



**APLICACIÓN DE HARINAS PROCEDENTES DE  
GRANOS DE TRIGO SARRACENO TRATADOS CON  
ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS EN LA  
FORMULACIÓN DE PAN SIN GLUTEN**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**Curso: 2019/20**

**Alumna: Amalia Hernanz Fernández**

**Tutor: Pedro A. Caballero Calvo**

**Director: Ángel Luis Gutiérrez de la Fuente**

# Índice

<b>Resumen y Abstract</b> .....	<b>2</b>
<b>1 Introducción</b> .....	<b>3</b>
<b>2 Objetivo</b> .....	<b>6</b>
<b>3 Materiales y métodos</b> .....	<b>6</b>
<b>3.1 Materiales</b> .....	<b>6</b>
<b>3.2 Métodos</b> .....	<b>7</b>
<b>3.2.1 Preparación de las muestras y tratamientos de APH</b> .....	<b>7</b>
<b>3.2.2 Obtención de las harinas</b> .....	<b>7</b>
<b>3.2.3 Caracterización de la reología de las masas</b> .....	<b>7</b>
<b>3.2.4 Proceso de panificación</b> .....	<b>9</b>
<b>3.2.5 Determinación de las propiedades físicas de los panes</b> .....	<b>10</b>
<b>3.2.6 Análisis sensorial de los panes</b> .....	<b>11</b>
<b>3.2.7 Análisis estadístico</b> .....	<b>11</b>
<b>4 Resultados y discusión</b> .....	<b>11</b>
<b>4.1 PROPIEDADES REOLÓGICAS DE LAS MASAS PANARIAS</b> .....	<b>11</b>
<b>4.2 PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS PANES</b> .....	<b>15</b>
<b>4.2.1 Pérdida de peso y volumen específico</b> .....	<b>15</b>
<b>4.2.2 Color de la corteza y de la miga</b> .....	<b>17</b>
<b>4.2.3 Características de textura de la miga</b> .....	<b>20</b>
<b>4.2.4 Envejecimiento de los panes</b> .....	<b>22</b>
<b>4.2.5 Estudio del alveolado de la miga</b> .....	<b>23</b>
<b>4.3 ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS PANES</b> .....	<b>25</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>27</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>28</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>28</b>

## **Resumen**

El desarrollo de nuevos productos horneados sin gluten es una de las principales tendencias en la industria alimentaria debido a que la celiaquía es actualmente una de las enfermedades inducidas por alimentos más comunes. En el presente trabajo se estudió la eficacia del uso de harina procedente de granos de trigo sarraceno tratados con altas presiones hidrostáticas para mejorar la calidad de los panes sin gluten. Para ello se elaboraron masas y panes sin gluten sustituyendo harina de arroz por harina de trigo sarraceno tratado y nativo a distintas dosis (15, 30, 50 y 70%). El tratamiento de altas presiones se realizó sobre granos enteros de trigo sarraceno a 600 MPa de presión de trabajo durante 15 minutos. Para estudiar el comportamiento viscoelástico de las masas se realizaron ensayos oscilatorios de barrido de esfuerzos y barrido de frecuencias, en los cuales se observó una mayor consistencia en aquellas elaboraciones en las que se empleó trigo sarraceno tratado con altas presiones hidrostáticas. En cuanto al estudio de las propiedades físicas, los panes enriquecidos con harina de trigo sarraceno tratado presentaron mayor volumen específico, menor dureza de la miga y colores más rojizos y oscuros que las muestras elaboradas con trigo sarraceno nativo. Finalmente, se realizó un análisis sensorial en el que se concluyó que el enriquecimiento de los panes con harina trigo sarraceno tratado con altas presiones hidrostáticas podría tener un efecto positivo sobre la aceptabilidad sensorial del pan sin gluten. Estos resultados confirman la eficacia de este tratamiento a la hora de mejorar la calidad de esta categoría de productos.

**Palabras clave:** Altas presiones hidrostáticas, trigo sarraceno, grano entero, pan sin gluten, reología, propiedades físicas.

## **Abstract**

The development of new gluten-free baked goods is one of the main trends in the food industry because celiac disease is currently one of the most common food-induced diseases. In the present work, the effectiveness of the use of flour from buckwheat grains treated with high hydrostatic pressure to improve the quality of gluten-free breads was studied. For that purpose, gluten-free doughs and breads were made substituting rice flour by treated and native buckwheat flour at different doses (15, 30, 50 and 70%). The treatment of high pressures was made on whole grains of buckwheat to 600 MPa of work pressure during 15 minutes. In order to study the viscoelastic behavior of the dough, there were carried out the oscillatory tests of sweeping of efforts and sweeping of frequencies, in which a greater consistency was observed in those elaborations in which buckwheat treated with high hydrostatic pressure was used. As for the study of physical properties, breads enriched with flour of treated buckwheat presented bigger specific volume, less crumb hardness and more reddish and dark colors than the samples elaborated with native buckwheat. Finally, it was carried out a sensory analysis in which it was concluded that the enrichment of the breads with buckwheat flour treated with high hydrostatic pressure could have a positive effect on the sensory acceptability of the gluten-free bread. These results confirm the effectiveness of this treatment in improving the quality of this product category. These results confirm the effectiveness of this treatment in improving the quality of this product category.

**Keywords:** High hydrostatic pressure, buckwheat, whole grain, gluten-free breads, rheology, physical properties.

## 1 Introducción

La celiacía es actualmente una de las enfermedades más comunes inducidas por la alimentación. Esta enteropatía inmunomediada afecta a personas genéticamente susceptibles y es desencadenada cuando estos individuos consumen productos que contienen gluten de trigo, cebada y centeno, así como sus híbridos.

Hasta el momento, el único tratamiento que existe para esta enfermedad es adoptar una dieta libre de gluten de forma permanente. Por esta razón, en los últimos años el desarrollo de nuevos alimentos sin gluten es una de las principales tendencias en la industria alimentaria y se prevé que este mercado se expanda a una tasa de crecimiento anual de 9.1% entre 2019 y 2025 (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2020). El gluten es un ingrediente clave para la creación de estructura y, consecuentemente, la calidad del pan. La ausencia de la red viscoelástica que forma hace que el proceso de panificación sea complejo y se obtengan masas con una capacidad limitada para retener el gas debido a sus pobres propiedades reológicas (Cappa *et al.*, 2016). Por lo tanto, desarrollar estos nuevos productos horneados sin gluten que tengan una estructura satisfactoria, mayor aceptabilidad por parte de los consumidores, mayor vida útil y coste reducido, supone un reto para los investigadores.

Existen distintas técnicas y enfoques a la hora de mejorar las cualidades sensoriales de los productos de panadería sin gluten. Una de las técnicas más utilizadas es el uso de ingredientes funcionales, grupo en el que se incluyen los hidrocoloides, gomas, enzimas, emulsionantes, proteínas y fibras dietéticas (Gao *et al.*, 2018). Los hidrocoloides se usan generalmente como sustitutos del gluten por su capacidad espesante, alta capacidad de retención de agua y características de formación de gel. El uso de fibras dietéticas también es una forma común de mejorar la capacidad de retención de gas de las masas y sus propiedades viscoelásticas. Por otra parte, las enzimas hidrolizantes de almidón también han sido propuestas para disminuir la retrogradación de la amilopectina durante el almacenamiento, aumentando así la vida útil del producto final (Cappa *et al.*, 2016).

Además de añadir estos ingredientes para mejorar la funcionalidad de los panes, la harina sin gluten puede modificarse físicamente a través del empleo de diferentes técnicas innovadoras (Vallons *et al.*, 2011). Se trata de tratamientos físicos que estabilizan la harina y aumentan la vida útil de los productos, mientras se obtienen nuevas funcionalidades, tales como el incremento de la capacidad de absorción de agua, del poder espesante, de las propiedades emulsionantes, así como de la reactividad frente a enzimas, entre otros. Entre estas técnicas innovadoras destacan tecnologías como las altas presiones hidrostáticas (APH), los tratamientos hidrotérmicos (HMT) mediante el uso de microondas, los ultrasonidos y los pulsos eléctricos de alto voltaje (De Pablos, 2018).

La tecnología APH es un método emergente de procesado de alimentos no térmico, en el cual los productos se someten a una alta presión que varía de 200 a 600 MPa durante un tiempo determinado, a una temperatura inferior a 45°C y con agua como

medio transmisor de la presión para lograr su pasteurización, la modificación de los materiales y la aceleración o desaceleración de las reacciones físicas y químicas (Muntean *et al.*, 2016; Deng *et al.* 2014; Hu *et al.*, 2011). Según la ley de Pascal la presión se reparte de manera uniforme por todo el alimento ya envasado, y actúa en gran parte de sus componentes como el agua, las proteínas y el almidón, por lo que puede usarse para modificar las propiedades funcionales de las proteínas e inactivar las enzimas que son las principales responsables de acortar la vida útil de los productos. Una de las ventajas que presentan los productos que son tratados con la tecnología APH es que pueden mantener su color, sabor y aroma, ya que solo afecta a los enlaces no covalentes (Cappa *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2011).

Muchos investigadores han realizado diversos estudios sobre las modificaciones físicas de cereales y sus derivados mediante el uso de la tecnología de APH. Algunos de los ejemplos de estos estudios que encontramos en la última década se han realizado sobre harina de avena (Hüttner *et al.*, 2010; Angioloni & Collar, 2012), harina de sorgo (Vallons *et al.*, 2010; Angioloni & Collar, 2012), harina de trigo sarraceno, harina de arroz blanco, harina de teff (Vallons *et al.*, 2011), harina de mijo (Angioloni & Collar, 2012), harina de arroz, almidón de maíz (Cappa *et al.*, 2016), grano de arroz integral (Yu *et al.*, 2017; Ravichandran *et al.*, 2018) y harina de patata dulce (Carballo *et al.*, 2018) entre otros.

La mayor parte de estos estudios se han realizado sobre harinas o almidones, mientras que los trabajos realizados sobre granos enteros son muy limitados. Gran parte de estos estudios se centran en investigar los efectos de la tecnología de APH en las propiedades de los granos de arroz como la gelatinización, difusión y absorción del agua de éstos (Yu *et al.*, 2017; Ravichandran *et al.*, 2018). Los resultados obtenidos también muestran que las masas elaboradas con harinas y almidones tratados se ven afectados positivamente por las altas presiones, ya que se observa un incremento de su consistencia y elasticidad, lo cual resulta muy interesante a la hora de mejorar la retención de gas y, en consecuencia, el volumen y la textura de un producto tan demandado como es el pan. Existen pocos estudios que hayan comprobado la efectividad del uso de ingredientes tratados con APH para la elaboración de panes sin gluten. En la investigación realizada por Cappa *et al.* (2016) se estudiaron las características de los panes sin gluten elaborados con harina de arroz y almidón de maíz tratados con APH. En dicho estudio se comprobó que este pretratamiento se puede utilizar con éxito para mejorar las propiedades tecnológicas y de cocción de harinas y almidones sin gluten, además de aumentar la vida útil de los productos resultantes, ya que tras 72 horas de almacenamiento se observaron bajas actividades de agua debido a que las muestras presentaban una alta capacidad de retención de agua y una dureza baja.

Por otra parte, además de mejorar las cualidades sensoriales de los productos de panadería sin gluten, la industria alimentaria se enfrenta al reto de mejorar la calidad nutricional que presentan éstos, ya que en distintas publicaciones se ha demostrado que entre el 20 y el 38% de los pacientes celíacos tienen algunas deficiencias nutricionales relacionadas con una ingesta limitada de proteínas, fibra dietética, minerales y vitaminas. Además existe constancia de que los alimentos adaptados a esta población presentan un índice glicémico (IG) mayor que en los productos con

gluten. Esta condición se debe en gran parte al empleo generalizado de almidones y harinas refinadas para su elaboración, a la mayor cantidad de grasas y azúcares que se añaden a la formulación de estos productos para mejorar sus propiedades funcionales, y por el hecho de que los productos específicos para esta población no suelen estar fortificados con ingredientes que mejoren su perfil nutricional (Miranda *et al.*, 2014).

A la hora de mejorar nutricionalmente estos productos sin gluten existen distintas estrategias entre las que se incluye el uso de diferentes harinas alternativas entre las que destacan la harina de cereales minoritarios sin gluten como el teff o el alpiste, pseudocereales, harina de leguminosas y subproductos de frutas y verduras (Gao *et al.* 2018). Estas harinas son nutricionalmente más interesantes que la harina de arroz, materia prima que ha sido ampliamente empleada hasta ahora debido a sus propiedades hipoalergénicas, su bajo contenido en sodio, sabor suave, color claro y su disponibilidad en el mercado. Sin embargo, presenta un bajo valor biológico (Sciarini *et al.* 2020).

En los últimos años se ha incrementado el uso de harinas de pseudocereales debido al creciente interés en la industria alimentaria por el uso de estas materias primas como potencial alternativa a los cereales gracias a sus posibles beneficios para la salud. Entre estos pseudocereales destaca el trigo sarraceno (TS) por sus propiedades nutricionales. Este pseudocereal se caracteriza por su alto contenido en polifenoles, flavonoides, minerales, fibra dietética y proteínas de alto valor biológico, ya que su composición de aminoácidos está bien equilibrada, superando nutricionalmente a las proteínas de los cereales. Por otra parte, su consumo puede prevenir la diabetes en edad adulta y mejorar la tolerancia a la glucosa en aquellos consumidores que ya han desarrollado la enfermedad gracias a que sus carbohidratos se digieren lentamente (Mariotti *et al.*, 2013; Bączek *et al.*, 2020; Zhu, 2020). Algunos estudios también afirman que su incorporación en la dieta puede prevenir el desarrollo de otras enfermedades crónicas como el cáncer, la hipercolesterolemia y las enfermedades neurológicas, gracias a su fuerte actividad antioxidante, lo que ayuda a prevenir la oxidación de lípidos y el ADN (Giménez-Bastida & Zieliński, 2015). Dicha actividad antioxidante está relacionada con el alto contenido de compuestos fenólicos, los cuales que se encuentran en valores significativamente más altos en la cascarrilla que en el resto del grano (Sedej *et al.*, 2012).

En el estudio realizado por Alvarez-Jubete *et al.*, (2009) sobre las propiedades de horneado de panes sin gluten elaborados con pseudocereales (amaranto, quínoa y trigo sarraceno) se observó una textura de miga más suave y un aumento del volumen en los panes de trigo sarraceno y quínoa en comparación con el pan sin gluten control elaborado con almidón de patata. Estos resultados se atribuyeron principalmente a la mayor capacidad de retención de agua, la viscosidad de la masa, la proporción de amilosa/amilopectina y al mayor contenido de proteínas de las harinas procedentes de pseudocereales. A pesar de todos estos beneficios que aporta el trigo sarraceno nativo a las formulaciones sin gluten, resulta de gran interés mejorar su funcionalidad para obtener productos con la calidad organoléptica deseada. Estudios previos, como el realizado por Vallons *et al.* (2011), demostraron el potencial que podía tener el uso de

harinas de TS tratadas con APH para mejorar la calidad sensorial de los panes con TS sin gluten.

La aplicación de los tratamientos APH sobre una matriz harinosa, provoca cambios importantes en sus propiedades funcionales debido, principalmente, a los efectos de gelatinización del almidón o la desnaturalización de su fracción proteica. Como alternativa, la aplicación de los tratamientos de APH sobre granos enteros, podría servir para modular las propiedades funcionales de las harinas de TS, con el objetivo de mejorar su comportamiento en los procesos de panificación en sistemas carentes de gluten. Los estudios realizados hasta ahora con granos enteros de TS se han centrado con exclusividad en el estudio de la composición nutricional, los factores antinutricionales, la digestibilidad de las proteínas in vitro y la microestructura de los granos tratados (Deng *et al*, 2015). Sin embargo, el empleo de las harinas resultantes en los procesos de elaboración del pan sin gluten constituye un campo totalmente inexplorado.

## 2 Objetivo

El principal objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del empleo de harinas de trigo sarraceno procedentes de granos enteros tratados con APH sobre la calidad del pan sin gluten.

Para ello se llevó a cabo un proceso de panificación basado en una fórmula cualitativa en la que se empleó harina de arroz, la cual fue enriquecida con distintos niveles de sustitución (15, 30, 50 y 70%) de harina proveniente de granos de trigo sarraceno tratados con APH. La calidad de los productos resultantes fue evaluada mediante la determinación del volumen de las piezas, su pérdida de peso, el color de la miga y la corteza, la textura de la miga así como las propiedades del alveolado de la misma. El pan también se evaluó sensorialmente mediante un test de comparación múltiple realizado por un panel de cata semientrenado. Finalmente, se determinaron las propiedades viscoelásticas de las masas empleadas en el proceso de panificación con el objeto de analizar la correlación existente entre el comportamiento reológico de las masas y la calidad del producto final.

## 3 Materiales y métodos

### 3.1 MATERIALES.

Para abordar el presente estudio se empleó una partida de granos enteros de trigo sarraceno de la variedad *Panda*, suministrada por Grupo BC Servicios 2011 SLU (Palencia, España). Para dichas elaboraciones también se empleó harina de arroz SP NPU de tipo *Índica*, la cual fue suministrada por Herba Ricemills, S.L.U (Valencia, España).

Para las elaboraciones de los panes y las masas también se emplearon otros ingredientes provenientes del mercado local como el azúcar (Azucarera Ebro), aceite de girasol (Coorsur Premium) y sal. También se empleó hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) K4M suministrado por Dow Chemical (Midland, EEUU) y levadura para los panes de la marca European (Instant Dry Baker's Yeast) suministrada por la empresa Distribuciones Palenzuela (Palencia, España).

## **3.2 MÉTODOS.**

### **3.2.1 Preparación de las muestras y tratamientos de APH.**

Se prepararon 34 bolsas flexibles de poliamida/polietileno con 100g de trigo sarraceno cada una. Estos granos de TS se sometieron a un remojo previo al tratamiento de APH en agua destilada, con una proporción de agua/grano de trigo sarraceno de 1:4 (p/v), durante 4h a 40 °C. Este remojo se realizó con el objetivo de favorecer la transmisión de la presión en el grano durante el tratamiento de APH, y así potenciar las transformaciones que experimentan los componentes del mismo (Gallego, 2019).

Las muestras se sometieron al tratamiento APH a 600 MPa de presión de trabajo durante 15 minutos, en un equipo de altas presiones hidrostáticas Wave 6000/135 (NC Hyperbaric, Burgos, España) con un recipiente de 135 litros y 200 mm de diámetro, el cual se encuentra en el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Zamadueñas, Valladolid).

### **3.2.2 Obtención de las harinas.**

Tras el tratamiento APH de las muestras, se procedió a escurrir los granos de trigo sarraceno. Tras ello se realizó su estabilización mediante un secado a 30°C en una estufa durante 16 horas, hasta alcanzar una humedad aproximada del 15%. Esta humedad se demostró que confería cierta flexibilidad a la cascarilla, favoreciendo su separación durante la molienda y evitando su presencia en la harina, lo cual puede aportar sabores poco deseables a la misma.

La harina integral tanto el trigo sarraceno sin tratar (nativo), como las muestras sometidas al tratamiento de APH (15-600) se obtuvieron usando primeramente un molino CD1 (CHOPIN Technologies, Francia). En esta primera molienda se obtuvo una fase con una granulometría inferior a 250 µm y otra superior, la cual se sometió a una segunda molienda en un molino Fidibus Medium (Komo Grain Mills, Penninberg, Austria) con el objetivo de reducir el tamaño de partícula de la harina obtenida y así poder aumentar el rendimiento de los granos de TS. Tras esta segunda molienda, la harina se sometió a un tamizado con una apertura de mallas de 250 µm, con el objetivo de separar la fracción residual de cascarilla. De esta forma se obtuvieron harinas de TS (nativo y tratado) integral, y por lo tanto más interesante desde un punto de vista nutricional.

Por último se calculó la humedad de la harina nativa y tratada para comprobar que ninguna superara una humedad del 14%. Para ello se siguió el método oficial 44-19 (AACC, 1995).

### **3.2.3 Caracterización de la reología de las masas.**

Para estudiar el comportamiento reológico de las masas se realizaron 8 elaboraciones con distintos niveles de sustitución de harina de arroz por harina de granos de trigo sarraceno nativo y tratado por altas presiones, además de la masa control con un 100% de harina de arroz. Los porcentajes de sustitución empleados para esta evaluación fueron de un 15, 30, 50 y 70%. La formulación para la elaboración de las masas estuvo constituida por 100g de harina ajustada según la materia seca de ésta,



1,5g de sal, 5g de azúcar, 2g de HPMC y 6g de aceite de girasol. Todas las masas se elaboraron con una hidratación del 95%.

Para su elaboración se pesaron en primer lugar los ingredientes sólidos (harina, sal, azúcar y HPMC) en un bote mezclador durante 10 minutos. En un recipiente aparte se pesó la cantidad de agua requerida, dependiendo de la humedad de la harina o mezcla de harinas empleadas. Tras ello, en una panificadora (Auto Bakery, Funaj, China) se agregaron los sólidos y el agua cuando la hélice de ésta comenzaba a girar a una velocidad inicial lenta. Tras un minuto, al aumentar la velocidad de la hélice, se procedió a añadir el aceite. La mezcla se amasó durante 8 minutos. Transcurrido ese tiempo se guardaron las masas en 3 botes cerrados herméticamente y se esperó 15 minutos antes de proceder a realizar los ensayos reológicos, para conseguir la relajación de las masas.

Los ensayos empleados para estudiar el comportamiento reológico de las 9 elaboraciones fueron los dinámicos/oscilatorios de barrido de esfuerzos y barrido de frecuencia.

Estos ensayos se realizaron mediante un reómetro Kinexus Pro + (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Reino Unido) y para ambos se empleó una geometría de placas paralelas de 40mm de diámetro de acero inoxidable y de superficie serrada para prevenir el deslizamiento de la masa. Se estableció una separación de 1mm entre ambas placas. Ambos ensayos se realizaron por duplicado

Para establecer el tiempo de espera previo a la medición, se realizó un ensayo oscilatorio-tiempo con la masa que presentaba menos consistencia (masa control), con el objetivo de observar y determinar el tiempo de espera necesario para permitir la relajación de las masas. Con este ensayo se determinó un tiempo de espera de 15 minutos.

Las condiciones para el barrido de deformación se establecieron en un rango de entre 0,01 y 100 %, una frecuencia constante de 1Hz y a una temperatura constante de 25°C controlada mediante un módulo Peltier KNX2002 C25P, apoyado por un baño de recirculación KNX2002 del mismo fabricante que el reómetro. El objetivo de estos ensayos es localizar el esfuerzo máximo ( $\tau_{\text{máx}}$ ) que soportan cada una de las masas antes de perder su estructura, y de este modo establecer la zona viscoelástica lineal de las 9 masas (LVR). El valor de ese esfuerzo máximo se estableció sobre el 10% de caída del valor de la componente elástica.

Los ensayos de barrido de frecuencias fueron realizados en el intervalo de 1 a 10 Hz a una deformación constante de 0,05% en la región viscoelástica lineal (LVR). El módulo viscoso ( $G''$ ), el módulo elástico ( $G'$ ) y la tangente del ángulo de desfase ( $\tan(\delta)$ ) obtenidos en el ensayo anterior se ajustaron a ecuaciones potenciales del tipo que se indica a continuación:

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

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

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

Donde los parámetros  $a$ ,  $b$  y  $c$  representan constantes experimentales, la cuales cuantifican el grado de dependencia de estos módulos y de la tangente de pérdida con la variación de frecuencia, y  $\omega$  la frecuencia angular ( $\text{rad}^{-1}$ ). (Ronda *et al.*, 2011; Ronda *et al.*, 2013). Por último, también se obtuvieron los valores de  $G^*$  (módulo complejo) y *Crosspoint*. El módulo complejo es una medida de la resistencia que opone la masa a la deformación ( $G^* = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2}$ ) mientras que el valor de *crosspoint* hace referencia al punto de corte de los módulos viscoelásticos ( $G'=G''$ ) e informa del momento en el que las masas pasan de tener un comportamiento predominantemente elástico, a tenerlo viscoso.

### 3.2.4 Proceso de panificación.

Para comprobar el impacto que produce el tratamiento de altas presiones en las propiedades de panificación de la harina de TS, se realizaron ocho elaboraciones con los porcentajes de sustitución de trigo sarraceno tratado y nativo indicados en el *epígrafe* 3.2.3 (Caracterización reológica de las masas), además de un pan control con un 100% de harina de arroz.

Para la preparación de los panes se emplearon 300 g de harina, que se mezclaron con el resto de ingredientes siguiendo las proporciones indicadas también en el *epígrafe* 3.2.3, añadiendo 3 g de levadura a la misma por cada 100 g de harina, para posibilitar la fermentación de la masa resultante. Por cada masa elaborada se obtuvieron 3 réplicas de cada elaboración. Todos los panes se elaboraron con una hidratación del 95%.

Tras pesar los ingredientes sólidos se procedió a su homogenización durante 10 minutos en un bote mezclador. Transcurrido este tiempo se procedió a verter la mezcla en el bol de la amasadora KitchenAir Professional (KPM5), se colocó el gancho amasador y se programó 2 minutos a velocidad 2. Durante el primer minuto se añadió la cantidad de agua previamente calculada a una temperatura ajustada según la temperatura ambiental y la temperatura de la harina, junto con los 9 g de levadura.

Transcurridos los 2 minutos se sacó el bol y se añadieron los 18g de aceite. Seguidamente se mezclaron todos los ingredientes a velocidad 4 durante 8 minutos, parando a los 4 minutos para homogeneizar la mezcla manualmente. Una vez finalizado el proceso de amasado se vertió 180g de masa en moldes de aluminio con unas dimensiones de 125x75x40mm. La fermentación se llevó a cabo a 28° C y a una humedad relativa de 85% durante 40 minutos en una fermentadora Sveba Dahlin.

Después se procedió a hornear las masas en un horno del mismo fabricante, previamente precalentado, con convección de aire y giro continuo de la bandeja de horneado, durante 20min a 170°C. Finalizado el proceso de horneado, los panes se desmoldaron tras un período de 1 hora para posibilitar su enfriamiento. Dos de las piezas se reservaron para seguidamente analizar en fresco sus propiedades físicas, y la tercera se almacenó a 4°C para evaluar la evolución de su textura transcurridos 7 días.

### 3.2.5 Determinación de las propiedades físicas de los panes.

La pérdida de peso de las piezas se evaluó mediante la diferencia entre el peso inicial de la masa en cada elaboración (180g) y el peso de los panes después del horneado.

El volumen específico de los 2 panes enteros de cada elaboración se determinó utilizando un medidor de volumen de pan, Bread Volumen Tester JMTY (Hangzhou, China) empleando el método de desplazamiento de semillas (10-05 de la AACCC).

Para evaluar el aspecto de cada elaboración se tomaron fotografías de frente y de lado de los panes, así como de las rebanadas centrales. Las fotografías se realizaron con iluminación artificial de luz blanca sobre un fondo blanco con una escala horizontal y vertical. La cámara utilizada para la evaluación del aspecto de las elaboraciones fue un equipo Canon IXUS 285 HS.

El color de los panes se evaluó tomando medidas tanto de la corteza como de la miga. Para tomar las medidas del color de la corteza se realizaron cuatro medidas en cuatro zonas diferentes del producto, evitando la greña, mientras que para la miga se realizaron dos medidas, una por cada lado de la rebanada, obteniendo de este modo un total de 4 medidas de color de la miga por cada pan. Para realizar estas medidas se utilizó el colorímetro PCE-CSM5 (Tobarra, Albacete) y el software CQCS3. Los resultados se expresaron en las coordenadas del sistema CIE L\*, a\*, b\* y CIE L\*, C\* y h con el iluminante patrón D65 y el Observador 10°.

Para determinar la textura de la miga de los distintos panes se realizaron ensayos TPA (análisis de perfil de textura) de doble compresión, utilizando un texturometro universal TA-XT2 de Stable Microsystems (Godalming, Reino Unido). Para ello se utilizó una sonda cilíndrica de 20 mm de diámetro.

El ensayo se realizó sobre dos rebanadas de la parte central de los dos panes. Las rebanadas se cortaron con 2 cm de espesor. La velocidad de ensayo fue de 1mm/s con un tiempo de espera de 30 segundos entre la primera y la segunda compresión. Los resultados obtenidos fueron registrados por el software "Texture Expert" de donde se extrajeron los resultados de los parámetros texturales de dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia para cada una de las formulaciones a día 0.

Por otra parte, La dureza también se determinó para los panes almacenados durante 7 días a 4 ° C, siguiendo el mismo procedimiento que se ha descrito para los panes a día 0.

Finalmente se escaneó cada rebanada en escala color y escala de grises mediante un escáner HP Scanjet 93110, con el objetivo de captar y visualizar mejor el alveolado de la miga de cada una de las elaboraciones. Para caracterizar el alveolado que presentaba cada una de las elaboraciones se utilizaron las imágenes escaneadas de las rebanadas centrales de estos, las cuales se evaluaron mediante el programa de tratamiento de imágenes ImageJ versión 1.38c (Wayne Rasband, USA). De esta forma se obtuvieron los datos del área media del alveolo, la uniformidad y la densidad del alveolado, el área total o porcentaje de volumen hueco de la miga y el espesor medio de la miga.

### 3.2.6 Análisis sensorial de los panes.

Para evaluar las propiedades organolépticas de los panes se llevó a cabo un test de comparación múltiple en el que se compararon 4 muestras codificadas respecto a una muestra referencia (R). Las elaboraciones que se utilizaron para evaluar de manera representativa el efecto de las variaciones en la formulación fueron los panes con una sustitución del 15 y 50% de harina de TS nativa y tratada, mientras que la muestra de referencia fue el pan control (100% harina de arroz). El ensayo fue realizado por un panel de 11 jueces semientrenados, los cuales asistieron a dos sesiones de formación previas a la cata.

Para evitar la fatiga de los panelistas se seleccionó un número limitado de atributos para evaluar (Elía, 2011). Los atributos seleccionados fueron la uniformidad de la corteza, la uniformidad de la miga, la dureza de la miga al tacto, la intensidad del aroma del pan, la intensidad del sabor característico a trigo sarraceno, el regusto residual, la crujencia de la corteza, la dureza de la miga en boca, la cohesividad, la arenosidad, y la masticabilidad. De manera complementaria, los catadores también realizaron una valoración de la aceptación global de cada uno de los productos analizados. Para realizar la valoración de estos atributos se estableció una escala estructurada de 9 puntos, en la que la referencia (R) se encontraba en el punto central de la misma.

### 3.2.7 Análisis estadístico.

Para evaluar los factores estudiados, tanto el efecto del porcentaje de harina de trigo sarraceno empleado en la formulación como la aplicación del tratamiento de APH, se realizó un análisis de varianza simple (ANOVA) y un análisis de varianza multifactorial empleando el programa informático Statgraphics Centurion 18-X64 (Bitstream, Cambridge MN, USA). Las diferencias significativas entre cada muestra se establecieron empleando el método de Fisher (LSD) ( $p < 0,05$ ).

## 4 Resultados y discusión.

### 4.1 PROPIEDADES REOLÓGICAS DE LAS MASAS PANARIAS.

Los parámetros necesarios para evaluar las propiedades viscoelásticas de las masas panarias, obtenidos mediante los ensayos oscilatorios de matrices elaboradas a base de harina de arroz y TS (tratado y nativo), en diferentes dosis de sustitución (15, 30, 50, y 70%), así como la masa control elaborada con un 100% de harina de arroz, están recogidos en la *tabla 1*.

Los valores de los módulos elástico y viscoso a una frecuencia de 1 Hz ( $G'_{w1}$  y  $G''_{w1}$ , respectivamente), el esfuerzo máximo ( $\tau_{m\acute{a}x}$ ), el *crosspoint* ( $G'=G''$ ) y el módulo complejo ( $G$ )\* de las masas de trigo sarraceno tratado y nativo se vieron afectadas significativamente ( $p < 0,01$ ) tanto por el tratamiento como por el porcentaje de sustitución.

Como hemos mencionado anteriormente, el barrido de deformación nos permitió establecer la región viscoelástica lineal de las 9 masas, mediante la localización de los valores de  $\tau_{m\acute{a}x}$  (esfuerzo máximo). A partir de este punto se produce el descenso de  $G'$  (módulo elástico) y de  $G''$  (módulo viscoso), además de un incremento tangente del

ángulo de desfase ( $\tan(\delta)$ ), hasta el *Crosspoint*, o punto de entrecruzamiento de las curvas  $G'$  Y  $G''$  ( $G'=G''$ ).

Todas las masas presentaron un comportamiento mayoritariamente elástico a valores de esfuerzo inferiores al *Crosspoint*, ya que  $G'$  estuvo siempre por encima de  $G''$  y los valores de la  $\tan(\delta)$  se mantuvieron inferiores a 1 (Gujral & Rosell, 2004, Cappa *et al.*, 2016, Vallons *et al.*, 2011). Como podemos observar en la *tabla 1*, los valores de los esfuerzos máximos de las 9 masas oscilaron entre 2,8 y 8,4 Pa, siendo la masa con 15% de harina de TS nativa la que presentó el valor inferior, mientras que la masa con un 70% de TS tratado presentó el valor más alto. Cabe destacar que las masas elaboradas a partir de TS nativo no presentaron diferencias significativas entre ellas ni con la masa control. Sin embargo, si comparamos las masas elaboradas con harina de TS nativa frente a las masas enriquecidas con harina de TS tratado, observamos que en el caso de las masas elaboradas con sustituciones del 30, 50 y 70 % de TS tratado se obtuvieron valores significativamente ( $p<0,05$ ) más altos de esta variable que en la masa correspondiente elaborada con harina de TS nativo.

Esta misma tendencia se pudo observar en los resultado de *crosspoint* ( $G'=G''$ ), ya que entre las masas con trigo sarraceno nativo no se encontraron diferencias significativas entre ellas ni el control, pero si se encontraron diferencias significativas ( $p<0,05$ ) al comparar las masas elaboradas con sustituciones del 30, 50 y 70 % de TS tratado, frente a las masas con los mismos porcentajes de sustitución de TS nativo.

En cuanto a los valores de los parámetros  $G'_{w1}$  y  $G''_{w1}$  mostrados en la *tabla 1* podemos observar que en el caso de modulo elástico todas las masas con harina de TS nativo y tratado presentaron valores significativamente mayores que la masa control, mientras que en el módulo viscoso las únicas elaboraciones que obtuvieron valores significativamente más altos que la masa control fueron las masas con un 30, 50 y 70% de harina de TS procedente de granos tratados. Como hemos indicado anteriormente, los valores la  $\tan(\delta)_{w1}$  que se muestran el *tabla 1* se mantuvieron por debajo 1, oscilando entre de 0,32 y 0,56 sin mostrar dependencia del porcentaje de sustitución ni del tratamiento de APH.

En cuanto al parámetro “a”, no se observó ninguna dependencia del tratamiento de APH, pero sí en cuanto al nivel de sustitución de la harina TS (nativa y tratada), disminuyendo los valores de este parámetro según se aumentaba el porcentaje de harina de trigo sarraceno, tal y como se muestra en la *tabla 1*. Por otra parte, el parámetro “b” si se vio afectado significativamente ( $p<0,01$ ) tanto por el tratamiento como por el porcentaje de sustitución. Al igual que ocurría con el parámetro “a”, los valores de “b” sufrieron un descenso según se aumentó el porcentaje de trigo sarraceno nativo y tratado pero en este caso, si se observaron diferencias significativas entre las masas del 70% de TS tratado y nativo. El parámetro “c” se vio afectado significativamente ( $p<0,01$ ) por el tratamiento de APH. En la *tabla 1* se muestra que no existieron diferencias significativas entre las elaboraciones con TS tratado frente a la masa control, mientras que si se encontraron diferencias significativas entre las masas con 30, 50 y 70% de sustitución, ya que en el caso de las masas con TS nativo se obtuvieron valores significativamente más elevados que en las muestras con los mismos porcentajes de sustitución con TS tratado.

Finalmente, los resultados del módulo complejo ( $G^*$ ) obtenidos, se muestran en la *tabla 1*. Sus valores se encontraron entre 1824 y 11738 Pa. La masa que obtuvo el menor  $G^*$  fue la masa control, mientras que la masa con un 70 % de TS tratado fue la que obtuvo el valor más alto para este parámetro. Los resultados mostraron una clara tendencia de aumento del módulo complejo según se aumentó el % de TS nativo y tratado, encontrándose diferencias significativas entre el control y el resto de las masas, a excepción de la elaborada con un 15% de TS nativo. Además, todas las masas enriquecidas con harinas de TS tratado obtuvieron valores de  $G^*$  significativamente mayores que sus equivalentes elaborados con harina de TS nativo, lo que demuestra nuevamente que el tratamiento APH incrementó la consistencia de las masas para un determinado nivel de hidratación. Asimismo, se pudo concluir que las masas adquirieron una mayor consistencia a medida que se incrementó la dosis de harina de arroz sustituida por harina de TS.

A pesar de que es difícil comparar los resultados obtenidos en los distintos estudios realizados sobre masas elaboradas a partir de harinas tratadas por APH por realizarse con condiciones experimentales y muestras distintas, los resultados obtenidos para determinar el comportamiento reológico de las masas del presente trabajo fueron comparables con los obtenidos en el estudio realizado por Vallons *et al.*, (2011). En dicho estudio las masas a base de arroz blanco y trigo sarraceno mostraron un aumento en  $G^*$  según se aumentaba la presión en el tratamiento de APH. Además,  $\tan(\delta)_{w1}$  disminuyó, lo que indicó una contribución creciente del módulo elástico ( $G'_{w1}$ ) con el aumento de la presión de trabajo. Con estos resultados concluyeron que el tratamiento con APH podría mejorar la funcionalidad de las harinas sin gluten en términos de rendimiento de horneado debido al aumento de la consistencia de las masas gracias a que este tratamiento induce la gelatinización del almidón y la reticulación de las proteínas, tal y como se pudo observar en otros estudios previos realizados sobre distintas harinas y almidones tratados con APH, en los cuales se obtuvieron masas que se vieron afectadas positivamente por las APH incrementando su fuerza y elasticidad, lo cual podría mejorar la retención de gas, y en consecuencia el volumen y la textura de los panes (Hüttner *et al.*, 2010; Cappa *et al.*, 2016; Carballo *et al.*, 2018).

Este aumento de la consistencia de las masas, el incremento de la resistencia de la estructura y la elasticidad se produce como consecuencia del tratamiento de APH, debido a que en los materiales de base almidón las APH tienen la capacidad de crear nuevas estructuras y texturas debido a la alteración de la estructura de biopolímeros como las proteínas y el almidón, promoviendo la formación de una red proteica. La aplicación de las APH produce la completa gelatinización y el incremento de tamaño de los gránulos de almidón sin afectar a su integridad, así como una desnaturalización de las proteínas, mejorando la funcionalidad y aumentando las propiedades viscoelásticas de las masas, siempre en función del sustrato y del número de grupos sulfhidrilo libres. Esta sensibilidad de la estructura proteica al tratamiento se debe fundamentalmente a las débiles interacciones electrostáticas e hidrofóbicas y a las reacciones de intercambio entre los grupos tiol y sulfhidrilo (De Pablos, 2018).

Tabla 1 Valores medios y grupos homogéneo de los parámetros obtenidos de los ensayos reológicos oscilatorios aplicados a las masas según la dosis de trigo sarraceno y del empleo de harina nativa o tratada por APH

Sustitución TS %	Tratamiento APH	Módulo elástico (G' w <sub>1</sub> )	a	Módulo viscoso (G'' w <sub>1</sub> )	b	Tangente del ángulo de desfase tan(δ) w <sub>1</sub>	c	Módulo complejo (G*)	Esfuerzo máximo τ(máx)	Crosspoint G'=G''(Pa)									
0	Control	1630	a	0,276	e	820	a	0,29	d	0,50	bc	0,012	a	1824	a	3,1	a	66	a
15	No	1945	b	0,247	d	884	a	0,28	cd	0,45	abc	0,029	abc	2136	ab	2,8	a	63	a
30	No	2210	b	0,223	bc	951	a	0,27	cd	0,43	abc	0,042	bcd	2406	bc	3,0	a	72	a
50	No	2590	c	0,208	b	1003	a	0,26	bcd	0,39	ab	0,047	cd	2777	cd	3,3	a	86	ab
70	No	3585	d	0,183	a	1300	a	0,24	bc	0,36	ab	0,061	d	3813	e	3,4	a	97	ab
15	Si	2700	c	0,243	d	1245	a	0,26	cd	0,46	abc	0,021	ab	2973	d	4,3	ab	85	ab
30	Si	3680	d	0,234	cd	2065	b	0,24	bc	0,56	c	0,010	a	4242	f	5,4	bc	120	b
50	Si	6870	e	0,211	b	2600	b	0,23	ab	0,38	ab	0,016	a	7345	g	6,4	c	203	c
70	Si	11150	f	0,183	a	3670	c	0,20	a	0,33	a	0,017	a	11738	h	8,4	d	306	d
ES		90		0,006		170		0,01		0,05		0,007		123		0,5		12	
Tratamiento		**	ns	**	**	ns	**	**	**	ns	**	**	**	**	**	**	**	**	**
%Sustitución		**	**	**	**	ns	ns	**	**	ns	ns	**	**	**	**	**	**	**	**
Tratamiento· %Sustitución		**	ns	**	ns	ns	ns	**	*	ns	ns	**	*	**	*	**	**	**	**

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  y ns= no significativo ( $p > 0,05$ ). TS: trigo sarraceno; APH: Tratamiento Altas presiones hidrostáticas; G' w<sub>1</sub>, G'' w<sub>1</sub>, a, b y c: parámetros experimentales; ES: Error estándar agrupado.

## 4.2 PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS PANES.

### 4.2.1 Pérdida de peso y volumen específico.

La pérdida de peso que experimentan los distintos panes permite estimar el rendimiento derivado del proceso de elaboración, estando éste correlacionado con la capacidad de retención de agua de los ingredientes presentes en las distintas elaboraciones.

Como se indica en la *tabla 2* la pérdida de peso de los panes se vio afectado significativamente ( $p < 0,01$ ) por el porcentaje de sustitución. Como podemos observar, los datos muestran que las elaboraciones con porcentajes de sustitución del 15 y 30% de trigo sarraceno sin tratar fueron las que experimentaron mayores pérdidas de peso durante el horneado, mostrando diferencias significativas frente al pan control. En cuanto a las elaboraciones con harina de TS tratada, los panes que mostraron mayor pérdida de peso durante el horneado fueron los que tenían un 15 y un 50% de sustitución, mostrando diferencias significativas frente al pan control y el resto de elaboraciones, pero no entre ellas.

*Tabla 2. . Valores medios y grupos homogéneos para el porcentaje de pérdida de peso y volumen específico de los panes, elaborados según el nivel de sustitución de trigo sarraceno y del empleo de harina nativa o tratada con APH.*

Sustitución TS (%)	Tratamiento APH	Porcentaje de pérdida de peso		Volumen específico	
0	Control	16,3	ab	2,62	e
15	No	16,9	d	2,24	a
30	No	17,1	d	2,28	ab
50	No	16,4	b	2,31	b
70	No	15,8	a	2,25	a
15	Si	16,9	cd	2,74	f
30	Si	16,3	ab	2,55	d
50	Si	16,4	bc	2,50	d
70	Si	16,3	ab	2,38	c
<b>ES</b>		0,2		0,02	
<b>Tratamiento</b>		ns		**	
<b>% Sustitución</b>		**		**	
<b>Tratamiento-% Sustitución</b>		**		**	

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  y ns= no significativo ( $p > 0,05$ ). TS: trigo sarraceno; APH: Tratamiento Altas presiones hidrostáticas; ES: Error estándar agrupado.

Por otra parte, el porcentaje de pérdida de peso no se vio afectado significativamente por el tratamiento ( $p > 0,05$ ), tal y como se muestra en la *tabla 2*, ya que tras realizar el análisis de varianza se pudo comprobar que únicamente existieron diferencias estadísticamente significativas entre los panes tratados y no tratados con un 30% de sustitución de harina de TS. En el resto de casos las pérdidas fueron muy similares entre las muestras tratadas y sin tratar. En base a estos resultados se pudo concluir



que la cantidad de agua perdida durante la cocción no se vio influenciada por el tratamiento APH. Estos resultados fueron similares a los observados en otros estudios realizados sobre panificaciones con harinas de arroz, maíz y avena tratadas con altas presiones (Cappa *et al.*, 2016; Hüttner *et al.*, 2010b). Finalmente, cabe destacar que la interacción del tratamiento junto con el porcentaje de sustitución sí fue significativa ( $p < 0,01$ ) para este parámetro.

En el caso del volumen específico, éste sí se vio afectado significativamente ( $p < 0,01$ ) tanto por el tratamiento como por el porcentaje de sustitución. En los resultados mostrados en la *tabla 2* se puede observar una disminución del volumen según se aumentó el porcentaje de sustitución tanto en los panes con harina de TS nativo como en los que contenían la harina del TS tratado.

Si comparamos los panes con harina de TS nativo frente a los elaborados con TS tratado podemos observar que todos los panes con harina de TS tratada presentaron un volumen específico significativamente mayor que su correspondiente con TS nativo. Este aumento fue más evidente en los panes con porcentajes de sustitución del 15 y 30% de TS tratado, siendo este último el único que superó significativamente ( $p < 0,05$ ) el volumen específico del pan control.

El descenso de volumen que mostraron las elaboraciones enriquecidas con harina de TS (nativo y tratado) según se aumentó el porcentaje de sustitución podría ser debido a que los granos de trigo sarraceno (nativo y tratado) tiene un alto contenido en fibra en comparación con la de otros cereales y pseudocereales (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2020). En el estudio realizado por Sciarini *et al.*, (2020), en el cual se estudiaba la calidad de panes elaborados con quínoa y trigo sarraceno, se concluyó que este alto contenido en fibra no era favorable para el volumen de pan sin gluten, ya que ésta dificulta la capacidad de retención del gas producido durante la fermentación. Sin embargo, en el caso de que se aumentara la hidratación de las masas, esta pérdida de volumen se podría solucionar, tal y como se observa en el estudio realizado por Alvarez-Jubete *et al.*, (2010), en el que se obtuvieron mayores volúmenes en los panes con trigo sarraceno sin tratar tras ajustar el contenido de agua requerido para su formulación. Por lo tanto, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el estudio de las propiedades reológicas de nuestras masas, en el cual se obtuvieron masas con un incremento de consistencia según se aumentaba el porcentaje de TS, podemos corroborar que el volumen deficiente de las piezas elaboradas con harina de TS podría deberse a la elevada consistencia de las masas, la cual que impide el adecuado desarrollo del pan durante el proceso de panificación.

En cuanto al efecto del tratamiento, los resultados obtenidos tras la sustitución de harina de arroz por harina de TS tratado fueron comparables a los descritos por otros investigadores como Cappa *et al.*, (2016), quien al estudiar la aplicación en pan de almidón de maíz y harina de arroz tratados por APH, también observaron un aumento en el volumen de estos productos, como consecuencia de la completa gelatinización del almidón y la desnaturalización proteica producida por el tratamiento de APH. Por lo tanto podemos confirmar que el tratamiento de APH realizado sobre granos enteros de TS, ejerce un efecto beneficioso sobre el desarrollo del volumen del pan.

#### 4.2.2 Color de la corteza y de la miga.

Como se muestra en los resultados obtenidos de la *tabla 3* la luminosidad de la corteza ( $L^*$  corteza) se vio afectada significativamente ( $p < 0,01$ ) por el porcentaje de sustitución de TS. En los resultados obtenidos se pudo observar un claro descenso de la luminosidad de la corteza, según aumenta el porcentaje de sustitución de la harina de arroz con trigo sarraceno tanto tratado con APH, como sin tratar. Este aumento fue incluso más evidente en los panes tratados con altas presiones, ya que se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre todas las elaboraciones y entre éstas y la muestra control.

Tabla 3. Valores medios y grupos homogéneos del color de la corteza de las distintas elaboraciones según la dosis de TS y del empleo de harina nativa y tratada.

Sustitución TS (%)	Tratamiento APH	$L^*$ corteza		$c^*$ corteza		$h$ corteza	
0	Control	69,5	f	33,4	e	65,1	f
15	No	66,1	ef	30,9	cd	64,4	ef
30	No	58,8	cd	30,4	bc	62,5	de
50	No	55,9	bc	29,4	ab	60,7	cd
70	No	53,9	b	29,3	ab	58,9	bc
15	Si	65,5	e	32,2	de	63,6	ef
30	Si	60,4	d	32,4	de	60,6	c
50	Si	54,0	b	31,7	de	57,9	b
70	Si	49,6	a	29,1	a	55,3	a
ES		1,2		0,4		0,6	
Tratamiento		*		**		**	
% Sustitución		**		**		**	
Tratamiento·% Sustitución		*		**		*	

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  y ns= no significativo ( $p > 0,05$ ). TS: trigo sarraceno; APH: Altas presiones hidrostáticas;  $L^*$ : luminosidad;  $C^*$ : saturación;  $h$ : tono; ES: Error estándar agrupado.

En cuanto a la dependencia de la luminosidad de la corteza respecto al tratamiento de APH también se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Si comparamos la luminosidad de las muestras con harina TS tratado frente a los panes con harina de TS nativo, se pudo observar cierta tendencia de disminución de la luminosidad en las muestras tratadas, aunque las diferencias entre éstas sólo resultaron significativas para el 70% de sustitución. La luminosidad de la corteza del pan depende fundamentalmente de las reacciones de Maillard durante el horneado y, en menor medida, del color de las harinas, tal como se determinó en el estudio realizado por Miñarro *et al.*, (2010), al no encontrar variaciones de color en la corteza de las formulaciones estudiadas, concluyendo que el color oscuro de la corteza producido por las reacciones de Maillard, enmascara las diferencias de color atribuidas a diferentes ingredientes que si se pudieron observar en la miga. Estas diferencias de luminosidad pueden ser debidas a que el tratamiento de APH ha podido potenciar los fenómenos hidrolíticos relacionados con el almidón (Estrada-Girón *et al.*, 2005), favoreciendo la aparición de azúcares reductores en la harina que son más

susceptibles de sufrir reacciones de Maillard. Por otro lado, se ha reportado que los tratamientos APH realizados a elevados niveles de presión (600 MPa), provocan la desnaturalización parcial de las proteínas (Ahmed *et al.*, 2017), efecto que podría potenciar el desarrollo de las reacciones de Maillard durante el proceso de horneado del pan. Debido al efecto modulador asociado a los tratamientos APH aplicados sobre granos enteros, estos fenómenos solo resultaron evidentes cuando se emplearon los porcentajes de sustitución más elevados de harina de TS (70%).

La saturación de la corteza ( $c^*$ corteza) se vio afectada de forma significativa ( $p < 0,01$ ) tanto por el porcentaje de sustitución como por el tratamiento. En la *tabla 3* se puede observar una disminución de esta variable según aumentó la concentración de trigo sarraceno en las muestras nativas, mientras que en el caso de las muestras enriquecidas con TS tratado, esta tendencia no fue tan evidente, ya que la única elaboración que mostró diferencias significativas fue la del 70%. Por lo tanto, en los panes con harinas de TS tratadas con concentraciones inferiores al 70% se obtuvieron corteza con mayor viveza o intensidad del color característico, obteniendo saturaciones cercanas a la del pan control. Si comparamos los resultados obtenidos para los panes con harina de TS nativa frente a las elaboraciones con TS tratado, observamos que la corteza de los panes con porcentajes del 30 y 50% de TS tratado mostraron una saturación significativamente mayor que los panes con los mismos porcentajes harina de TS nativo.

Al igual que ocurría con la saturación, la variación del tono de la corteza ( $h$  corteza) de los panes dependió significativamente ( $p < 0,01$ ) tanto del porcentaje de sustitución como del tratamiento de APH. Los valores del tono fueron disminuyendo según se aumentó el porcentaje de sustitución de TS. Como se muestra en *la tabla 3*, el tono del pan control se encontraría entre los tonos amarillentos en el espacio de color  $CIE L^*C^*h$  con un  $h$  de 65,1 grados. Según se incrementa la concentración de trigo sarraceno el tono evolucionó hasta tonos más rojizos, siendo el valor más bajo el 55,3 que se obtuvo al elaborar el pan con un 70% de TS tratado. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el estudio realizado por Wronkowska *et al.*, (2013) en el que se comprobó que al aumentar del nivel de harina de trigo sarraceno en la formulación de un pan sin gluten, se produjo una disminución estadísticamente significativa en la luminosidad y un aumento en el índice de pardeamiento de la corteza en comparación con la muestra de control. Si comparamos el tono de las elaboraciones con harina tratada y nativa, podemos comprobar que los panes con harina de TS tratada con APH tuvieron valores de  $h$  significativamente inferiores, exceptuando la muestra del 15%. Por lo tanto, los resultados indican que los panes enriquecidos con harina tratada son más rojizos y oscuros que los elaborados con harina de TS nativa. El oscurecimiento del color de la corteza estaría asociado a la intensidad con la que se producen las Reacciones de Maillard, vinculados a su vez con los fenómenos hidrolíticos del almidón y la desnaturalización parcial de las proteínas que se producen durante el tratamiento APH. Dicho oscurecimiento puede ser una característica deseable, ya que los panes de arroz sin gluten tienden a tener un color de corteza más claro que los panes equivalentes de trigo blanco, lo que les aporta una apariencia muy artificial (Gallagher *et al.*, 2003).

Los resultados obtenidos en relación al color de la miga se muestran en la *tabla 4*. Como podemos observar, los parámetros luminosidad, saturación y tono de la miga se vieron afectados de forma significativa ( $p < 0,01$ ) tanto por el porcentaje de sustitución de harina de TS como por el tratamiento de APH. Sin embargo, la interacción entre el tratamiento y porcentaje de sustitución, únicamente fue significativa ( $p < 0,01$ ) para el parámetro saturación de la miga. Los resultados obtenidos para la luminosidad de la miga en los panes, mostraron una disminución significativa según se aumentó la concentración de TS. Cabe destacar que los panes enriquecidos con un 30 y 50% de sustitución de trigo sarraceno tratado, mostraron una miga significativamente ( $p < 0,05$ ) más luminosa que los panes sin tratar.

Tabla 4. Valores medios y grupos homogéneos del color de la miga de las distintas elaboraciones según la dosis de TS y del empleo de harina nativa y tratada.

Sustitución TS (%)	Tratamiento APH	L* miga	c* miga	h miga
0	Control	80,8 g	6,50 a	86,2 g
15	No	70,2 f	8,66 b	70,4 e
30	No	64,5 d	9,97 c	62,5 c
50	No	57,7 b	10,70 d	59,7 a
70	No	53,4 a	11,26 e	59,1 a
15	Si	71,9 f	8,47 b	72,0 f
30	Si	66,9 e	10,14 c	65,2 d
50	Si	61,7 c	11,89 f	61,5 b
70	Si	55,0 a	12,88 g	61,2 b
<b>ES</b>		0,6	0,09	0,3
<b>Tratamiento</b>		**	**	**
<b>% Sustitución</b>		**	**	**
<b>Tratamiento-% Sustitución</b>		ns	**	ns

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  y ns= no significativo ( $p > 0,05$ ). TS: trigo sarraceno; APH: Altas presiones hidrostáticas; L\*: luminosidad; C\*: saturación; h: tono; ES: Error estándar agrupado.

En cuanto a la saturación del color de la miga (c\* miga), los resultados mostraron que según se aumentó el contenido de TS en las elaboraciones, también aumentó la viveza o intensidad del color de la miga, al contrario que ocurría en la corteza. Comparando los panes con harina nativa y tratada, se observó que las migas de los panes elaborados con harinas tratadas mostraron colores significativamente ( $p < 0,05$ ) más vivos en los niveles de sustitución más altos (50-70%).

En cuanto al tono de la miga (h miga), se observó una disminución significativa según se aumentó el porcentaje de harina de TS hasta llegar al 50% de sustitución. También se observaron diferencias significativas entre las migas de los panes con harina nativa y tratada ya que, según los resultados, las migas de los panes tratados exhibieron tonos más amarillentos que sus equivalentes de TS nativo, los cuales tendieron a tonalidades más pardas o rojizas.

Teniendo en cuenta que la harina integral de TS empleada presenta tonalidades pardas y más oscuras que la harina de arroz, los resultados obtenidos son los esperados, ya que el color de la miga depende principalmente del color de los ingredientes que la componen (Miñarro *et al.*, 2010). En cuanto a las diferencias que

se han encontrado entre las migas de los panes con harina de trigo sarraceno tratado y sin tratar, no se han encontrado estudios que respalden estos resultados. Sin embargo existen estudios previos como el de Fernández *et al.*, (2019) en el cual, tras realizar las medidas de color de las harinas de distintas leguminosas tratadas con APH, se observó una variación de la luminosidad según se aumentó la presión del tratamiento. Este cambio en los pigmentos asociado a los tratamientos de APH pueden producirse como consecuencia de los fenómenos hidrolíticos del almidón y la desnaturalización proteica (Ahmed *et al.*, 2016), obteniendo migas más luminosas en los panes con harinas tratadas.

#### 4.2.3 Características de textura de la miga.

Los parámetros texturales de la miga medidos a día 0 se muestran en la *tabla 5*. Todos estos parámetros (dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia) mostraron una dependencia significativa ( $p < 0,01$ ) tanto del porcentaje de sustitución de harina de arroz por trigo sarraceno, como por el tratamiento de la harina con APH.

Los valores de la dureza aumentaron según se aumentó el porcentaje de sustitución de harina de TS. Todos los panes enriquecidos con harina de TS (nativo y tratado) presentaron una dureza significativamente mayor que el control, a excepción de las elaboraciones con un 15 y un 30% de TS tratado. Comparando la dureza de los panes, observamos que los enriquecidos con harina de TS tratado presentaron una dureza inferior que los panes con TS nativo, siendo ésta significativamente menor ( $p < 0,05$ ) en las elaboraciones con un 15, 30 y 70% de harina de TS. El incremento de la dureza de los panes según se aumentó el porcentaje de TS también se observó en otros estudios previos como el realizado por Torbica *et al.*, (2010). En cuanto a las diferencias entre los panes con harina de TS nativo y tratadas, los resultados obtenidos son comparables a los obtenidos en otros estudios como el de Cappa *et al.*, (2016) sobre almidón de maíz y harina de arroz, en el que se concluyó que la mejor capacidad de captación de agua y, en consecuencia, la buena consistencia de las masas dieron como resultado panes con volúmenes elevados y una adecuada terneza de la miga. En el presente estudio, si comparamos los resultados obtenidos para la dureza con los obtenidos en el volumen específico, podemos concluir que el tratamiento de APH sobre granos de TS enteros dio como resultado panes con miga más blanda y más ligera gracias a que éste provocó un cambio en la consistencia de las masas que originó el incremento del volumen de estos panes. Finalmente, cabe destacar que el parámetro de dureza no se vio afectado significativamente ( $p > 0,05$ ) por la interacción entre el tratamiento y el porcentaje de sustitución.

En cuanto a la elasticidad, todas las elaboraciones enriquecidas con trigo sarraceno nativo y tratado, obtuvieron valores significativamente mayores que el pan control. Al contrario que ocurría con la dureza, en el caso de la elasticidad sí se vio afectada significativamente ( $p < 0,01$ ) por la interacción entre el tratamiento y el porcentaje de sustitución. En el caso de las elaboraciones enriquecidas con harina de trigo sarraceno sin tratar no se han observado diferencias entre los distintos niveles de sustitución, mientras que en el caso de los panes elaborados con harina de trigo sarraceno tratado

si se observaron diferencias significativas según se aumentó el nivel de sustitución hasta el 50% de TS. El contenido de humedad y la retrogradación del almidón son factores que afectan directamente a la elasticidad de la miga (Carballo *et al.*, 2018). Generalmente, Los panes de calidad son aquellos que tienen un buen grado de frescura, lo cual está directamente relacionado con unos valores elevados de elasticidad. El tratamiento APH de las harinas dio lugar a incrementos significativos ( $p < 0,05$ ) de la elasticidad de la miga con respecto a los panes elaborados con harina nativa, para los porcentajes más elevados de sustitución (50 y 70%), evidenciando una mejora en la percepción de la calidad del producto final.

La variable cohesividad de la miga no se vio afectada significativamente ( $p > 0,05$ ) por la interacción entre el tratamiento y el porcentaje de sustitución. Los valores de este parámetro de textura mostraron que las migas fueron menos cohesivas cuando mayor fue el porcentaje de sustitución de harina de TS, siendo esta tendencia más acusada en el caso de las elaboraciones con harina de TS nativa. En el caso de los panes con harina de trigo sarraceno tratado con APH, solo se observaron diferencias significativas con respecto al control en los porcentajes de sustitución más altos (50-70%), por lo que podemos concluir que el tratamiento de APH podría mejorar el grado de cohesividad de la miga de los panes resultantes de la inclusión de un porcentaje elevado de harina de TS en la formulación. Estos resultados obtenidos en las elaboraciones con altas concentraciones de TS tratado concuerdan con los observados en otro estudio previo en el cual se incorporaron harinas tratadas con APH de trigo, avena, mijo y sorgo en la formulación del pan, obteniendo una disminución significativa y general en la cohesión de la miga (Angioloni & Collar, 2012).

La gomosidad si presentó una dependencia significativa ( $p < 0,05$ ) de la interacción entre el tratamiento y el porcentaje de sustitución. Los panes elaborados con harina de granos de TS tratados mostraron valores de gomosidad significativamente inferiores a los elaborados con trigo sarraceno nativo, menos en el caso de los panes con un 50% de sustitución, en los cuales no se encontraron diferencias significativas. Como se muestra en la *tabla 5* los panes menos gomosos fueron los correspondientes a las elaboraciones con un nivel de sustitución del 15 y 30% de TS tratado, obteniendo valores que no mostraron diferencias estadísticamente significativas con el pan control.

La masticabilidad mostró el mismo nivel de dependencia de la interacción entre el tratamiento y el porcentaje de sustitución que la gomosidad. El pan que mostró un valor significativamente ( $p < 0,05$ ) mayor que el resto de elaboraciones fue el pan con un 70% de TS nativo. Al igual que ocurrió con la gomosidad, se obtuvieron valores de masticabilidad significativamente menores en los panes elaborados con porcentajes de 15, 30 y 70% de TS tratado que en su equivalente con harina de TS nativa. En el estudio realizado por Carballo *et al.*, (2018), también se observó que la masticabilidad en la corteza y la miga disminuyó en las muestras de harina de patata dulce tratadas con 400 MPa, concluyendo que la aplicación del tratamiento APH sobre las harinas podría mejorar significativamente la calidad de los panes obtenidos. Por otra parte, al igual que ocurrió en el caso de la gomosidad, los panes con un 15 y un 30% de TS

tratado no presentaron un aumento significativo de la masticabilidad respecto al control.

Tabla 5. Valores medios y grupos homogéneos para la dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia de la miga de los panes elaborados según la dosis de TS y del empleo de harina nativa o tratada.

Sustitución TS (%)	Tratamiento APH	Dureza	Elasticidad	Cohesividad	Gomosidad	Masticabilidad	Resiliencia
0	Control	4,1 a	0,788 a	0,57 e	2,3 a	1,8 a	0,27 d
15	No	6,8 b	0,888 c	0,53 d	3,6 b	3,2 b	0,28 def
30	No	7,1 b	0,890 c	0,51 c	3,6 b	3,2 b	0,26 d
50	No	7,3 b	0,896 c	0,46 b	3,4 b	3,0 b	0,21 b
70	No	10,2 c	0,901 c	0,43 a	4,4 c	3,9 c	0,18 a
15	Si	3,8 a	0,873 b	0,59 e	2,2 a	1,9 a	0,30 f
30	Si	4,1 a	0,899 c	0,57 e	2,3 a	2,1 a	0,29 ef
50	Si	6,4 b	0,920 d	0,53 d	3,4 b	3,1 b	0,27 de
70	Si	7,3 b	0,931 d	0,48 b	3,5 b	3,3 b	0,24 c
ES		0,5	0,004	0,01	0,2	0,2	0,01
Tratamiento		**	**	**	**	**	**
% Sustitución		**	**	**	**	**	**
Tratamiento-% Sustitución		ns	**	ns	*	*	*

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  y ns= no significativo ( $p > 0,05$ ). TS: trigo sarraceno; APH: Altas presiones hidrostáticas; ES: Error estándar agrupado.

En cuanto a la resiliencia o capacidad de recuperación instantánea, los resultados obtenidos mostraron que al aumentar el porcentaje de sustitución de trigo sarraceno en las distintas fórmulas se produjo una tendencia de reducción en los valores de resiliencia. Sin embargo, si comparamos la resiliencia del pan control con los panes elaborados con porcentajes de sustitución de TS (nativo y tratado), observamos que los únicos panes con valores de resiliencia significativamente ( $p < 0,05$ ) menores al pan control fueron los elaborados con un 50 y un 70% de TS nativo. Por otra parte, también cabe destacar que los valores obtenidos en las elaboraciones con un porcentaje de sustitución del 30, 50 y 70% de TS tratado, fueron significativamente mayores que los observados en los panes con TS nativa, lo que refuerza las observaciones realizadas anteriormente con otros parámetros texturales que permitirían concluir una mayor percepción de frescura en las migas de los panes elaborados con harina de TS tratada con APH. En cuanto a la dependencia de la resiliencia con respecto a la interacción del tratamiento con el porcentaje de sustitución, esta variable se vio afectada de forma significativa ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.4 Envejecimiento de los panes.

Los valores obtenidos para la dureza a los 7 días y el incremento que experimentó este parámetro en una semana se muestran en la tabla 6. Según el análisis de varianza múltiple, la dureza de los panes a los 7 días se vio afectada significativamente ( $p < 0,01$ ) tanto por el tratamiento como por el porcentaje de

sustitución, mientras que el incremento de dureza solo se vio afectado significativamente ( $p < 0,01$ ) por el porcentaje de sustitución.

Como se muestra en los datos de la *tabla 6*, transcurridos los 7 días de almacenamiento a 4°C, a diferencia de los resultados de dureza obtenidos en el día 0, únicamente se observaron diferencias significativas entre los panes nativos y tratados con el 50% de sustitución.

*Tabla 6. Valores medios y grupos homogéneos de la dureza a los 7 días y el incremento de dureza respecto al día 0, de los panes elaborados según la dosis de TS y del empleo de harina nativa o tratada con APH.*

Sustitución TS (%)	Tratamiento APH	Dureza día 7		Incremento de dureza día 0-7	
0	Control	8,8	a	4,70	a
15	No	15,5	bc	8,72	b
30	No	16,2	c	9,13	bc
50	No	24,4	e	17,05	e
70	No	22,6	de	12,38	cd
15	Si	12,5	b	8,71	b
30	Si	16,0	c	11,92	bcd
50	Si	17,0	c	10,65	bcd
70	Si	20,3	d	13,04	d
<b>ES</b>		1,0		1,02	
<b>Tratamiento</b>		**		ns	
<b>%Sustitución</b>		**		**	
<b>Tratamiento-% Sust.</b>		*		*	

Valores con letras distintas dentro de una misma columna indican que son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  y ns= no significativo ( $p > 0,05$ ). TS: trigo sarraceno; APH: Altas presiones hidrostáticas; ES: Error estándar agrupado

Por otra parte, el pan que mostró un incremento mayor de la dureza tras 7 días fue el elaborado con un 50% de harina de TS nativo, mientras que el pan que tuvo el menor incremento fue el pan control. Si comparamos el incremento de dureza de los panes con TS nativo frente a los elaborados con TS tratado, únicamente se observaron diferencias significativas entre los panes con un 50% de sustitución. Estos resultados se contradicen con los observados en otros estudios de vida útil, en los que tras 72 horas de almacenamiento, los panes elaborados con almidón de maíz y harina de arroz tratado con APH dieron como resultado cinéticas de dureza menores al pan control debido a las modificaciones de las harinas por la presión (Cappa *et al.*, 2016). Es posible que la diferencia de resultados entre ambos trabajos sea debido a que en el presente estudio se tomaron las medidas de dureza a los 7 días en vez de a las 72 horas.

#### 4.2.5 Estudio del alveolado de la miga.

En la *figura 1* se puede observar el alveolado obtenido en cada una de las elaboraciones realizadas. Todos los resultados obtenidos para los parámetros característicos del alveolado de la miga de todas las elaboraciones se muestran en la *tabla 1* del *anexo 1*.



Los parámetros de área media del alveolado, área total y porcentaje de huecos de la miga se vieron significativamente ( $p < 0,01$ ) afectados por el tratamiento, el porcentaje de sustitución, así como de la interacción entre ambos factores. Por otra parte la uniformidad del alveolado solo se vio afectada significativamente ( $p < 0,01$ ) por el tratamiento y la interacción de éste con el porcentaje de sustitución, mientras que el espesor medio de la miga se vio afectado significativamente ( $p < 0,01$ ) por el porcentaje de sustitución y la interacción del tratamiento y porcentaje de sustitución.

Los resultados obtenidos mediante el programa de procesamiento de imagen digital ImageJ, indicaron que el pan que presentó una mayor uniformidad de la miga fue el pan con un 30% de harina TS tratada. Sin embargo, tras realizar el tratamiento estadístico, este pan no presentó diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) frente a ninguno de los elaborados con harina de TS nativa. Por otra parte, los panes que presentaron una menor uniformidad de la miga fueron el control y el pan enriquecido con un 70% de harina de TS tratado, seguido de los panes con un 15 y un 50% de harina de TS tratado. Con estos resultados se pudo concluir que el tratamiento de APH puede afectar a las características del alveolado de la miga de los panes, haciendo que éstos obtengan alveolos más irregulares. La uniformidad se suele relacionar con la presencia de alveolos más pequeños y redondos. En la *tabla 1 del anexo 1* se puede observar que cuando aumentaron los valores obtenidos para la uniformidad del alvéolo, los valores de su área media disminuyeron.

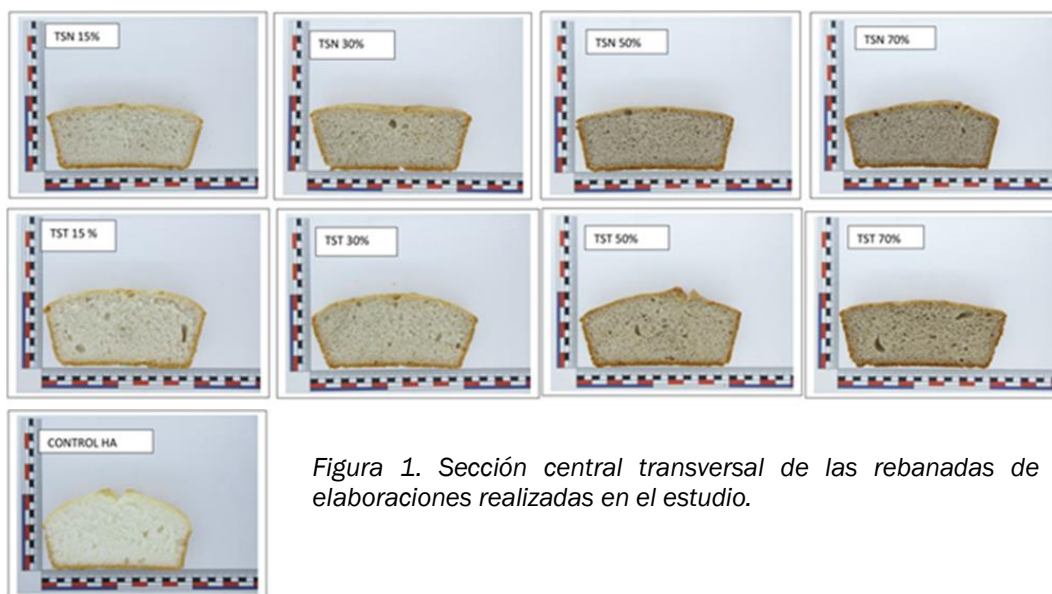


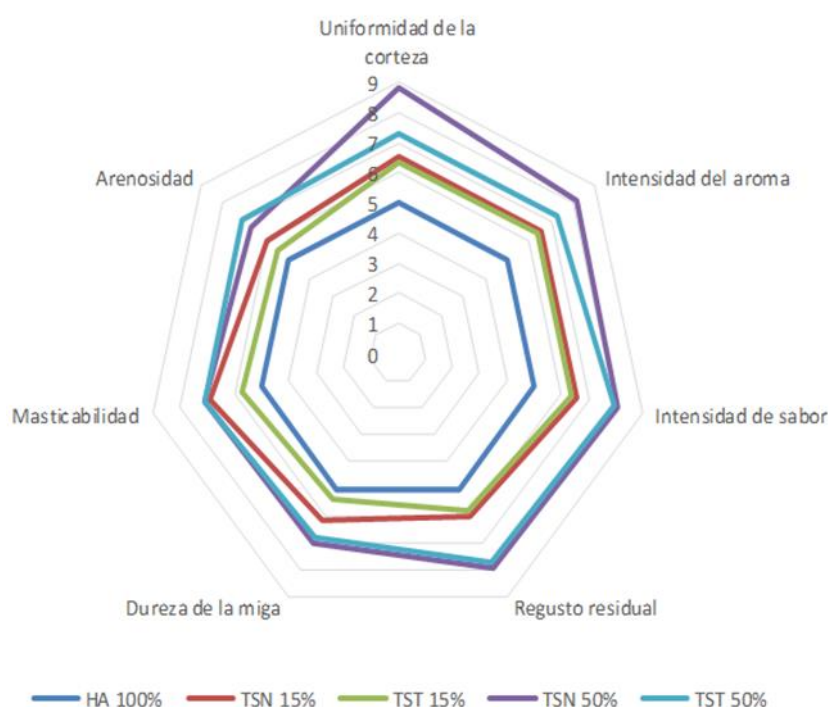
Figura 1. Sección central transversal de las rebanadas de las 9 elaboraciones realizadas en el estudio.

Respecto a la densidad alveolar, los resultados obtenidos mostraron que las elaboraciones con mayor densidad de alveolos fueron las realizadas con un 15% de TS tratado y nativo, junto con el pan con un 30% de TS tratado. Estos resultados indican que los panes enriquecidos con dosis bajas de trigo sarraceno tratado (15-30%) tienen mayor densidad alveolar que el resto de elaboraciones, exceptuando el caso del pan con un 15% de TS nativo.

### 4.3 ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS PANES.

Como se ha comentado anteriormente, las muestras de pan elaboradas con un porcentaje de sustitución del 15 y 50% de TS (nativo y tratado) fueron sometidas a una evaluación sensorial con el objetivo de conocer la repercusión que el tratamiento de APH podría tener sobre las propiedades sensoriales de los panes sin gluten.

En la *figura 2* se muestra la valoración de los diferentes atributos sensoriales evaluados mediante la prueba de comparación múltiple de los panes elaborados con las dosis de 15 y 50% de harina de TS nativo y tratado, respecto a la muestra referencia (pan control con un 100% de harina de arroz). Los valores medios y grupos homogéneos obtenidos para todos los parámetros evaluados en la cata, se muestran en la *tabla 1* del *anexo 2*.



*Figura 2.* Diagrama radial de los atributos sensoriales de los panes elaborados con dosis de 100% harina de arroz, 15% harina de trigo sarraceno nativo, 15% de harina de trigo sarraceno tratado con APH, 50% harina de trigo sarraceno nativo y 50% harina de trigo sarraceno tratado con APH. HA: Harina de arroz; TSN: Trigo sarraceno nativo; TST: Trigo sarraceno tratado.

Como se puede observar, los resultados obtenidos mostraron que el pan que presentó menor uniformidad de la corteza y, por lo tanto, mayor presencia de greña, fue el pan control. La uniformidad de la corteza fue similar en los panes elaborados con un 15% de TS tratado, y el enriquecido con un 15% de harina de TS nativo. Ambos presentaron diferencias significativas frente al pan control, pero no entre ellos. El pan que mostró menor presencia de greña fue el elaborado con un 50% de TS nativo, mostrando diferencias significativas frente al elaborado con un 50% de TS tratado. La presencia de greña estuvo asociada con un mayor desarrollo de los panes durante el

proceso de panificación, la cual se produjo en los panes en los que se empleó un 15 % de harina de TS tratada en la formulación.

En cuanto a los parámetros de intensidad de aroma, sabor y regusto residual característicos del trigo sarraceno, observamos que el pan que recibió mayor puntuación fue el enriquecido con un 50% de TS nativo, mostrando diferencias significativas frente al pan con un 50% de TS tratado en la intensidad de aroma. Esto nos indica que el tratamiento de APH podría tener un efecto positivo sobre la percepción olfativa de estas elaboraciones sin gluten, ya que el aroma característico del trigo sarraceno puede resultar no deseable en un pan debido a que es un olor similar al de legumbre cruda.

En cuanto a la dureza en boca, el pan que más se asemejó a la referencia fue el enriquecido con un 15% de harina de TS tratado, ya que entre ambos no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). El pan con la miga de mayor dureza fue el pan elaborado con un 50% de TS nativo, seguido del pan con 50% de TS tratado, aunque en este caso no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos. Estos resultados de dureza de la miga obtenidos mediante análisis sensorial fueron comparables a los obtenidos mediante el ensayo instrumental de la textura, por lo que podemos concluir que el tratamiento de altas presiones hidrostáticas influye sobre ella textura de la miga, dando como resultado unos panes con una miga más ligera y suave que las elaboraciones sin tratar. Este efecto proporcionado por el tratamiento fue más evidente en los panes elaborados con bajas dosis de harina tratada.

El parámetro de masticabilidad hace referencia al número de masticaciones necesarias para deglutir el alimento. Este parámetro está relacionado con la cohesividad de la miga, la dureza y la elasticidad. Según los resultados obtenidos, el único pan que no mostró diferencias significativas frente a la referencia fue el elaborado con un 15% de TS tratado, mientras que el resto de elaboraciones sí mostraron diferencias significativas respecto al control, pero no entre ellas. En este caso, al igual que ocurrió con la dureza de la miga, los resultados también fueron comparables a los obtenidos en el ensayo instrumental de la textura.

Por último también se evaluó la arenosidad. Esta cualidad sensorial hace referencia a la percepción de una sensación de terrosidad durante las masticaciones. En este caso, los resultados obtenidos indican que los panes con mayor porcentaje de sustitución de TS presentaron mayor sensación de terrosidad. Esto se debe a que la harina de trigo sarraceno fue integral y pudo presentar una cantidad residual de partículas de cascarilla de mayor tamaño, las cuales pudieron ser percibidas con mayor facilidad en dosis altas de inclusión de harina de TS en la formulación. Cabe destacar que en el caso del pan elaborado con un 15% de harina de TS tratado no se encontraron diferencias significativas respecto a la referencia.

En cuanto a la aceptación global de los panes evaluados en la cata, el pan con mayor aceptabilidad fue el enriquecido con un 15% de TS tratado, mostrando diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) frente al resto de elaboraciones (datos mostrados en la *tabla 1* del *anexo 2*). Por otra parte, el pan con menor aceptabilidad fue el elaborado con un

50% de harina de TS nativo, aunque en este caso, no se observaron diferencias significativas frente al pan con un 50% de harina de granos de TS tratados.

## **CONCLUSIONES.**

Los resultados del presente trabajo han permitido demostrar que el tratamiento de APH sobre los granos enteros de TS provocó modificaciones en las propiedades viscoelásticas de las masas, ya que aquellas que estaban enriquecidas con harina procedente de granos de TS tratados a distintos niveles de sustitución, mostraron tener una mayor consistencia que las masas elaboradas con TS nativo para el mismo grado de hidratación. También demostraron tener mayor tolerancia frente a la aplicación de esfuerzos cortantes responsables de su deformación, manteniendo su estructura y comportamiento característicos, lo que permitió obtener panes con mayor volumen y menor dureza que los panes con TS sin tratar, para los porcentajes de sustitución del 15, 30 y 70%.

Por otra parte, en los resultados se ha demostrado que el tratamiento de APH también puede producir ciertos efectos sobre otras propiedades físicas como el color del pan y el alveolado, destacando las diferencias encontradas en el tono, ya que los panes con TS tratado mostraron cortezas más rojizas y oscuras y migas más amarillentas que las elaboraciones con TS nativo en los porcentajes de sustitución del 30, 50 y 70%, además de migas con alveolos más irregulares en los panes con un 15, 50 y 70% de TS tratado. Sin embargo, en el caso del estudio de la vida útil de los panes, los resultados mostraron que el tratamiento de APH realizado sobre el grano entero de trigo sarraceno no tuvo ninguna influencia significativa sobre el envejecimiento de los panes.

En cuanto a la evaluación sensorial, los resultados obtenidos mostraron que el enriquecimiento de los panes sin gluten con harina TS tratado con APH podría tener un efecto positivo sobre la aceptabilidad del pan sin gluten, sobre todo a bajas dosis de sustitución, ya que se observó un efecto positivo sobre la uniformidad de la corteza, la dureza en boca de la miga y la percepción olfativa de las elaboraciones enriquecidas con TS tratado, la cual permitió mitigar el sabor característico de los productos elaborados con TS. Sin embargo, para poder constatar estos resultados sería necesario someter a las muestras a un test sensorial hedónico por parte de un número más elevado de catadores.

Por lo tanto, teniendo en cuenta todos los resultados obtenidos en el presente trabajo, se ha podido confirmar que el tratamiento de granos enteros con APH podría ser una estrategia viable para obtener harinas de TS con unas propiedades funcionales adecuadas para abordar los procesos de panificación en matrices sin gluten, debido a que su incorporación podría mejorar los principales atributos de la calidad del pan, así como mejorar su aceptación por parte de los consumidores, fundamentalmente cuando éstas se emplean en porcentajes de sustitución inferiores al 30%.

## AGRADECIMIENTOS.

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto PID2019-110809RB-I00 financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación y los Fondos Europeos para el Desarrollo Regional (MIC/FEDER), el proyecto AGL2015-63849-C2-2-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO/FEDER), de los proyectos de la Junta de Castilla y León/FEDER (Ref: VA072P17, VA165G18 y VA195P20), y del convenio Uva/FUNGUVa-ITACyL 2018 (sector harinero).

## BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, J., Thomas, L., Taher, A., Joseph, A. (2016). Impact on high pressure treatment on functional, rheological, pasting and structural properties of lentil starch dispersions. *Carbohydrate Polymers*, 152, 639-647.
- Ahmed, J., Mulla, M.Z., Arfat, Y.A., Kumar, V. (2017). Effects of high-pressure treatment on functional, rheological, thermal and structural properties of Thai Jasmine rice flour dispersion. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, 1745-4549.
- Alvarez-Jubete, L., Auty, M., Arendt, E.K., Gallagher, E. (2010). Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *European Food Research and Technology*, 230, 437-445.
- Angioloni, A. & Collar, C. (2012). Effects of pressure treatment of hydrated oat, finger millet and sorghum flours on the quality and nutritional properties of composite wheat breads. *Journal of Cereal Science*, 56, 713-719.
- Bączek, N., Jarmułowicz, A., Wronkowska, M., Monika Haros, C. (2020) Assessment of the glycaemic index, content of bioactive compounds, and their in vitro bioaccessibility in oat-buckwheat breads, *Food Chemistry*.
- Cappa, C., Barbosa-cánovas, G. V, Lucisano, M., & Mariotti, M. (2016). Effect of high pressure processing on the baking aptitude of corn starch and rice flour. *LWT - Food Science and Technology* 73, 20-27.
- Carballo Pérez, I., Mu, T. H., Zhang, M., & Ji, L. L. (2018). Effect of high hydrostatic pressure to sweet potato flour on dough properties and characteristics of sweet potato-wheat bread. *Journal of Food Science & Technology*, 53(4), 1087–1094.
- Deng, Y., Padilla-Zakour, O., Zhao, Y., Tao, S. (2015). Influences of High Hydrostatic Pressure, Microwave Heating, and Boiling on Chemical Compositions, Antinutritional Factors, Fatty Acids, In Vitro Protein Digestibility, and Microstructure of Buckwheat. *Food and Bioprocess Technology*, 8, 2235–2245.
- De-Pablos, S. (2018). Estudio de la mejora de la funcionalidad de harinas y almidones sin gluten mediante tratamiento físicos innovadores (Trabajo Fin de Máster). Universidad de Valladolid.
- Elía, M. (2011). A procedure for sensory evaluation of bread: Protocol developed by a trained panel. *Journal of Sensory Studies*, 26, 269-277.
- Estrad-Girón, Y., Swanson, B.G., Barbosa-Cánovas, G.V. (2005). Advances in the use of high hydrostatic pressure for processing cereal grains and legumes. *Trends in Food Science & technology* 16, 194-203
- Fernández, E., Thompson, C., Chaves, M.G., Acevedo, B.A., Avanza, M.V. (2019). Legume Seeds Treated by High Hydrostatic Pressure: Effect on Functional Properties of Flours. *Food and Bioprocess Technology*, 13, 323-340.
- Gallagher E, Gormley TR, Arendt EK (2003) Crust and crumb characteristics of gluten-free breads. *Journal of Food Engineering* 56, 153–161

Gallego, C. (2019). Estudio de las propiedades funcionales de harinas de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con altas presiones hidrostáticas (Trabajo Fin de Máster). Universidad de Valladolid.

Gao, Y., Janes, M.E., Chaiya, B., Brennan, M.A., Brennan, C.S. & Prinyawiwatkul, W. (2018). Gluten-free bakery and pasta products: prevalence and quality improvement. *International Journal of Food Science and Technology* 53, 19-32.

Giménez-Bastida, J. A., & Zieliński, H. (2015) Buckwheat as a functional food and its effects on health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 7896-7913

Gujral, H. S. & Rosell, C. M. (2004). Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Research International*, 37, 75-81.

Hüttner, E. K., Dal Bello, F., Poutanen, K., & Arendt, E. K. (2010a). Fundamental evaluation of the impact of high hydrostatic pressure on oat batters. *Journal of Cereal Science*, 49(3), 363–370.

Hüttner, E. K., Dal Bello, F., Poutanen, K., & Arendt, E. K. (2010b). Fundamental study on the effect of hydrostatic pressure treatment on the bread-making performance of oat flour. *European Food Research and Technology* 230, 827–835

Mariotti, M., Pagani, 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.

Martínez-Villaluenga, C., Peñas, E. & Hernández-Ledesma, B. (2020). Pseudocereal grains: Nutritional value, health benefits and current applications for the development of gluten-free foods. *Food and Chemical Toxicology*,

Miñarro, B., Normahomed, I., Guamis, B., & Capellas, M. (2010). Influence of unicellular protein on gluten-free bread characteristics. *European Food Research and Technology* 231,171–179.

Miranda, J., Lasa, A., Bustamante, M.A., Churruga, I. & Simon, E. (2014). Nutritional Differences Between a Gluten-free Diet and a Diet Containing Equivalent Products with Gluten. *Plant Foods for Human Nutrition* 69, 182 -187.

Muntean, M. V., Marian, O., Barbieru, V., Cătunescu, G. M., Ranta, O., Drocas, I. & Terhes, S. (2016). High pressure processing in food industry. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 10, 377-383

Purlis, E. (2010). Browning development in bakery products. *Journal of Food Engineering*, 99, 239-249.

Ravichandran, C., Purohit, S. & Rao, P. (2018). High pressure induced water absorption and gelatinization kinetics of paddy. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47, 146-152.

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(3), 272-277.

Ronda, F., Pérez-Quirce, S., Angioloni, A. & Collar, C. (2013). Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behaviour of gluten-free formulated rice doughs: A fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids*, 32(2), 252-262.

Sciarini LS, Steffolani ME, Fernández A, Paesani C & Pérez GT. (2020) Gluten-free breadmaking affected by the particle size and chemical composition of quinoa and buckwheat flour fractions. *Food Science and Technology International*, 26 (4), 321-332.

Sedej, I., Sakac, M., Mandic, A., Misan, A., Tumbas, V. & Canadanovic, J. (2012). Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Grain and Fractions : Antioxidant Compounds and Activities. *Food*, 77(9), 954-959.

Torbica, A., Hadnađev, M., Dapčević Hadnađev, T. (2010). Rheological, textural and sensory properties of gluten-free bread formulations based on rice and buckwheat flour. *Food Hydrocolloids*, 24, 626-632.

Torbica, A., Hadnađev, M., Dapčević Hadnađev, T. (2012). Rice and Buckwheat Flour Characterisation and its Relation to Cookie Quality. *Food Research International*, 48 (1) 277-283.

Vallons, K. J., Ryan, L. A., & Arendt, E. K. (2011). Promoting structure formation by high pressure in gluten-free flours. *LWT - Food Science and Technology*, 44(7), 1672-1680.

Vallons, K. J., Ryan, L. A., Koehler, P., & Arendt, E. K. (2010). High pressure – treated sorghum flour as a functional ingredient in the production of sorghum bread. *European Food Research and Technology*, 231(5), 711–717.

Wronkowska, M., Haros, M., Soral- Ś mietana, M. (2013). Effect of Starch Substitution by Buckwheat Flour on Gluten-Free Bread Quality. *Food and Bioprocess Technology* 6, 1820 - 1827.

Yu, Y., Pan, F., Ramaswamy, H., Zhu, S., Yu, L. & Zhang, Q. (2017). Effect of soaking and single / two cycle high pressure treatment on water absorption, color, morphology and cooked texture of brown rice. *Journal of Food Science and Technology*, 54(6), 1655-1664.

Zhu, F. (2020). Dietary fiber polysaccharides of amaranth, buckwheat and quinoa grains: A review of chemical structure, biological functions and food uses. *Carbohydrate Polymers*, 248, 116819

## ANEXO 1: CARACTERÍSTICAS DEL ALVEOLADO DE LOS PANES.

Tabla 1. Valores medios y grupos homogéneos de los parámetros característicos del alveolado de la miga de los distintos panes elaborados según el nivel de sustitución de trigo sarraceno y del empleo de harina nativa o tratada con APH.

Sustitución TS (%)	Tratamiento APH	Área media del Alveolo	Uniformidad	Densidad de alveolo	Área total (mm <sup>2</sup> )	%Huecos	Esesor medio de la miga (mm)						
0	Control	0,39	d	5,4	a	51,0	de	329,6	e	22,0	f	0,696	a
15	No	0,20	ab	17,9	cd	53,6	f	166,4	abc	11,1	bcd	0,834	b
30	No	0,22	b	17,3	cd	49,3	cd	166,2	abc	11,1	bcd	0,878	c
50	No	0,22	b	17,7	cd	47,8	bc	164,1	ab	10,9	abc	0,887	c
70	No	0,21	ab	19,4	d	48,3	c	158,1	a	10,5	ab	0,902	c
15	Si	0,21	ab	14,0	c	52,5	ef	177,3	bc	11,8	cd	0,827	b
30	Si	0,18	a	20,8	d	52,3	ef	149,0	a	9,9	a	0,890	c
50	Si	0,26	c	13,2	bc	45,6	b	182,9	c	12,2	d	0,880	c
70	Si	0,31	c	8,2	ab	42,5	a	207,8	d	13,9	e	0,899	c
<b>ES</b>		0,01		1,8		0,9		6,1		0,4		0,008	
<b>Tratamiento</b>		**		**		*		**		**		ns	
<b>% Sustitución</b>		**		ns		**		**		**		**	
<b>Tratamiento·%Sustitución</b>		**		**		**		**		**		**	

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  y ns= no significativo ( $p > 0,05$ ). TS: trigo sarraceno; APH: Tratamiento Altas presiones hidrostáticas; ES: Error estándar agrupado.



## ANEXO 2: RESULTADOS OBTENIDOS ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS PANES.

Tabla 1. Valores medios y grupos homogéneos para los atributos sensoriales evaluados mediante la prueba de comparación múltiple de los panes elaborados con las dosis de 15 y 50% de harina de TS nativo y tratado.

Sust. TS (%)	Tratamiento APH	Unifor. de la corteza	Unifor. alveolar	Dureza de la miga	Int. del aroma	Int. de sabor	Regusto residual	Crujencia	Dureza de la miga	Cohesividad	Arenosidad	Masticabi.	Aceptación global
0	Control	5,0 a	5,0 a	5,0 a	5,0 a	5,0 a	5,0 a	5,0 ab	5,0 a	5,0 a	5,0 a	5,0 a	5,0 ab
15	No	6,5 b	4,5 a	7,2 c	6,5 bc	6,5 b	6,0 b	5,5 b	6,2 b	6,7 b	6,0 bc	6,9 b	6,1 bc
50	No	8,8 d	4,3 a	8,2 d	8,2 d	8,1 c	7,9 c	4,1 a	7,0 c	6,5 b	6,7 cd	7,1 b	4,2 a
15	Si	6,4 b	4,5 a	6,0 b	6,4 b	6,4 b	5,8 b	5,6 b	5,4 a	5,7 ab	5,5 ab	5,7 a	7,0 c
50	Si	7,3 c	3,7 a	7,6 cd	7,3 c	7,9 c	7,7 c	4,3 ab	6,8 bc	6,4 b	7,1 d	7,1 b	4,6 a
ES		0,2	0,5	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	0,2	0,4	0,3	0,3	0,5
Tratamiento		**	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
%Sustitución		**	ns	**	**	**	**	*	**	ns	**	*	**
Tratamiento·%Sustitución		**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  y ns= no significativo ( $p > 0,05$ ). TS: trigo sarraceno; APH: Altas presiones hidrostáticas; Sust: Sustitución; Unifor.: Uniformidad; Int. Intensidad; Masticabi.: Masticabilidad; ES: Error estándar agrupado.