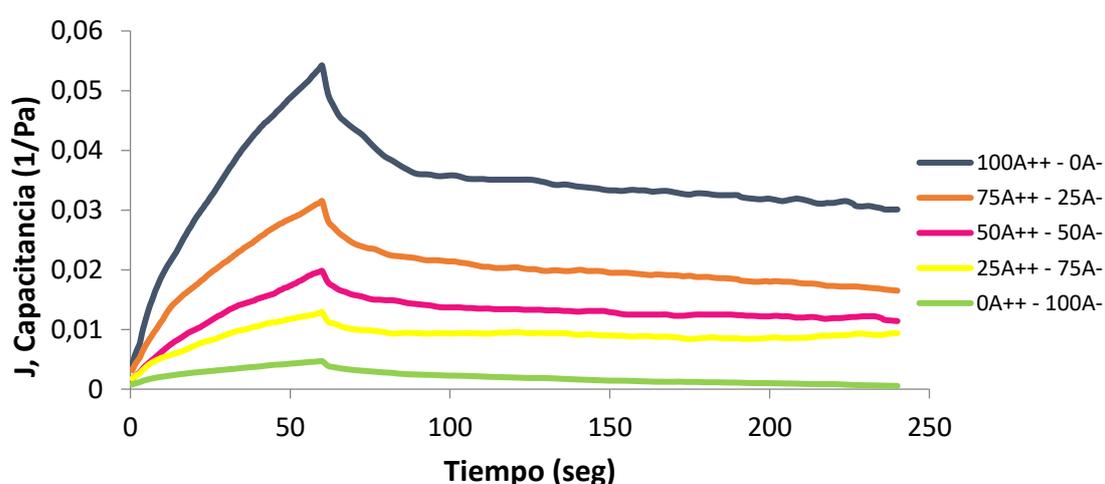


Figura 4. Ensayo fluencia-recuperación en diferentes mezclas de almidones.

4.3. Desarrollo de las masas y producción de gas

La *Figura 5A* muestra las curvas correspondientes a la producción de gas durante la fermentación y el desarrollo de cada una de las masas. La levadura primero fermentó al azúcar que se había añadido a la masa, seguido por la maltosa producida por acción de las amilasas sobre los gránulos de almidón dañado (Mancebo et al., 2015). En todos los casos se puede observar que existe un descenso en la producción de gas entre los 120 min y los 150 min, lo que indica que todos los azúcares que podían ser fermentados habían sido consumidos por las levaduras. La caída producida entre los minutos 120 – 150 no afectó al proceso de fermentación de los panes de este estudio. El tiempo de fermentación (90 min) fue menor que el tiempo necesario para que se consumiese todo el azúcar, de acuerdo con lo observado por Mancebo et al., (2015) en el estudio de masas sin gluten con mezcla de almidones. Además, la producción de gas no presentó diferencias entre las masas. Todas las muestras ya habían acabado la fermentación cuando se alcanzó la meseta de desprendimiento de gas, en el proceso de elaboración de los panes.

Respecto a las curvas de desarrollo de la masa (ver *Figura 5B*), se puede observar que las masas elaboradas con almidón tipo A apenas presentaron desarrollo de la masa. Esto estaría relacionado con el hecho de que tenían una consistencia muy baja y la masa no pudo levantar el pistón, sino que sobresalió por el espacio entre el pistón y el contenedor, por lo tanto, no se pudo cuantificar su desarrollo. Al ir aumentando la proporción de almidón tipo B en las muestras, se empezaron a ver resultados en el desarrollo de la masa, debido a su mayor consistencia. Se pudo relacionar con los resultados obtenidos en reología, la masa que mayores valores presentó respecto a los componentes viscoso y elástico fue la que presentaba mayor cantidad de almidón tipo B, correspondiéndose con la masa de mayor consistencia.

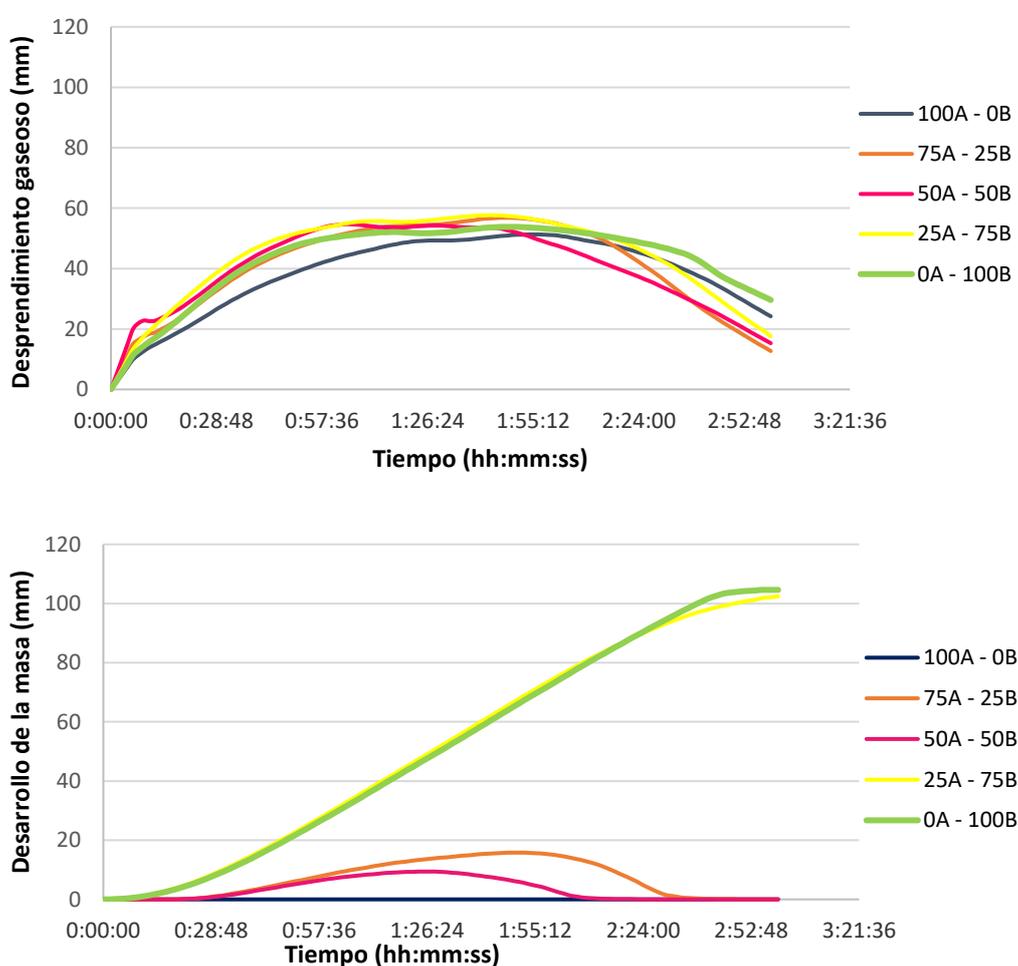


Figura 5. Prueba de la composición de la masa determinada por un Reofermentómetro: (A) Desprendimiento gaseoso y (B) Desarrollo de las masas.

4.4. Propiedades del pan

Todos los resultados de las propiedades de los panes se muestran en la *Tabla 5*. Por otra parte, en la *Figura 6* se puede ver la imagen de los panes.

Tabla 5. Efecto de las mezclas en distintas proporciones de almidón tipo A y B en panes sin gluten

Almidón	Volumen específico (ml/g)	Pérdida de humedad (g/100g)	Área media (mm ²)	Número de alveolos/cm ²	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesividad
100 A - 0 B	6,89b ± 0,30	29,92b ± 0,72	0,49bc ± 0,04	33,73a ± 3,33	1,21b ± 0,20	1,28ab ± 0,35	0,81a ± 0,02
75 A - 25 B	8,28c ± 0,29	30,20b ± 0,16	0,70c ± 0,18	29,41a ± 1,11	0,78a ± 0,19	1,82bc ± 0,77	0,82ab ± 0,03
50 A - 50 B	7,10b ± 0,38	29,92b ± 0,68	0,36ab ± 0,13	39,41a ± 3,05	1,08b ± 0,18	1,02a ± 0,10	0,81a ± 0,03
25 A - 75 B	8,12c ± 0,36	29,55b ± 0,26	0,33ab ± 0,11	41,76ab ± 0,83	0,61a ± 0,07	2,01c ± 0,80	0,84b ± 0,02
0 A - 100 B	6,02a ± 0,42	27,93a ± 0,15	0,20a ± 0,20	55,49b ± 13,03	1,43c ± 0,14	0,98a ± 0,03	0,80a ± 0,01

En todos los grupos de datos, los valores con la misma letra no presentaron diferencias significativas entre ellas ($p \leq 0.05$).

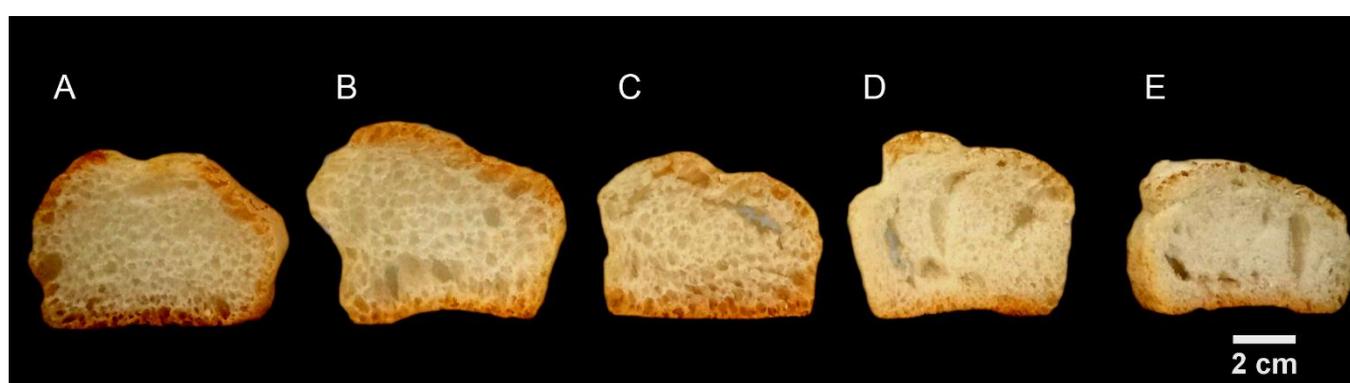


Figura 6. Efecto de la proporción de almidón tipo A (almidón pequeño) y tipo B (almidón grande) en migas y cortezas. A (100A-0B), B (75A-25B), C (50A-50B), D (25A-75B), E (0A-100B).

4.4.1. Volumen específico y pérdida de humedad

Los panes que mayor volumen específico poseían, fueron los elaborados con las mezclas 75A – 25B y 25A – 75B. Por el contrario, se observó que los panes con un 100% de almidón tipo A o tipo B tenían un volumen específico menor. Los elaborados con un 50A-50B presentaron volúmenes intermedios. La mayoría de las muestras no mostraron diferencias significativas respecto a la pérdida de humedad. En el caso del pan elaborado con 0A-100B presentó una menor pérdida de humedad, esto se pudo deber, al menos en parte, a su menor volumen específico. El volumen se relacionó con la pérdida de humedad, debido a que un menor volumen conlleva una menor superficie en contacto con el exterior, por lo tanto, una menor pérdida de humedad como se puede observar en los resultados.

Según BeMiller & Whistler (2009) y Park et al. (2005) el almidón de trigo nativo presenta la siguiente proporción: 30% de almidón pequeño y 70 % de almidón grande. Por lo tanto, uno de los panes que tuvo un mayor volumen (75 % almidón tipo A y 25 % tipo B) se correspondió a una proporción similar al almidón de trigo original. Generalmente,

para panes sin gluten cuanto menor es la consistencia de la masa mayor es el volumen de los panes (Mancebo et al., 2015). Sin embargo, el pan elaborado con proporciones de almidón 25A – 75B, a pesar de tener uno de los mayores volúmenes, presentaba una mayor consistencia que el 75A-25B. La razón por la que el pan elaborado con 25A-75B tuviera uno de los mayores volúmenes se puede asociar al papel del almidón pequeño en la estabilización de las burbujas, por el efecto del “estabilización tipo Pickering” (Yano et al., 2017). En el caso del pan sin gluten elaborado con 0A-100B ocurriría el mismo fenómeno, pero al tener una consistencia excesivamente alta se interpretó que ofrecía una gran resistencia impidiendo una mayor expansión.

El pan que menor volumen específico presentó, el pan elaborado con 100 % almidón tipo B, es a su vez el que mayor número de alveolos tiene y de menor tamaño, lo que parece confirmar el efecto *Pickering* de los almidones. Esto se podría aclarar si todo el gas quedase atrapado en el pan evitando que se expandiese y consiguiendo obtener una miga más firme.

4.4.2. Ensayo de textura TPA

En la *Tabla 5* se muestran los parámetros de textura de los panes sin gluten. En un pan de alta calidad se busca un buen grado de frescura, relacionado con altos valores de elasticidad. Un pan que presenta valores bajos tiende a desmigarse más cuando se rebana (McCarthy et al., 2005).

Los datos de elasticidad se relacionaron con el volumen específico, encontrándose una correlación significativa ($r=0,6076$ y $p<0,01$). Al mismo tiempo, se encontraron correlaciones significativas del volumen específico con la cohesividad ($r=0,4567$ y $p<0,05$) y entre la elasticidad y la cohesividad ($r=0,4491$ y $p<0,05$). Así se observó que los panes con mayores volúmenes (75A-25B, 25A-75B) presentaron mayores valores en elasticidad y cohesividad. Esta mayor cohesividad se corresponde con una mayor resistencia de la estructura interna de las migas de pan. Esto se interpretó por la posible reagrupación de los gránulos pequeños en los grandes, dando una estructura más estable.

La firmeza que presentaron los panes también se relacionó con el volumen específico, lo que coincide con Axford et al., (1968) y Gómez et al., (2008). A menor volumen, menos se expandía y más compacta era la pieza de pan, por lo tanto, se obtenían migas más duras, demostrando que estaban inversamente relacionados ($r=-0,8519$ y $p<0,001$).

En la *Tabla 5* se muestran los valores obtenidos en el análisis de imagen sobre el área media de los alveolos y la densidad alveolar (cantidad de alveolos por centímetro cuadrado). Se obtuvo una correlación inversa entre el número de alveolos y el volumen

específico, la elasticidad y el área media de los alveolos ($r = -0,6648$ y $p < 0,05$, $r = -0,7328$ y $p < 0,05$, y $r = -0,7724$ y $p < 0,01$, respectivamente). A medida que se incrementaron los almidones tipo B, en los panes, el tamaño de los alveolos fue menor, aumentando el número de alveolos. Además, esto coincide con lo que se ve en las Figuras 6 y 8. Existe también un punto de inflexión entre los panes elaborados con 50A-50B y 25A-75B, esto se puede deber al fenómeno de “estabilización tipo Pickering”.

4.4.3. Propiedades de color de las cortezas y migas

El color de los panes se observa en la Tabla 6. Gallagher et al. (2003) explicaron como el oscurecimiento de la corteza de los panes era deseable en panes sin gluten, ya que la mayoría de ellos presentan colores excesivamente claros. En general los valores de luminosidad de la corteza se deben a las reacciones de Maillard, influenciadas por la distribución de agua y la reacción de los azúcares reductores y aminoácidos. En este estudio se interpretó que los panes con cortezas y migas más oscuras se habían producido porque la gelatinización de almidón era mayor y se daban más reacciones de Maillard, al generarse más azúcares. Así la luminosidad de las cortezas se vio afectada por el tipo de almidón. Los panes que contenían un mayor porcentaje de almidón tipo B dieron panes con unas cortezas con mayor luminosidad, es decir, panes más pálidos. Por otro lado, los panes con mayor contenido en almidón tipo A dieron cortezas más oscuras al tener mayor grado de gelatinización.

4.4.4. Microestructura de la miga y corteza.

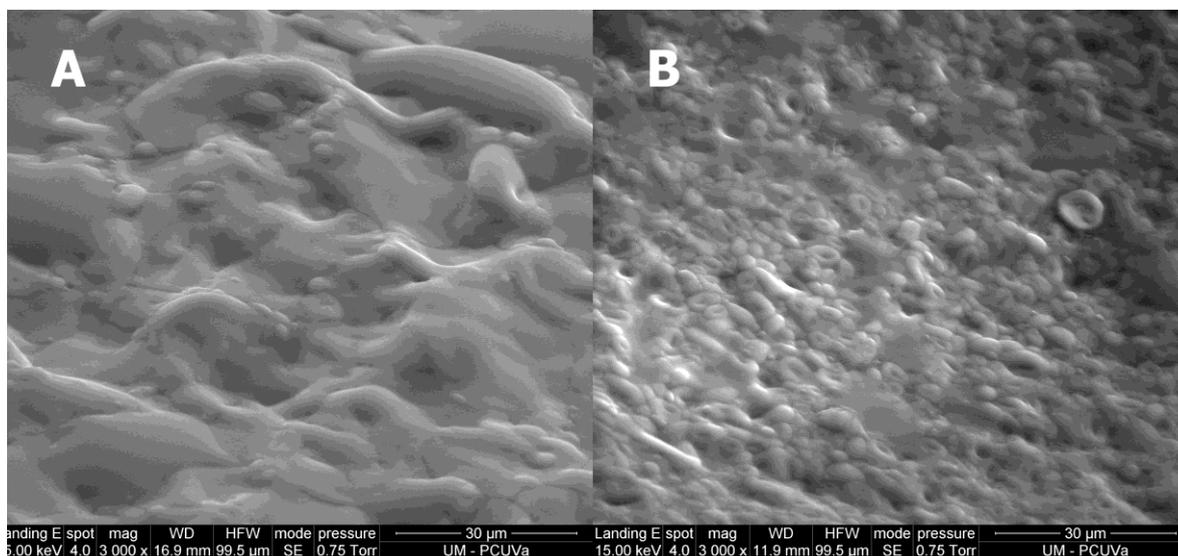


Figura 7. Microscopía electrónica de barrido ambiental de la miga observada a alta magnificación de las fórmulas de panes: (A) 100A-0B y (B) 0A-100B.

La Figura 7 muestra la integridad de las migas, pudiéndose apreciar que la miga del pan elaborado con un 100 % de almidón tipo A perdía la integridad total de los gránulos,

formándose una pasta, mientras que en el pan elaborado con un 100% de almidón tipo B se conservó en mayor medida la integridad de los gránulos, aunque estos estén dañados o aplastados. Chiotelli & Le Meste (2001) observaron que el material cristalino en los gránulos de almidón tipo B tenía una estabilidad algo mayor (cristales más perfectos), lo que explicaría nuestros resultados. La razón de esta mayor estabilidad fue que la temperatura de gelatinización, en los gránulos de almidón tipo B, era ligeramente superior y presentaba una velocidad de gelatinización más lenta que en la masa de almidón tipo A. Los datos obtenidos (*Tabla 7*) indicaron que en nuestro caso la gelatinización del almidón fue total en todas las migas. En el caso de las migas 0A – 100B, donde se observó que los gránulos de almidón mantenían en parte su forma, se habían roto y podían estar huecos (Altamirano-Fortoul et al., 2012). La sección de la corteza mostró los gránulos de almidón intactos. Esto coincide con los menores valores de gelatinización del almidón en la corteza (*Tabla 6*). Los valores obtenidos en el DSC también concluyeron que existía un mayor grado de gelatinización en las cortezas de los panes elaborados con mayores proporciones de almidón tipo A, lo que ratifica la menor estabilidad de estos gránulos.

En la *Figura 8* se pueden ver las imágenes de microestructura de la miga y de la corteza de los panes estudiados. Gill et al. (2002) explicaron que los cambios morfológicos producidos en la miga del pan se deben a la lixiviación de la amilosa al romperse los gránulos de almidón (gelatinización) y su posterior aglomeración durante el enfriamiento (retrogradación).

En los panes de trigo se prefieren migas más cerradas y con mayor número de alveolado para barras de molde, pero más abiertos para otros panes como las baguettes o chapatas. Como se comentó anteriormente, las diferentes estructuras de las migas pueden afectar a la estructura final (Mariotti et al., 2013).

Tabla 6. Propiedades de color de la corteza y la miga

ALMIDÓN	COLOR CORTEZA					COLOR MIGA				
	L*	a*	b*	H	C*	L*	a*	b*	h	C*
100 A - 0 B	81,59a ± 1,46	1,53c ± 1,35	18,20b ± 1,88	85,29a ± 4,18	18,30b ± 1,90	63,87b ± 1,76	0,45a ± 0,35	1,49a ± 0,72	70,49ab ± 19,17	1,62a ± 0,64
75 A - 25 B	79,79a ± 1,28	1,09bc ± 0,59	18,78b ± 3,56	86,54ab ± 2,03	18,82b ± 3,54	59,92a ± 1,05	0,45a ± 0,69	1,49a ± 0,64	68,94a ± 30,11	1,73a ± 0,47
50 A - 50 B	82,70ab ± 5,79	0,33ab ± 0,55	11,65a ± 2,93	88,06ab ± 2,89	11,67a ± 2,93	69,03c ± 5,85	0,10a ± 0,20	2,71b ± 2,71	87,87b ± 3,97	2,72b ± 0,79
25 A - 75 B	86,69c ± 2,10	0,20a ± 0,40	11,32a ± 1,33	88,97b ± 2,06	11,32a ± 1,33	70,00c ± 2,41	0,15a ± 0,41	2,13ab ± 0,81	82,74ab ± 14,75	2,18ab ± 0,76
0 A - 100 B	86,53bc ± 2,40	0,90abc ± 0,26	9,72a ± 1,13	84,77a ± 1,25	9,76a ± 1,14	75,00d ± 1,30	0,21a ± 0,11	2,99b ± 0,60	86,22ab ± 1,51	3,00b ± 0,60

En todos los grupos de datos, los valores con la misma letra no presentaron diferencias significativas entre ellas ($p \leq 0.05$).

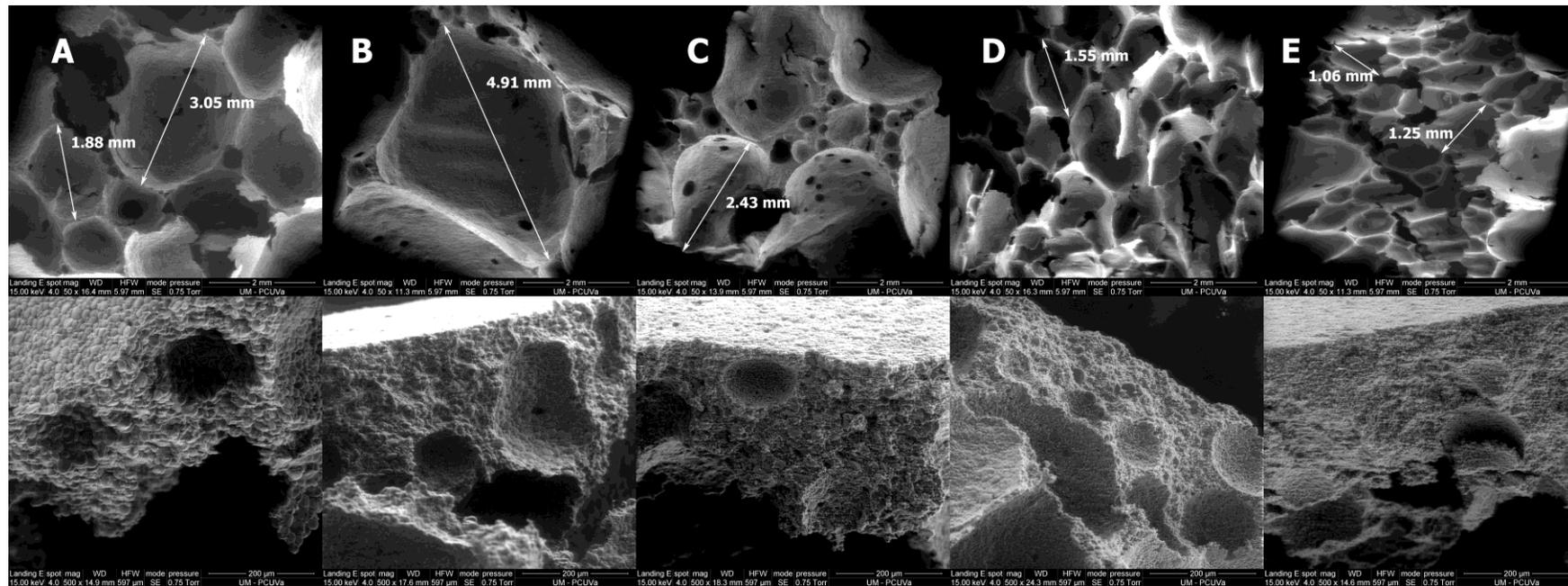


Figura 8. Microscopía electrónica de barrido ambiental de la miga (arriba) y la corteza (abajo) de las diferentes fórmulas de panes: (A) 100A-0B, (B) 75A-25B, (C) 50A-50B, (D) 25A-75B y (E) 0A-100B.

Tabla 7. Grado de gelatinización del almidón y retrogradación de la amilopectina de migas y cortezas en los panes sin gluten

	Miga		Corteza	
	Grado de gelatinización (g almidón gelatinizado/100 g almidón)	Entalpía de retrogradación (J/g)	Grado de gelatinización (g almidón gelatinizado/100 g almidón)	Entalpía de retrogradación (J/g)
100 A - 0 B	100a ± 0,00	2,18c ± 0,02	28,54 b ± 1,67	N.D.
75 A - 25 B	100a ± 0,00	1,86b ± 0,12	28,43b ± 0,98	N.D.
50 A - 50 B	100a ± 0,00	1,82b ± 0,09	30,11 b ± 2,26	N.D.
25 A - 75 B	100a ± 0,00	1,00a ± 0,02	19,06 a ± 2,66	N.D.
0 A - 100 B	100a ± 0,00	1,12a ± 0,17	15,18a ± 0,13	N.D.

En todos los grupos de datos, los valores con la misma letra no presentaron diferencias significativas entre ellas ($p \leq 0.05$). N.D. no detectable.

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que una correcta proporción de los dos tipos de gránulos, que componen el almidón de trigo, puede dar lugar a una mejora en las propiedades de los panes sin gluten. Los cambios producidos durante el horneado de los panes sin gluten dependieron de la estructura, la morfología, características y la reagrupación de los diferentes tipos de gránulos de almidón de trigo. Además, en este trabajo se demuestra que el almidón pequeño, tipo B, tiene potencial en producir la estabilización de las burbujas de aire mediante “estabilización tipo Pickering”. Futuras investigaciones estarían enfocadas al estudio de estos gránulos de almidón en mezclas con harinas sin gluten.

6. BIBLIOGRAFIA

- AACC, 2015. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, Método 56-30.01 (Water Binding Capacity), 61-02.01 (Rapid Visco Analysis), 76-31.01 (Starch damage), eleventh ed. *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, MN.
- Acosta-Osorio, A. A., Herrera-Ruiz, G., Pineda-Gómez, P., de los Ángeles Cornejo-Villegas, M., Martínez-Bustos, F., Gaytán, M., & García, M. E. R. (2011). Analysis of the apparent viscosity of starch in aqueous suspension within agitation and temperature by using rapid visco analyzer system. *Mechanical Engineering Research*, 1(1): 110.
- Altamirano-Fortoul, R., Le-Bail, A., Chevallier, S., & Rosell, C. M. (2012). Effect of the amount of steam during baking on bread crust features and water diffusion. *Journal of Food Engineering*, 108(1): 128-134.
- Ao, Z., & Jane, J. L. (2007). Characterization and modeling of the A-and B-granule starches of wheat, triticale, and barley. *Carbohydrate Polymers*, 67(1): 46-55.
- Axford, D. W. E., Colwell, K. H., Cornford, S. J., & Elton, G. A. H. (1968). Effect of loaf specific volume on the rate and extent of staling in bread. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 19(2): 95-101.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (Eds.). (2009). Starch: Chemistry and Technology. *Academic Press*, 10(1): 441-510.
- Borén, M., Glaring, M. A., Ghebremedhin, H., Olsson, H., Blennow, A., & Jansson, C. (2008). Molecular and physicochemical characterization of the high-amylose barley mutant Amo1. *Journal of Cereal Science*, 47(1): 79-89.
- Catassi, C., & Fasano, A. (2008). Celiac disease. *Current Opinion in Gastroenterology*, 24(6): 687-691.
- Capriles, V. D., & Arêas, J. A. G. (2014). Novel Approaches in Gluten-Free Breadmaking: Interface between Food Science, Nutrition, and Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5): 871-890.
- Chiotelli, E., & Le Meste, M. (2002). Effect of small and large wheat starch granules on thermomechanical behavior of starch. *Cereal Chemistry*, 79(2): 286-293.

- Codex Alimentarius Commission. (2000). Draft revised standard for gluten free foods (CX/NFSDU 98/4). In *Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses*, 22nd session, Berlin, Germany.
- Czuchajowska, Z., & Pomeranz, Y. (1993). Gas formation and gas retention. I. The system and methodology. *Cereal Foods World (USA)*.
- Dickinson, E. (2017). Biopolymer-based particles as stabilizing agents for emulsions and foams. *Food Hydrocolloids*, 68: 219-231.
- Domarus, A. V., Rozman, C., & Farreras Valenti, P. (2009). *Medicina interna* (No. 616). Elsevier: 162-167.
- Gallagher, E., Gormley, T. R., & Arendt, E. K. (2003). Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *Journal of Food Engineering*, 56(2): 153-161.
- Gill, S., Vasanthan, T., Ooraikul, B., & Rossnagel, B. (2002). Wheat bread quality as influenced by the substitution of waxy and regular barley flours in their native and extruded forms. *Journal of Cereal Science*, 36(2): 219-237.
- Gómez, M., Oliete, B., Caballero, P. A., Ronda, F., & Blanco, C. A. (2008). Effect of nut paste enrichment on wheat dough rheology and bread volume. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 14(1): 57-65.
- Gómez, M., Ronda, F., Caballero, P. A., Blanco, C. A., & Rosell, C. M. (2007). Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes. *Food Hydrocolloids*, 21(2): 167-173.
- Guo, Q., He, Z., Xia, X., Qu, Y., & Zhang, Y. (2014). Effects of Wheat Starch Granule Size Distribution on Qualities of Chinese Steamed Bread and Raw White Noodles. *Cereal Chemistry*, 91: 623-630.
- Janssen, A. M., Van Vliet, T., & Vereijken, J. M. (1996). Rheological behaviour of wheat glens at small and large deformations. Comparison of two glens differing in bread making potential. *Journal of Cereal Science*, 23(1): 19-31.
- Korus, J., Witczak, M., Ziobro, R., & Juszczak, L. (2009). The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread. *Food Hydrocolloids*, 23(3): 988-995.
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., & Biliaderis, C. G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79(3): 1033-1047.
- León, A. E., Barrera, G. N., Pérez, G. T., Ribotta, P. D., & Rosell, C. M. (2006). Effect of damaged starch levels on flour-thermal behaviour and bread staling. *European Food Research and Technology*, 224(2): 187-192.

- Liu, Q., Gu, Z., Donner, E., Tetlow, I., & Emes, M. (2007). Investigation of Digestibility In Vitro and Physicochemical Properties of A-and B-Type Starch from Soft and Hard Wheat Flour. *Cereal Chemistry*, 84(1): 15-21.
- Mancebo, C. M., Merino, C., Martínez, M. M., & Gómez, M. (2015). Mixture design of rice flour, maize starch and wheat starch for optimization of gluten free bread quality. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10): 6323-6333.
- Martínez, M. M., & Gómez, M. (2017). Rheological and microstructural evolution of the most common gluten-free flours and starches during bread fermentation and baking. *Journal of Food Engineering*, 197: 78-86.
- Mariotti, M., Pagani, M. A., & Lucisano, M. (2013). The role of buckwheat and HPMC on the breadmaking properties of some commercial gluten-free bread mixtures. *Food Hydrocolloids*, 30(1): 393-400.
- Matos, M. E., & Rosell, C. M. (2012). Relationship between instrumental parameters and sensory characteristics in gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 235(1): 107-117.
- McCarthy, D. F., Gallagher, E., Gormley, T. R., Schober, T. J., & Arendt, E. K. (2005). Application of Response Surface Methodology in the Development of Gluten-Free Bread. *Cereal Chemistry*, 82(5): 609-615.
- Meredith, P. (1981). Large and small starch granules in wheat—are they really different?. *Starch-Stärke*, 33(2): 40-44.
- Park, S. H., Chung, O. K., & Seib, P. A. (2005). Effects of Varying Weight Ratios of Large and Small Wheat Starch Granules on Experimental Straight-Dough Bread. *Cereal Chemistry*, 82(2): 166-172.
- Parker, M. L. (1985). The relationship between A-type and B-type starch granules in the developing endosperm of wheat. *Journal of Cereal Science*, 3(4): 271-278.
- Peng, M., Gao, M., Abdel-Aal, E. S., Hucl, P., & Chibbar, R. N. (1999). Separation and characterization of A-and B-type starch granules in wheat endosperm. *Cereal Chemistry*, 76(3): 375-379.
- Peräaho, M., Kaukinen, K., Paasikivi, K., Sievänen, H., Lohiniemi, S., Mäki, M., & Collin, P. (2003). Wheat-starch-based gluten-free products in the treatment of newly detected coeliac disease: prospective and randomized study. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 17(4): 587-594.
- Román, L., Santos, I., Martínez, M. M., & Gómez, M. (2015). Effect of extruded wheat flour as a fat replacer on batter characteristics and cake quality. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12): 8188-8195.

- Rosell, C. M., Yokoyama, W., & Shoemaker, C. (2011). Rheology of different hydrocolloids–rice starch blends. Effect of successive heating–cooling cycles. *Carbohydrate Polymers*, 84(1): 373-382
- Sahlström, S., Bævre, A. B., & Bråthen, E. (2003). Impact of starch properties on hearth bread characteristics. II. Purified A-and B-granule fractions. *Journal of Cereal Science*, 37(3): 285-293.
- Sakiyan, O., Sumnu, G., Sahin, S., Meda, V., Koksel, H., & Chang, P. (2011). A study on degree of starch gelatinization in cakes baked in three different ovens. *Food and Bioprocess Technology*, 4(7): 1237-1244.
- Schamne, C., Dutcosky, S. D., & Demiate, I. M. (2010). Obtention and characterization of gluten-free baked products. *Food Science and Technology (Campinas)*, 30(3): 741-750.
- Shinde, S. V., Nelson, J. E., & Huber, K. C. (2003). Soft wheat starch pasting behavior in relation to A-and B-type granule content and composition. *Cereal Chemistry*, 80(1): 91.
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2): 151-165.
- Thompson, T. (2001). Wheat starch, gliadin, and the gluten-free diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 101(12): 1456-1459.
- Toyakawa, H., Rubenthaler, G. L., Powers, J. R., & Schanos, E. G. (1989). Japanese noodle qualities. II: starch components. *Cereal Chemistry*, 66(5): 387-391.
- Wang, F. C., & Sun, X. S. (2002). Creep-recovery of wheat flour doughs and relationship to other physical dough tests and breadmaking performance. *Cereal Chemistry*, 79(4): 567.
- Yano, H., Fukui, A., Kajiwara, K., Kobayashi, I., Yoza, K. I., Satake, A., & Villeneuve, M. (2017). Development of gluten-free rice bread: Pickering stabilization as a possible batter-swelling mechanism. *LWT-Food Science and Technology*, 79: 632-639.
- Ylimaki, G., Hawrysh, Z. J., Hardin, R. T., & Thomson, A. B. R. (1991). Response surface methodology in the development of rice flour yeast breads: sensory evaluation. *Journal of Food Science*, 56(3): 751-755.