



# Efecto del procesado por Altas Presiones Hidrostáticas sobre las características de los batidos y sus bizcochos

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso 2013/2014

Alumna: Beatriz Barcenilla Gago  
Tutor: Manuel Gómez Pallarés

**Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos**

Universidad de Valladolid

## **Efecto del procesado por Altas Presiones Hidrostáticas sobre las características de los batidos y sus bizcochos**

### **ABSTRACT**

The aim of the present study was to investigate the effects of High Pressure Processing (HPP) (300 - 600 MPa , 3 - 6 min, at ambient temperature) and storage time (60 days) at freezing conditions (4°C) on quality of batters and their layer cakes. Characteristics of the batter (natural microflora, density, microstructure and rheological properties) and cakes (specific volume, loss of weight, colour and texture parameters) were analysed. HPP decreases microbial counts and air content and increases density and rheological properties of batters. Cakes from high pressure treated batters presents a lower volume, related with a loss of air bubbles by pressure effect, a darker crust and a harder texture than cakes from not treated batters. Respect specific volume, significative differences were observed between different pressures and time of applications. Cakes with the lowest specific volume were those obtained from batters treated at 600 MPa during 6 min. HPP has a greater effect on most of batter and cakes characteristics at the end of storage time.

### **RESUMEN**

El objetivo del presente estudio fue investigar los efectos que el procesado por Altas Presiones Hidrostáticas (300 - 600 MPa , 3 - 6 min, a temperatura ambiente) (APH) y el tiempo de almacenamiento en refrigeración (4°C) tienen sobre la calidad de los batidos y los bizcochos tipo *layer* obtenidos a partir de ellos. Se analizaron las características de los batidos (microbiota, densidad, microestructura y propiedades reológicas) y de los bizcochos (volumen específico, pérdida de peso, color y parámetros de textura). Las APH reducen los recuentos microbianos e incrementan la densidad y la  $G'$  y  $G''$  de de los batidos. Los bizcochos obtenidos a partir de batidos tratados presentan un menor volumen debido a la pérdida de burbujas de aire por la presión, una corteza más oscura y una textura más dura respecto a aquellos que no fueron tratados. Respecto al volumen de los bizcochos, se han observado diferencias significativas entre las presiones y los tiempos de aplicación de las mismas, presentan un menor volumen específico aquellos bizcochos elaborados a partir de batidos tratados con 600 MPa durante 6 minutos. Los tratamientos APH tienen mayor efecto sobre las características de los batidos y de los bizcochos al final del tiempo de almacenamiento de los mismos.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los bizcochos de alta calidad tienen varios atributos, entre ellos un gran volumen, una baja firmeza de la miga así como una estructura uniforme, gran tolerancia al endurecimiento y una larga vida útil (Gélinas, et al.; Karaöglu & Kotancilar, 2009). La vida útil de los bizcochos está generalmente entre 1 y 4 semanas e incluso más, dependiendo de su formulación, envasado, actividad de agua y temperatura de almacenamiento (Karaöglu, 2008). A partir de este momento, la calidad del producto se ve disminuida principalmente debido a los procesos de endurecimiento y también al deterioro microbiano. El endurecimiento del producto se debe principalmente a cambios en sus propiedades físicas y químicas entre las que destacan: la retrogradación del almidón, la migración de humedad desde la miga a partes más secas del bizcocho, así como a la pérdida de su aroma y sabor característicos (Guy, 1983; He & Hosene, 1990). Se han investigado diferentes alternativas para aumentar la vida útil de los bizcochos, tales como cambios en la formulación (Gélinas, 1999; Maxwell & Zobel, 1978), el uso de aditivos, emulsionantes e hidrocoloides principalmente (Gómez, et al., 2007; Karaoglu, et., 2001; Seyhun, et al., 2003, 2005) y cambios en las condiciones de envasado (Baeva & Panchev, 2005; Dury-Brun, et al., 2006; Rodríguez, 2002). La congelación podría ser un método eficaz para ralentizar los procesos de envejecimiento e inhibir el crecimiento microbiano y por tanto aumentar la vida útil de los productos horneados, sin embargo, este proceso conlleva un coste muy elevado.

Existe un importante grupo de personas que prefieren elaborar sus propios alimentos en sus hogares. Para satisfacer estas necesidades del mercado, las industrias alimentarias están trabajando en el desarrollo de nuevos productos. CSM, S.L., IREKS, S.L. y CREDIN, S.A. son algunas de las empresas que presentan en su catálogo de productos una variada lista de premezclas en polvo para pastelería. Estas se mantienen estables durante un largo periodo de tiempo en un lugar fresco y seco, pero necesitan la adición de cantidades predeterminadas de agua y de levadura así como un tiempo de amasado y fermentación previamente a su cocción. Por otra parte, NESTLÉ, S.L. comercializó un producto semi-líquido, una masa batida, que únicamente necesitaba unos minutos en el horno para llegar a obtener un bizcocho listo para consumir. El principal inconveniente de este producto era su corta vida útil, inferior a 30 días en condiciones de refrigeración. En esta línea, Gómez, et al., (2011) investigaron los efectos de las condiciones de congelación de la masa y el tiempo de reposo de la misma sobre la calidad del bizcocho y determinaron que el proceso de

congelación aumentaba la densidad y la viscosidad de la masa, dando como resultados un producto con un menor volumen y altura así como una mayor dureza. Por ello, es necesario el empleo de nuevos métodos de conservación que permitan desarrollar productos con una mayor vida útil y una reducción del empleo de conservantes. Diversos estudios de consumidores muestran que éstos prefieren los productos naturales y que el empleo de aditivos en la elaboración de los alimentos les crea incertidumbre sobre su inocuidad (Bearth, et al., 2014). Este objetivo se puede conseguir mediante la aplicación de nuevos métodos de conservación de alimentos.

El tratamiento por altas presiones hidrostáticas (APH) ha ido incrementando su importancia en la industria alimentaria durante las últimas décadas. Esta nueva tecnología permite aumentar la vida útil de los alimentos mediante la inactivación de microorganismos y enzimas sin apenas originar cambios en la calidad nutricional y sensorial del producto (Cheftel, et al., 1997; Orlie, et al., 2000). El alimento envasado es introducido en un contenedor y éste se coloca en una vasija que debe llenarse de un líquido y cerrarse. La presión es transmitida mediante unas bombas a través de un líquido, generalmente agua. El procesado por APH emplea una presión isostática entre 100 y 600 MPa (1000 – 6000 bares) a temperatura ambiente. La tecnología se basa en el principio de Le Chatelier y las reglas isostáticas, de tal manera que la presión es transmitida de forma uniforme e instantánea en el producto, y en todos sus constituyentes, sufriendo cambios de volumen después de su aplicación. Las APH aceleran las reacciones involucradas en los cambios de volumen a nivel molecular, siendo la clave para entender los efectos biológicos en las macromoléculas y en los microorganismos (Hugas, et al., 2002). Sin embargo, la efectividad del tratamiento o la resistencia de los microorganismos es tremendamente variable y depende de diferentes parámetros del proceso (presión alcanzada, temperatura de tratamiento y tiempo de aplicación); el tipo de microorganismo (los microorganismos gram positivos son más resistentes a las APH que las especies gram negativas y que las esporas); la morfología de la célula (bacilos son más sensibles a la presión que los cocos); la fase de crecimiento del microorganismos (las bacterias en una fase de crecimiento temprana son más barosensibles que los microorganismos en su fase estacionaria, de latencia o de muerte) y la matriz tratada (Rubio, et al., 2007). El factor principal que influye en el deterioro microbiano de los productos horneados es la actividad de agua (Smith, et al., 2004). La masa batida para bizcocho presenta una actividad de agua entre 0,96 y 0,98. En los productos horneados con humedad elevada son capaces de desarrollarse tanto bacterias como mohos y levaduras (Smith, 1992). Las levaduras y los mohos son microorganismos muy sensibles a la presión inactivándose a presiones

de 200-300 MPa (Cheftel, 1995), mientras que las esporas son muy resistentes y pueden sobrevivir a presiones muy elevadas (>1000 MPa) (Sale, et al., 1970). En general, para inactivar las células vegetativas es necesario aplicar presiones superiores a 200 MPa. Para la inactivación de la mayoría de las bacterias gram positivas se necesitan tratamientos de 500-600 MPa durante 10 minutos, mientras que las gram negativas se inactivan con tratamientos de 300-400 MPa durante 10 minutos (Trujillo, et al., 1997).

Las APH no sólo actúan sobre los microorganismos presentes en los alimentos, sino también sobre sus componentes químicos (Cheftel & Culioli, 1997). Mientras que los azúcares simples y los compuestos sencillos de bajo peso molecular no se ven afectados por la presión (Cheftel, 1992), los polisacáridos y compuestos más complejos pueden sufrir la disociación de sus cadenas y modificar sus propiedades gelificantes. En el caso de los gránulos de almidón, responsables de la estructura final de la miga, la presión origina una reducción de su temperatura de gelatinización (Hayashi & Hayashida, 1989). El volumen de los bizcochos se ve influenciado por la temperatura de gelatinización del almidón (Marcotte, et al., 2004) por lo que los tratamientos HPP podrían originar cambios en el volumen del producto final. Otro aspecto importante es que presiones entre 50 y 200 MPa son capaces de inhibir las reacciones de Maillard (pardeamiento no enzimático), por lo que impiden el desarrollo del sabor y color típicos de esta reacción (Sangronis, et al., 1997).

Después de la aplicación del tratamiento por APH, la proteína sufre procesos de desnaturalización, agregación o gelificación, dependiendo el sistema de presión aplicado, las condiciones de la solución y la intensidad y duración del tratamiento (Galazka, et al., 2000). Presiones superiores a 100-200 MPa provocan la disociación de macromoléculas en subunidades, así como el despliegue y la desnaturalización de las estructuras monoméricas (Cheftel, 1992). Aunque en el caso de las masas para bizcochos “layer” el desarrollo de la red de gluten es limitada, las proteínas del gluten pueden desempeñar una función importante en su estructura durante el horneado. En lo que respecta a las proteínas del huevo, éstas constituyen una parte importante de la fracción proteica de este tipo de masas y contienen un mayor número de grupos sulfhídrico libres que el gluten, por lo que son más susceptibles de producir uniones cuando son desnaturalizadas. Se ha descrito que la estructura de la miga de los bizcochos está compuesta por una red en la que los gránulos de almidón están unidos por las proteínas del huevo. Varios han sido los estudios que han demostrado que la red proteica de los batidos está formada por ambas proteínas, gluten y huevo

(Wilderjans, et al., 2013). Por lo que la aplicación de APH podría influir directamente en las características estructurales del producto final, tales como su firmeza y masticabilidad.

En lo que respecta a los lípidos, la presión incrementa su punto de fusión en unos 10-15 °C por cada 100 MPa (Buchheim & El Nour, 1992). Así, los lípidos que son líquidos a temperatura ambiente pueden cristalizar por efecto de la presión dando lugar a cristales densos y muy estables. Esto puede afectar negativamente a la estabilidad de la masa, ya que son los cristales pequeños los que se distribuyen fácilmente alrededor de las burbujas de aire consiguiendo una mejor estabilización (Brooker, 1993).

Hüttner, et al., (2009) observaron que las APH afectan significativamente a la microestructura de las masas de avena, viéndose afectados tanto el almidón como las proteínas. Los tratamientos APH mejoraron significativamente la viscosidad y la elasticidad de las masas. A presiones  $\leq 300$  MPa el incremento del componente viscoso fue superior al incremento del componente elástico. Por el contrario, a presiones  $\geq 350$  MPa el componente elástico fue el predominante. Por otra parte, observaron que las APH inducían la gelatinización del almidón, efecto que empezaba a partir de los 300 MPa y era casi completo después de los 500 MPa. También observaron que presiones  $\geq 300$  MPa afectaban a las proteínas, ya que inducían la formación de compuestos insolubles en urea y/o enlaces disulfuro, mejorando las redes proteicas. En líneas generales, el aumento de la gelatinización del almidón y la modificación de la proteína dependía de la presión aplicada, pero los resultados mostraron que la presión podría ser una alternativa para mejorar las propiedades funcionales de las masas de avena.

Recientemente, Angioloni & Collar (2012) han investigado el impacto del tratamiento APH las propiedades reológicas de unas masas de leguminosas (garbanzo, guisante y soja). Presiones  $\geq 350$  MPa causaron descensos en la temperatura de gelatinización de las masas de garbanzo y de guisante, independientemente del nivel de hidratación. Para todas las leguminosas estudiadas, las APH provocaron cambios en la reología de las masas, particularmente en aquellas que presentaban una textura más blanda, dando como resultado un incremento del carácter rígido/sólido. Los análisis de los proteínas revelaron que presiones superiores  $>200$ MPa inducían la formación de complejos insolubles en la urea, puentes de disulfuro y agregados fuertes de proteínas. Aunque, los efectos causados en la proteína dependían de la presión aplicada, los resultados mostraron que la aplicación de APH puede ser usada para

mejorar la funcionalidad en los procesos de elaboración de pan de las masas de garbanzo, guisante y soja.

A pesar de los logros de las APH en cuanto a la mejora de la estructura de las masas de cereales y de leguminosas, en la literatura no hay información disponible relacionada con el efecto de la presión en las características de las masas para la elaboración de bizcochos. Los bizcochos tipo “*layer*” son sistemas complejos en la tecnología del horneado debido a la presencia de cuatro ingredientes principales (harina de trigo, azúcar, aceite y huevos) que interactúan entre sí durante el amasado y posterior horneado (Wilderjans, et al., 2013).

El objetivo del presente estudio fue determinar el impacto de una serie de tratamientos HPP (300 – 600 MPa, 3 – 6 minutos, respectivamente) sobre las características microbiológicas, reológicas y microscópicas de las masas batidas, así como sobre la calidad de los bizcochos obtenidos a partir de ellas. Los bizcochos fueron caracterizados analizando diversos parámetros como el peso, el volumen, el color y la textura. Los análisis se realizaron el día de la fabricación y a los 60 días, con el objetivo de determinar el efecto conservante de las APH a lo largo de la vida útil del producto. Por otra parte, se determinó el efecto de las condiciones de envasado sobre la calidad tanto de la masa como del bizcocho, y para ello cada una de las elaboraciones se realizaron en dos tipo de presentaciones, bolsa a vacío y botella.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. Materiales**

Para la elaboración de los bizcochos se ha utilizado harina de trigo suministrada por Harinera Esteban Fernández Ramos e Hijos (Renedo, Valladolid, España), azúcar blanco de la marca Acor (Valladolid, España), leche entera líquida U.H.T de la marca Central Lechera Asturiana (Corporación Alimentaria Peñasanta, Principado de Asturias, España), huevo entero líquido pasteurizado de la marca Ovopack (Álvarez Camacho, S.L., Sevilla, España), aceite de girasol refinado de la marca Langosta (F. Faiges, S.L., Daimiel, Ciudad Real, España), y impulsor comercial marca Puratos (T500 Puratos, S.A., Gerona, España).

## **3.2. Métodos**

### **2.2.1. Preparación de las muestras**

La fórmula utilizada para la realización de los bizcochos fue la siguiente: harina (30%), azúcar (27%), leche (18%), huevo (15%), aceite (9%) y levadura (0,9%). Los ingredientes, una vez pesados se batieron a velocidad 4 durante 1 minuto y posteriormente a velocidad 6 durante 9 minutos.

La masa se dividió en muestras de 300 g. La mitad de las muestras fueron envasadas a vacío en bolsa de polietileno/poliamida (espesor 130  $\mu\text{m}$ , permeabilidad al oxígeno 30 mL/mm<sup>2</sup>.día.bar y permeabilidad al vapor de agua de 1,4 g/m<sup>2</sup>.día) fabricadas por Industrias Pargón (Salamanca, España) usando una envasadora Tecnotrip (Barcelona, España). El resto de las muestras fueron envasadas en botella de plástico transparente de 280 mL de la marca Farmaplas S.I. (Fuenlabrada, Madrid, España).

Las muestras envasadas en bolsa se dividieron en 5 grupos. A cada grupo se le aplicó uno de los siguientes tratamientos: 300 MPa/3 minutos, 300 MPa/6 minutos, 600 MPa/3 minutos y 600 MPa/6 minutos, en una instalación industrial de procesado por altas presiones hidrostáticas modelo Wave 6000/135, NC Hiperbaric (Burgos, España) empleando agua a 12°C como medio de transmisión de la presión. Las muestras no presurizadas se emplearon como control. Se procedió de igual forma para las muestras envasadas en el formato botella. De cada tratamiento se obtuvieron 12 bolsas y 12 botellas. La mitad de las muestras fueron almacenadas en refrigeración (4°C) durante 60 días junto con las muestras no tratadas (controles) con la finalidad de evaluar su evolución con el paso del tiempo y poder estimar su vida útil. Se realizó el análisis de los batidos y de los bizcochos obtenidos a partir de éstos.

### **2.2.2. Elaboración de los bizcochos**

Con las muestras tratadas y sin tratar se elaboraron bizcochos el día 0 (el mismo día de preparación del batido) y a los 60 días de almacenamiento en refrigeración. 180g de cada bolsa/botella se colocaron en moldes de aluminio modelo R22G (109 x 159 x 38 mm), (Cofresco, Madrid, España) y se introdujeron en un horno eléctrico modular de la marca Salva, modelo PANEL ST-99 (Lezo, Guipuzkoa, España) a 190 °C durante 30 min. Después del horneado, y antes de desmoldar los bizcochos, se dejaron reposar y enfriar durante una hora a temperatura ambiente. A continuación se introdujeron en bolsas de plástico para evitar su desecación y se almacenaron en una cámara de refrigeración donde se conservaron 24 horas a 20 °C.



### **2.2.3. Análisis de los batidos**

#### **2.2.3.1. Análisis microbiológicos**

Los análisis microbiológicos se realizaron por triplicado, tomándose una muestra de cada una de las bolsas o botellas. Para cada análisis microbiológico se tomaron 25 g de muestra asépticamente y se colocaron en bolsas estériles de la marca Microgen (Camberley, Reino Unido) realizando una dilución 1/10 en agua de peptona (Biomerieux, Spain). Después de homogenizar las muestras durante 30 segundos empleando un homogenizador Pulsified (Microgen, Camberley, Reino Unido), se realizó una batería de diluciones con agua de peptona para determinar los recuentos microbiológicos. Los recuentos fueron evaluados en placa, empleado 1 mL de cada dilución por placa.

Se realizaron los siguientes recuentos microbiológicos: *aerobios mesófilos totales* en agar PCA (plate count agar) (Biolife, Italy), las placas fueron incubadas a  $30 \pm 1$  °C durante  $72 \pm 3$  h; *bacterias anaerobias* en agar PCA (Biolife, Italy), incubadas en jarras de anaerobiosis empleando sobres GenBox Anaer (Biomerieux, Spain) a  $30 \pm 1$  °C durante  $72 \pm 3$  h; *bacterias ácido lácticas* que crecieron en agar MRS (man rogosa sharp), (Biolife, Italy), incubados en anaerobiosis durante  $30 \pm 1$  °C durante  $72 \pm 3$  h, y *yeast and moulds* en agar YGC (yeast glucosa chloramphenicol) (Biolife, Italy), incubado a  $25 \pm 1$  °C durante 5 días. El límite de detección de la técnica fue de 10 UFC/g. los resultados se expresaron en logaritmos de unidades de colonia formados (log UFC/gramo).

#### **2.2.3.2. Densidad**

La densidad de los batidos se determinó a partir de la relación entre los pesos de un recipiente estándar (100 mL) lleno de muestra y lleno de agua (densidad, 1 g/cm<sup>3</sup>).

#### **2.2.3.3. Microscopia**

Se colocó una gota de 2 g aproximadamente sobre una lámina de plástico (portaobjetos) y sobre ella se colocó otra lámina (cubreobjetos) para evitar la captura de las pérdidas de aire. Estas láminas se presionaron creando una lámina de masa de espesor constante entre ambas. Las láminas se colocaron en un microscopio Leica DM750 microscope (Leica Microsystems, Heerbrugg, Suiza) donde fueron observadas empleando el objetivo 40x. Posteriormente se tomaron fotografías de dichas imágenes con una cámara Leica EC3 acoplada al microscopio y usando un visualizador de imágenes LAS EZ V1.7.0 para Windows (Leica Application Suite) y un software propio (Leica Microsystems, Heerbrugg, Suiza).

#### **2.2.3.4. Reología**

Se estudió el comportamiento reológico de las masas a humedad constante utilizando un reómetro de esfuerzo controlado Thermo Scientific Haake RheoStress1 (Thermo Fisher Scientific, Schwerte, Alemania) y un baño de agua Phoenix II P1-C25P que controla la temperatura de análisis, fijada en 25°C. Todas las medidas se monitorizaron con el programa informático Rheowin Pro Job Manager. La muestra se colocó entre los platos, utilizándose una geometría de platos paralelos de titanio de 60 mm de diámetro de titanio (PP60 Ti) y superficie rugosa para evitar el deslizamiento de la masa durante la realización de las pruebas. Después de ajustar un espacio entre platos de 1 mm, se cubre la superficie de masa entre los dos platos expuesta al aire con aceite de vaselina Panreac (Panreac Química SA, Castellar del Vallés, España) previniendo la pérdida de humedad en la misma. La masa se deja reposar durante 300 segundos antes de iniciar la medida. Se impuso una oscilación sinusoidal en el plato superior, mientras que el plato inferior se mantuvo estacionario.

Se realizó en primer lugar un barrido de esfuerzos de 0,01 a 10 Pa a una frecuencia constante de 1Hz para determinar la región viscoelástica lineal de todas las muestras. Una vez definida, se eligió un valor de esfuerzo incluido en dicha zona que fue utilizado en el barrido de frecuencias. Posteriormente se realizó un barrido de frecuencias de 10 a 0,01 Hz, en la región determinada como viscoelástica lineal. En estos ensayos, se obtuvieron los valores de módulo elástico,  $G'$  [Pa], viscoso,  $G''$  [Pa], tangente  $\delta$  ( $G''/G'$ ) y módulo complejo  $G^*$  [Pa], ajustando los datos para los distintos valores de frecuencia  $\omega$  [Hz] a una ecuación exponencial o ley de la potencia ( $R^2$  mayor o igual a 0,99).

#### **2.2.4. Análisis de los bizcochos**

##### **2.2.4.1. Características morfológicas**

La pérdida de peso de los productos horneados se calculó restando el peso de cada uno de los bizcochos, una vez fríos y desmoldados, a la cantidad de masa añadida inicialmente en cada molde y se expresó en %. El volumen de los bizcochos se determinó a través de un medidor de volumen Volscan Profile 300 (Stable Micro Systemas, Surrey, Reino Unido). El volumen específico se calculó como el cociente entre el volumen y la masa del bizcocho. Las medidas se tomaron para cada uno de los dos bizcochos obtenidos para cada tratamiento y para el control, a las 24 h de su horneado.

#### **2.2.4.2. Parámetros de textura**

Las medidas de la textura se realizaron con un texturómetro Texture Analyser TA-XT2 (Stable Microsystems, Surrey, Reino Unido) provisto de un software "Texture Expert". La sonda utilizada para el ensayo es de Stable Microsystem N° P/25a Cylinder Probe de 25 mm de diámetro y un área de contacto de 490,87 mm<sup>2</sup>.

Se utilizó un TPA (Textura Profile Análisis), un ensayo de doble compresión, en el que se ejecuta una compresión inicial, posteriormente hay un periodo de reposo y después de la pausa se produce una segunda compresión. Se programaron los siguientes parámetros para el ensayo: velocidad de preensayo: 4 mm/s, velocidad de ensayo: 1 mm/s, velocidad de post-ensayo: 1 mm/s, fuerza: 0,98 N, distancia: 10 mm, tiempo de compresión: 30s. Se analizaron los siguientes parámetros texturales: dureza, elasticidad, cohesividad, masticabilidad y resiliencia.

Para realizar las medidas de la textura, se tomaron 2 rebanadas centrales (de 2 cm de grosor) de los dos bizcochos obtenidos para cada tratamiento por lo que se obtuvieron 4 repeticiones para cada una de las elaboraciones. Las medidas de textura se realizaron a las 24 h del horneado.

#### **2.2.4.3. Parámetros cromáticos**

Para realizar las medidas de color se empleó un espectrofotómetro Minolta CN- 508i (Minolta Co., Ltd, Japón) utilizando el iluminador estándar D65 y un observador de 2°, expresando los resultados en el espacio de color CIE L\*a\*b\*. Se realizaron cinco medidas para cada punto. Se tomaron dos puntos de la corteza y dos puntos de la miga de dos rebanadas de cada bizcocho. Se tomaron medidas de dos bizcochos de cada tratamiento. Las medidas se realizaron a las 24 h del horneado de los productos.

#### **2.2.4.4. Aspecto visual**

Se realizaron fotografías del bizcocho en posición frontal y de perfil así como de una rebanada central de cada bizcocho, para comparar tanto el aspecto externo como el interno de las diferentes elaboraciones. Las imágenes fueron tomadas a las 24 h del horneado. También se realizó un escaneado en escala de grises, de la parte central de un bizcocho para cada una de las elaboraciones, empleando un escáner HP Scanjet G3110.

#### **2.2.4.5. Análisis sensorial. Focus Group**

Se organizó un focus group, una reunión de personas con la finalidad de analizar las características de diferentes productos, y poder así seleccionar aquellos que presenten las características sensorialmente más aceptables. Se reunió a 7 personas expertas en la elaboración y la caracterización de productos de panificación y repostería moderadas por la persona encargada de elaborar el presente estudio. Se realizó el análisis de aspectos visuales (volumen, color, alveolado) y aspectos olfato-gustativos (aroma, sabor, textura) tanto de la miga como de la corteza de los bizcochos. Se realizaron 4 reuniones, una para cada uno de los días de elaboración (2 formatos de envasado x 2 días de conservación de las masas batidas), analizándose muestras de cada tratamiento en cada una de las mismas (5 bizcochos).

#### **2.2.5. Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos se trataron estadísticamente con el programa Statgraphics V5.1. (Statsoft Inc, USA) y de forma separada en función del formato de envasado. Así para cada formato, bolsa o botella, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) multifactorial para cada una de las variables estudiadas, obteniendo el efecto de cada uno de los factores, tratamiento de altas presiones hidrostáticas y tiempo de conservación y de sus interrelaciones sobre los parámetros evaluados. Los resultados obtenidos se han indicado en tablas (excepto en el caso del volumen específico y % de pérdida de peso que se han mostrado en figura) y algunas de las interacciones significativas se representan en figuras. El procedimiento empleado para discriminar entre medidas fue el LSD (Least Significant Difference) o mínima diferencia significativa de Fisher. Aquellos factores que presenten un p-valor menor de 0,05, se consideran estadísticamente significativos con un nivel de confianza para el análisis del 95%. Posteriormente se realizó el Test de Rangos Múltiples para determinar aquellas medidas que son significativamente diferentes de otras.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1. Características de los batidos**

##### **3.1.1. Resultados microbiológicos**

En las tablas 1 (bolsa) y 2 (botella) se indica el efecto de los tratamientos por APH y el tiempo de conservación sobre la calidad microbiológica de los batidos. Para los batidos envasados en bolsa, se observó una reducción de aerobios mesófilos totales a partir de una presión mínima (300 MPa), observándose diferencias en función de la presión aplicada pero no del tiempo de aplicación de la misma. En el caso de botella, fue necesaria la aplicación de un tratamiento más intenso, máxima presión (600 MPa) y tiempo más prolongado (6 min) para conseguir una reducción significativa de este parámetro, sin detectarse diferencias para el resto de tratamientos aplicados. Por otra parte, el recuento de mohos y levaduras en los batidos también se redujo después de la aplicación de tratamientos APH en ambos formatos (figuras 1 y 2). La aplicación de bajas presiones (300 MPa) fue suficiente para originar una reducción de la carga de mohos y levaduras tanto en el formato botella como en el formato bolsa, independientemente del tiempo de aplicación de la misma. Estos resultados coinciden con Ogawa, et al., (1990) quienes estudiaron el efecto de las altas presiones (100 – 600 MPa) sobre mohos y levaduras inoculados en zumo de mandarina. Por lo que respecta a las bacterias ácido-lácticas, éstas no se vieron afectadas ni por la presión ni por el tiempo de aplicación cuando los batidos fueron envasados en bolsa, pero sí que se observó una reducción significativa del recuento de estas bacterias en después de la aplicación del tratamiento más intenso y más prolongado (600 MPa/6 min) sin observarse diferencias entre el resto de tratamientos. El último de los parámetros microbiológicos estudiados fue el recuento de microorganismos anaerobios. Al contrario que lo que ocurrió con las bacterias ácido-lácticas, no se identificaron cambios en este parámetro después de la aplicación de presión/tiempo a muestras envasadas en botella y sin embargo, el recuento de bacterias anaerobias se redujo significativamente por efecto de la presión, independientemente del tiempo de aplicación. Los microorganismos presentan diferencias respecto a su inactivación por efecto de la presión, generalmente los microorganismos resistentes al calor también resisten por la presión, pero se han encontrado excepciones. En general, los mohos y las levaduras, microorganismos característicos del producto objeto de estudio, son más susceptibles a la presión que las bacterias. Sin embargo, Kaushik, et al., (2014) observaron que los mohos y las levaduras presentaron una gran resistencia a la inactivación por presión después de aplicar tratamientos de APH (100-600 MPa/1-20 min) a una masa formada por pulpa de mango. En este estudio, los investigadores

explicaron que estos resultados se debían a la composición del producto que presentaba un bajo pH y una alta concentración de azúcares. También existen otras publicaciones que soportan la idea de que los productos con alto contenido en azúcar, como es el caso de los batidos para la elaboración de bizcochos, protegen a los mohos y a las levaduras frente al efecto de destrucción por presión. Por lo que se puede concluir, que la barorresistencia de los microorganismos no solo depende del tipo de microorganismo sino también de otros factores externos como el estado o la composición del medio (pH, contenido en azúcar, actividad de agua) así como de las variables del proceso de presurización (presión aplicada, velocidad de compresión/descompresión, tiempo de aplicación y temperatura del medio) (Patterson & Linton, 2008). Si bien, la inactivación de los microorganismos por la presión también puede verse afectada por la flora competidora presente en los mismos. En cuanto a la evolución de la carga microbiana de los batidos en el tiempo, se pudo observar un descenso significativo de los recuentos de aerobios mesófilos totales a los 60 días de almacenamiento en aquellos batidos envasados en bolsa (figura 3), por el contrario no se observaron diferencias en los batidos envasados en botella. En lo que respecta a la evolución de los mohos y levaduras, éstos no experimentan cambios con el tiempo para ninguno de los formatos de envasado. Por último, los recuentos de bacterias ácido-lácticas y anaerobias siguieron una tendencia similar, ambas se redujeron con el paso del tiempo tanto para batidos envasados en bolsa como para batidos envasados en botella. Esta disminución se debe a la inducción mediante las APH de daños subletales en algunos microorganismos, que no son capaces de reparar con el tiempo, provocando su muerte (De Lamo, et al., 2004)

**Tabla 1.** Efecto del tratamiento por altas presiones hidrostáticas y el tiempo de conservación sobre la calidad microbiológica de las masas envasadas en bolsa a vacío.

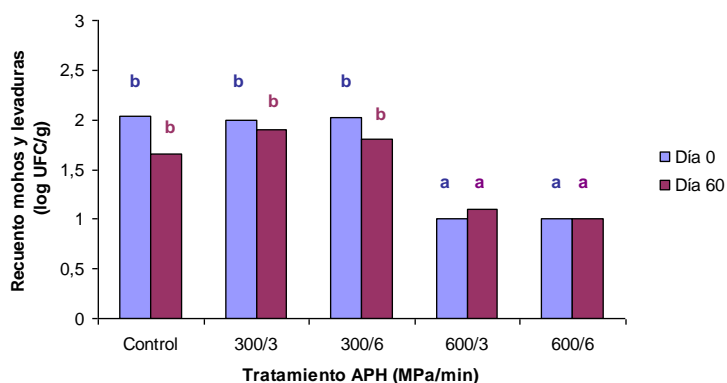
| Factores                      |                | Recuentos microorganismos (log UFC/g) |                    |                          |                    |
|-------------------------------|----------------|---------------------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|
|                               |                | Aerobios mesófilos totales            | Mohos y levaduras  | Bacterias ácido-lácticas | Anaerobios         |
| TRATAMIENTO (MPa/min)         | Error estándar | 0,03                                  | 0,07               | 0,10                     | 0,08               |
|                               | Control        | 5,02 <sup>c</sup>                     | 1,84 <sup>b</sup>  | 1,10 <sup>a</sup>        | 3,06 <sup>c</sup>  |
|                               | 300/3          | 4,90 <sup>b</sup>                     | 1,94 <sup>b</sup>  | 1,09 <sup>a</sup>        | 2,35 <sup>b</sup>  |
|                               | 300/6          | 4,84 <sup>b</sup>                     | 1,92 <sup>b</sup>  | 1,07 <sup>a</sup>        | 2,03 <sup>b</sup>  |
|                               | 600/3          | 4,69 <sup>a</sup>                     | 1,05 <sup>a</sup>  | <1,00 <sup>a</sup>       | 1,88 <sup>a</sup>  |
|                               | 600/6          | 4,64 <sup>a</sup>                     | <1,00 <sup>a</sup> | 1,10 <sup>a</sup>        | <1,00 <sup>a</sup> |
| TIEMPO DE CONSERVACIÓN (días) | Error estándar | 0,02                                  | 0,05               | 0,04                     | 0,06               |
|                               | 0              | 5,15 <sup>b</sup>                     | 1,61 <sup>a</sup>  | 1,16 <sup>b</sup>        | 3,06 <sup>b</sup>  |
|                               | 60             | 4,48 <sup>a</sup>                     | 1,49 <sup>a</sup>  | 1,00 <sup>a</sup>        | <1,00 <sup>a</sup> |

Los valores medios para un mismo factor seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

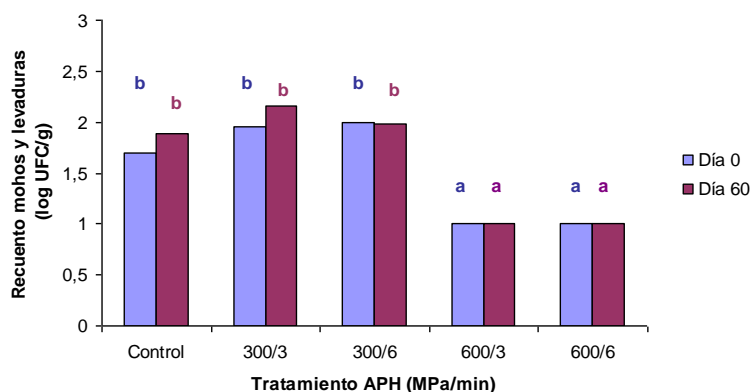
**Tabla 2.** Efecto del tratamiento por altas presiones hidrostáticas y el tiempo de conservación sobre la calidad microbiológica de las masas envasadas en botella

| Factores                      |                | Recuentos microorganismos (log UFC/g) |                    |                          |                   |
|-------------------------------|----------------|---------------------------------------|--------------------|--------------------------|-------------------|
|                               |                | Aerobios mesófilos totales            | Mohos y levaduras  | Bacterias ácido-lácticas | Anaerobios        |
| TRATAMIENTO (MPa/min)         | Error estándar | 0,23                                  | 0,16               | 0,06                     | 0,05              |
|                               | Control        | 4,38 <sup>b</sup>                     | 2,00 <sup>c</sup>  | 2,27 <sup>b</sup>        | 2,14 <sup>a</sup> |
|                               | 300/3          | 4,17 <sup>b</sup>                     | 2,01 <sup>c</sup>  | 2,29 <sup>b</sup>        | 2,31 <sup>a</sup> |
|                               | 300/6          | 4,06 <sup>b</sup>                     | 1,55 <sup>bc</sup> | 2,31 <sup>b</sup>        | 2,26 <sup>a</sup> |
|                               | 600/3          | 4,06 <sup>b</sup>                     | <1,00 <sup>a</sup> | 2,25 <sup>b</sup>        | 2,25 <sup>a</sup> |
|                               | 600/6          | 3,27 <sup>a</sup>                     | 1,19 <sup>ab</sup> | 2,00 <sup>a</sup>        | 2,16 <sup>a</sup> |
| TIEMPO DE CONSERVACIÓN (días) | Error estándar | 0,14                                  | 0,09               | 0,04                     | 0,04              |
|                               | 0              | 4,04 <sup>a</sup>                     | 1,62 <sup>a</sup>  | 2,60 <sup>b</sup>        | 2,59 <sup>b</sup> |
|                               | 60             | 3,94 <sup>a</sup>                     | 1,52 <sup>a</sup>  | 1,85 <sup>a</sup>        | 1,86 <sup>a</sup> |

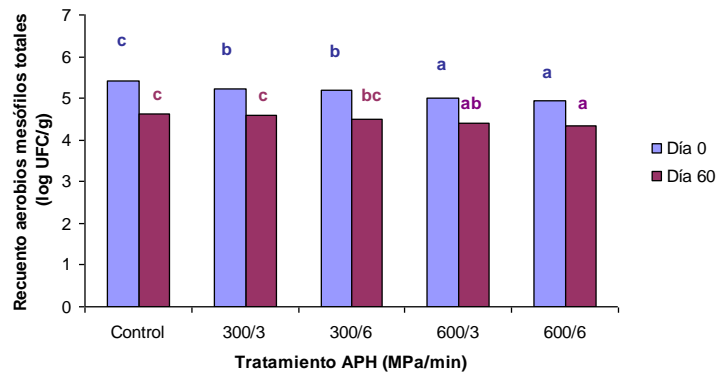
Los valores medios para un mismo factor seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 1.** Efecto de la interacción presión-tiempo de conservación sobre el recuento de mohos y levaduras en masas envasadas en bolsa a vacío. Las barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 2.** Efecto de la interacción presión-tiempo de conservación sobre el recuento de mohos y levaduras en masas envasadas en botella. Las barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 3.** Efecto de la interacción presión-tiempo de conservación sobre los microorganismos aerobios mesófilos totales de las masas envasadas en bolsa a vacío. Las barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### 3.1.2. Densidad

En las tablas 3 y 4 se indica la densidad que presentan los batidos envasados en bolsa y en botella, respectivamente. En ambos formatos de envasado, la aplicación de APH originó un aumento en la densidad de los batidos, sin observarse diferencias en función ni de la presión aplicada ni del tiempo que ésta se mantuvo. No se apreció modificación alguna de la densidad de los batidos con el paso del tiempo de conservación en refrigeración.

El aumento de la densidad de las masas puede deberse a una pérdida del volumen de aire incorporado a la masa durante la etapa de batido, lo cual está relacionado directamente con el volumen final del bizcocho (Campbell, 1999). Handleman, et al., (1961) observaron que aquellas masas que presentaban valores bajos de densidad, y por tanto elevados volúmenes de aire dieron lugar a bizcochos con mayor volumen. Teniendo en cuenta lo anterior y en vista a la reducción de la densidad obtenida en el presente estudio, la aplicación de tratamientos por APH podría dar lugar a bizcochos con un menor volumen final. Sin embargo, hay otros factores que también influyen en el volumen final, tales como la temperatura de gelatinización del almidón y diversos parámetros relacionados con el horneado.



**Tabla 3.** Efecto del tratamiento por altas presiones hidrostáticas y el tiempo de almacenamiento sobre la densidad y la reología de los batidos envasados en bolsa a vacío.

| Factores                            |                | Densidad                          |                     | Reología             |                     |                   |
|-------------------------------------|----------------|-----------------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|-------------------|
|                                     |                | $\varphi$<br>(g/cm <sup>3</sup> ) | $G'$<br>(Pa)        | $G''$<br>(Pa)        | $G^*$<br>(Pa)       | tag $\delta$      |
| TRATAMIENTO<br>(MPa/min)            | Error estándar | 0,02                              | 11,40               | 4,17                 | 12,69               | 0,01              |
|                                     | Control        | 1,06 <sup>a</sup>                 | 153,58 <sup>a</sup> | 95,24 <sup>a</sup>   | 177,31 <sup>a</sup> | 0,60 <sup>c</sup> |
|                                     | 300/3          | 1,13 <sup>b</sup>                 | 159,38 <sup>a</sup> | 105,95 <sup>ab</sup> | 184,79 <sup>a</sup> | 0,61 <sup>c</sup> |
|                                     | 300/6          | 1,15 <sup>b</sup>                 | 148,93 <sup>a</sup> | 112,89 <sup>b</sup>  | 172,75 <sup>a</sup> | 0,61 <sup>c</sup> |
|                                     | 600/3          | 1,12 <sup>b</sup>                 | 225,95 <sup>b</sup> | 145,20 <sup>c</sup>  | 257,53 <sup>b</sup> | 0,55 <sup>b</sup> |
|                                     | 600/6          | 1,16 <sup>b</sup>                 | 261,38 <sup>b</sup> | 162,45 <sup>d</sup>  | 292,11 <sup>b</sup> | 0,51 <sup>a</sup> |
| TIEMPO DE<br>CONSERVACIÓN<br>(días) | Error estándar | 0,01                              | 7,21                | 2,64                 | 8,03                | 0,00              |
|                                     | 0              | 1,11 <sup>a</sup>                 | 194,80 <sup>a</sup> | 112,52 <sup>a</sup>  | 225,09 <sup>a</sup> | 0,50 <sup>b</sup> |
|                                     | 60             | 1,14 <sup>a</sup>                 | 185,28 <sup>a</sup> | 137,01 <sup>b</sup>  | 208,70 <sup>a</sup> | 0,55 <sup>a</sup> |

Los valores medios para un mismo factor seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.** Efecto del tratamiento por altas presiones hidrostáticas y el tiempo de almacenamiento sobre la densidad y la reología de los batidos envasados en botella

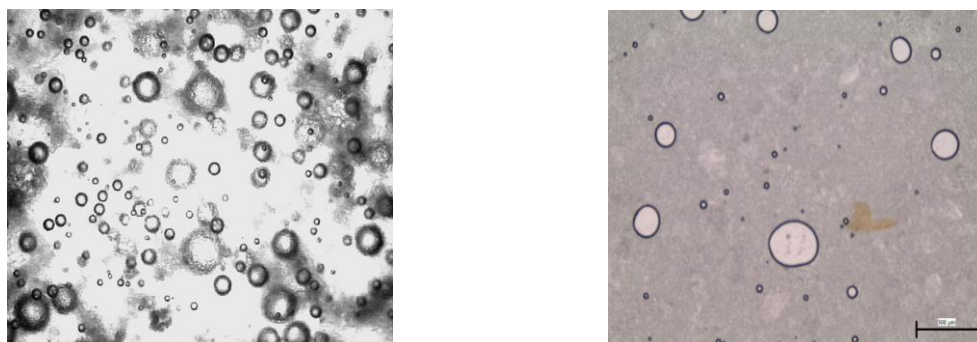
| Factores                            |                | Densidad                          |                     | Reología            |                     |                   |
|-------------------------------------|----------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------|
|                                     |                | $\varphi$<br>(g/cm <sup>3</sup> ) | $G'$<br>(Pa)        | $G''$<br>(Pa)       | $G^*$<br>(Pa)       | tag $\delta$      |
| TRATAMIENTO<br>(MPa/min)            | Error estándar | 0,01                              | 8,40                | 3,79                | 9,10                | 0,01              |
|                                     | Control        | 1,03 <sup>a</sup>                 | 134,80 <sup>a</sup> | 85,75 <sup>a</sup>  | 159,80 <sup>a</sup> | 0,66 <sup>c</sup> |
|                                     | 300/3          | 1,09 <sup>b</sup>                 | 164,48 <sup>b</sup> | 99,48 <sup>b</sup>  | 192,24 <sup>b</sup> | 0,63 <sup>b</sup> |
|                                     | 300/6          | 1,14 <sup>b</sup>                 | 186,60 <sup>b</sup> | 112,58 <sup>c</sup> | 217,91 <sup>b</sup> | 0,63 <sup>b</sup> |
|                                     | 600/3          | 1,15 <sup>b</sup>                 | 344,43 <sup>c</sup> | 173,10 <sup>d</sup> | 385,87 <sup>c</sup> | 0,53 <sup>a</sup> |
|                                     | 600/6          | 1,12 <sup>b</sup>                 | 335,75 <sup>c</sup> | 167,33 <sup>d</sup> | 375,12 <sup>c</sup> | 0,51 <sup>a</sup> |
| TIEMPO DE<br>CONSERVACIÓN<br>(días) | Error estándar | 0,02                              | 5,31                | 2,40                | 5,76                | 0,00              |
|                                     | 0              | 1,10 <sup>a</sup>                 | 235,72 <sup>a</sup> | 137,01 <sup>b</sup> | 272,82 <sup>a</sup> | 0,62 <sup>b</sup> |
|                                     | 60             | 1,11 <sup>a</sup>                 | 231,10 <sup>a</sup> | 118,26 <sup>a</sup> | 259,95 <sup>a</sup> | 0,56 <sup>a</sup> |

Los valores medios para un mismo factor seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### 3.1.3. Microscopia

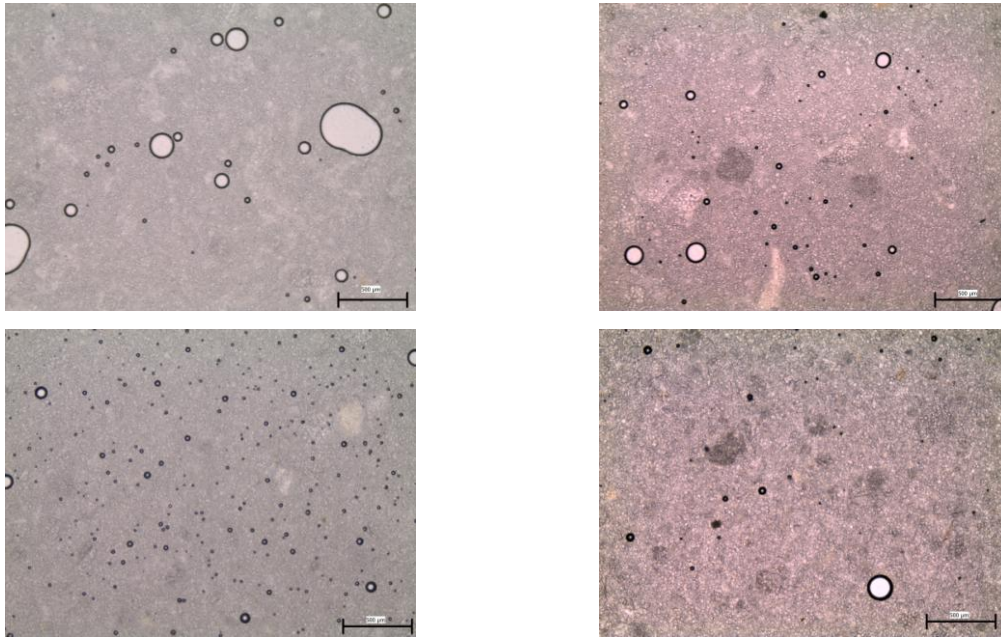
En el caso de los productos aireados, entre los que se incluyen las masas batidas para bizcochos, no es únicamente importante la cantidad de aire de la masa, sino también sus características, el tamaño, la distribución y la estabilidad de las burbujas (Campbell, 1999). Gómez, et al, (2011) observaron que los mejores resultados se obtenían a partir de masas con burbujas finas y con una distribución homogénea. En el

presente estudio, las imágenes obtenidas al microscopio (figura 4) muestran que incluso las masas sin tratar por APH presentaron pocas burbujas si se comparan con las imágenes que Gómez, et al., (2011) obtuvieron para la misma formulación.



**Figura 4.** Estructura interna de un batido para la elaboración de un bizcocho tipo *layer*. (izquierda). Imagen obtenida por Gómez, et al., (2011), (derecha) Imagen obtenida en el presente estudio a las 4 horas. Aumento 40 x .

Esta reducción significativa del número de burbujas de las masas puede deberse al hecho de que en el presente estudio, las imágenes de las muestras fueron tomadas al cabo de 4 horas desde el momento su preparación, tiempo suficiente para que las burbujas incorporadas a la masa durante el proceso de batido se hayan ido a la superficie y se hayan perdido. Las imágenes que aparecen en el artículo al que se hace referencia (figura 4) se tomaron inmediatamente después de la preparación del batido. Tanto para el formato bolsa como para el formato botella, se puede observar que aquellos batidos a los que se les ha aplicado un tratamiento APH presentan burbujas de menor tamaño que aquellos que no han sido tratados. Se observó que para el formato botella, el batido que presentó un mayor número de pequeñas burbujas fue el sometido a la presión más alta (600 MPa) durante el tiempo más largo (6 min). Mientras que en el caso de la bolsa, este efecto se consiguió a la misma presión pero a un menor tiempo (3 min), ya que para este formato la aplicación de presiones máximas durante tiempos más prolongados dio lugar a la pérdida de prácticamente la totalidad del aire del batido. Si bien, las pequeñas burbujas formadas por efecto del tratamiento no son estables ya que desaparecieron durante el tiempo que el producto estuvo en conservación (60 días), según podemos observar en la figura 5. Las imágenes obtenidas para todos los batidos se pueden observar en el Anexo I del presente estudio. Las propiedades microscópicas de las masas van a influir en su reología y en la textura del producto obtenido.



**Figura 5.** Estructura interna de un batido para la elaboración de un bizcocho tipo *layer* envasado en bolsa. (superior izquierda). Control sin tratar –en el tiempo 0, (superior derecha) Control sin tratar – a los 60 días de conservación, (inferior izquierda) Muestra tratada 600 MPa/3 min – en el tiempo 0, (inferior derecha) Muestra tratada 600 MPa/3 min – a los 60 días de conservación. Aumento 40 x.

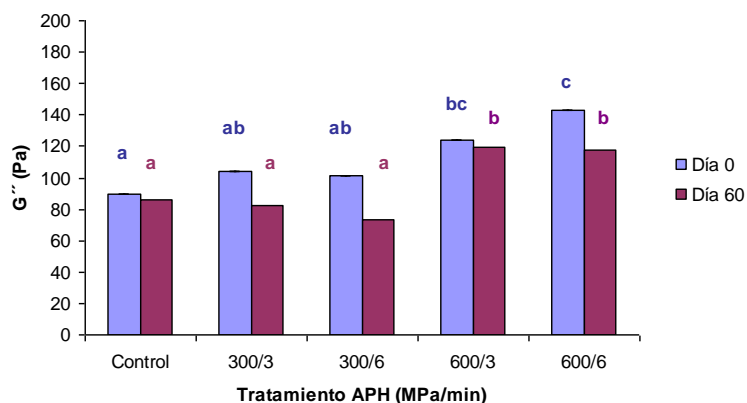
#### 3.1.4. Propiedades reológicas

Los parámetros utilizados para determinar el efecto de los tratamientos APH sobre la reología de las masas envasadas en bolsa y en botella, a lo largo de su conservación, se indican en las tablas 3 y 4, respectivamente. Para ambos formatos de envasado, se observó un aumento de los valores de  $G'$  (componente elástica),  $G''$  (componente viscoso) y  $G^*$  y una disminución de  $\tan \delta$  (función de pérdidas) después de la aplicación de los tratamientos APH. Por tanto, el tratamiento induce a que las masas se convierten en más consistentes y elásticas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Hütter, et al., (2009) quienes estudiaron el efecto de la aplicación de presiones entre 200 y 300 MPa sobre las propiedades viscoelásticas de masas de avena, observando un aumento de los valores de ambas componentes.

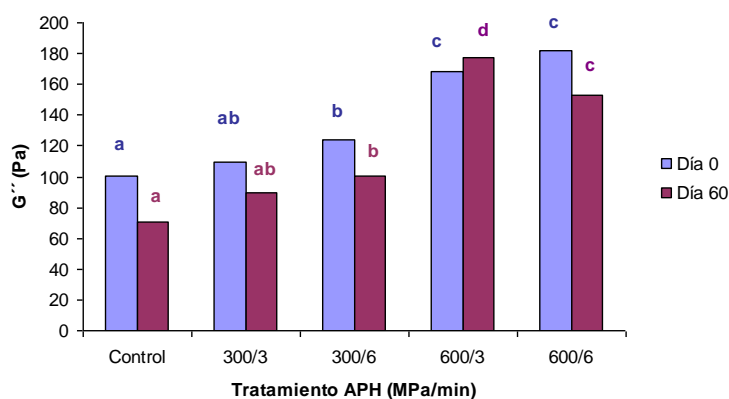
El parámetro  $G'$  de los batidos envasados en bolsa presentó cambios significativos después de tratamientos de 600 MPa, independientemente del tiempo de aplicación, mientras que la aplicación de presiones y tiempos más bajos (300 MPa, 3 min) fueron suficientes para modificar este parámetro en batidos en botella. El parámetro  $G^*$  siguió la misma tendencia que  $G'$  en ambos formatos. Por lo que respecta a  $G''$ , éste fue aumentando a medida que aumentó la presión y el tiempo de aplicación, tanto para los batidos en bolsa como para los batidos en botella. Al contrario de lo que ocurrió con los valores de  $\tan \delta$ , que disminuyeron después de la aplicación de presión para

ambos formatos. En el caso del formato botella, 300 MPa fueron suficientes para modificar este parámetro, independientemente del tiempo de aplicación, mientras que en el caso de bolsa se necesitó un tratamiento 600 MPa/3 min para observar diferencias significativas.

En cuanto a la evolución de los parámetros reológicos durante el tiempo de almacenamiento de los batidos, se determinó que  $G'$  y  $G^*$  no presentan cambios significativos al día 60 de conservación. Por el contrario  $\delta$  disminuyó con el paso del tiempo para ambos formatos y  $G''$  aumentó con el tiempo para las bolsas (figura 6) y disminuyó en el caso de botellas (figura 7).



**Figura 6.** Efecto de la interacción presión-tiempo de conservación sobre  $G''$  de los batidos envasados en bolsa a vacío. Las barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 7.** Efecto de la interacción presión-tiempo de conservación sobre  $G''$  de los batidos envasados en botella. Las barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

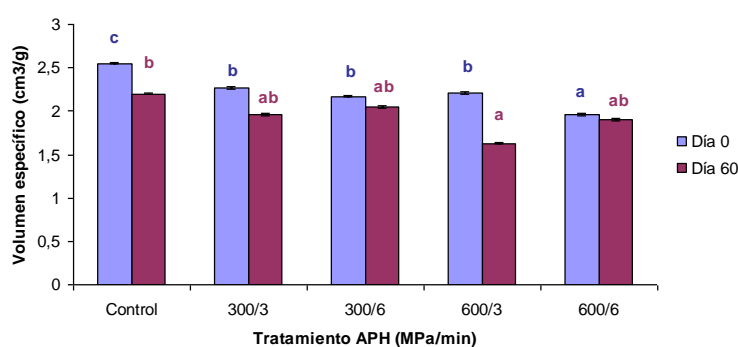
Estos cambios en la reología pueden estar relacionados con los cambios producidos en aquellos componentes de los batidos con una función estructural, principalmente el almidón de la harina y la proteína del huevo. Estudios previos han determinado que el procesado de los alimentos por APH puede inducir la gelatinización del almidón, presentando éste características diferentes al de los almidones gelatinizados mediante tratamientos hidrotérmicos (Gomes, et al., 1998). Las APH provocan un aumento de tamaño de los gránulos de almidón conservando éstos su integridad, lo que implica una modificación de su microestructura y propiedades reológicas de diferente forma a aquellos tratados térmicamente (Gomes, et al., 1998; Stolt, et al., 2000). Hütter, et al (2009) observaron que la aplicación de APH a masas de avena originaba la pre-gelatinización del almidón lo cual daba lugar a un aumento de la elasticidad de la masa y de su capacidad de retención de aire, mejorando la textura y el volumen del producto final. Aunque no exista mucha información sobre los fenómenos de gelatinización del almidón por efecto de la presión, una explicación podría ser que la amilosa estabiliza la estructura de los gránulos de almidón. Según Stolt & Autio, (1999) aquellos gránulos con un menor contenido en amilasa tienden a desintegrarse por efecto de la presión, sin embargo, los gránulos de almidón con un mayores contenidos en amilasa se hinchan por acción de la presión pero no se desintegran. El grado de hinchazón depende del tipo de almidón, del nivel de presión y del tiempo que dure el tratamiento (Stolt et al, 2000, Stute et al., 1996). Al mismo tiempo, se han llevado a cabo investigaciones que muestran el efecto que los tratamientos por APH producen sobre las propiedades del huevo líquido entero. Ahmed, et al., (2003) se centraron en las propiedades reológicas y determinaron que las muestras de huevo entero se comportaban como un fluido tixotrópico. La ruptura de la estructura de la proteína del huevo se veía potenciada por la presión, produciéndose una completa desnaturalización de ésta con tratamientos de 300 MPa durante 30 minutos. Patrignani, et al., (2013) observaron que tratamientos de 150 MPa eran suficientes para modificar la estructura del huevo entero líquido, debilitando las redes de lipoproteínas que la constituyen y provocando una disgregación de los gránulos de proteínas. Estas reacciones producen un incremento de la capacidad espumante y de la estabilidad de las muestras tratadas.

## 3.2. Características de los bizcochos

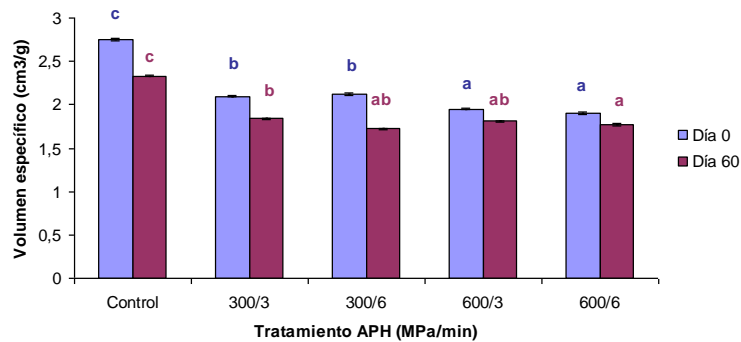
### 3.2.1. Volumen específico y pérdida de peso

En bolsa (figura 8), todos los tratamientos aplicados redujeron el volumen específico de los bizcochos, siendo esta reducción mayor a los 600MPa durante 6 minutos, sin que se encuentren diferencias significativas entre el resto de los tratamientos. En los batidos envasados en botella (figura 9) también se observó una reducción del volumen específico, existiendo en este caso diferencias entre función de la presión pero no en función del tiempo. Con el tiempo de conservación se produce una pérdida adicional del volumen específico tanto de los bizcochos elaborados a partir de batido en bolsa como de los de botella. Si bien en el caso de los bizcochos obtenidos a partir de masas en bolsa se minimiza la pérdida de volumen y solo es apreciable en batidos sometidos a la máxima presión y el mínimo tiempo.

Se sabe que el volumen específico de los bizcochos depende de la incorporación de aire durante el amasado y su retención durante el horneado, dependiendo esta última de la viscosidad de las masas y la distribución de las burbujas en el batido (Stauffer, 1990). En la figura 5 se pudo observar que los batidos a los que se les aplicó presión presentaron un menor volumen de aire retenido y éste estaba presente en forma de pequeñas burbujas distribuidas de forma heterogénea por la masa. Por otra parte, se puede indicar que el volumen específico de los bizcochos también está relacionado con la densidad de los bizcochos. En el presente estudio se observó que la aplicación de APH a los batidos originó una disminución de la densidad de estos y por tanto una disminución del volumen específico de los bizcochos obtenidos. Ngo & Taranto (1986) observaron que las altas temperaturas de gelatinización del almidón daban lugar a bizcochos de gran volumen. Si bien, estudios previos han determinado que los tratamientos APH reducen la temperatura de gelatinización del almidón, reducirán por tanto el volumen de los bizcochos obtenidos.

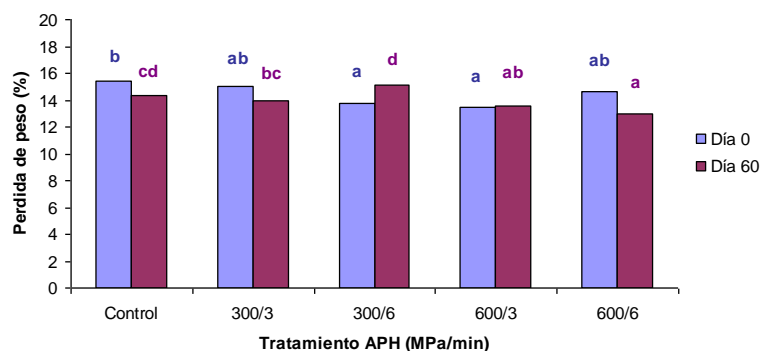


**Figura 8.** Efecto de los tratamientos APH y el tiempo de conservación sobre el volumen específico de los bizcochos obtenidos a partir de batidos envasados en bolsa a vacío. Las barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



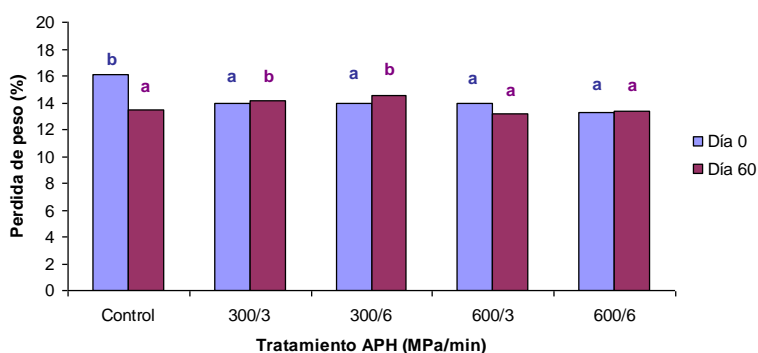
**Figura 9.** Efecto de los tratamientos APH y el tiempo de conservación sobre el volumen específico de los bizcochos obtenidos a partir de batidos envasados en botella. Las barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La aplicación de tratamientos por APH en los batidos originó una disminución de la pérdida de peso del bizcocho, tanto para las muestras envasadas en bolsa a vacío (**figura 10**) como para muestras envasadas en botella (**figura 11**). Se observó que en el caso de los batidos en bolsa, sólo presentaron diferencias significativas con el control los batidos tratados a 300MPa/6min y a 600MPa/3 min. Mientras que en el caso de las botellas todos los tratamientos provocaron una reducción del peso de los bizcochos al día 0, sin observarse diferencias significativas entre éstos. En el caso del día 60 de conservación, los bizcochos elaborados a partir de batidos tratados con 300 MPa fueron los que presentaron una mayor pérdida de peso, sin observar diferencias entre el tiempo de aplicación. Esta pérdida de peso durante el horneado se debe a la evaporación del agua del batido que depende del volumen específico del bizcocho. Cuanto mayor volumen específico presente el bizcocho, mayor superficie disponible para la evaporación y por lo tanto una mayor pérdida de peso del producto final. Se ha cumplido esta teoría en los resultados obtenidos en el presente estudio, puesto que la aplicación de APH ha dado lugar a menores volúmenes específicos y por tanto menores porcentajes de pérdidas de peso de los bizcochos.



**Figura 10.** Efecto de los tratamientos APH sobre el peso (% pérdida de peso) de los bizcochos obtenidos a partir de batidos envasados en bolsa a vacío. Las barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Sin embargo, aquellos batidos envasados en botella dieron lugar a bizcochos cuyos valores de pérdida de peso no mostraron diferencias significativas con el paso del tiempo (figura 11).



**Figura 11.** Efecto de los tratamientos APH sobre el peso (% pérdida de peso) de los bizcochos obtenidos a partir de batidos envasados en botella. Las barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### 3.2.2. Textura

En las tabla 5 y 6 se indica el efecto de los tratamientos por APH en la textura de bizcochos elaborados con masas que han sido envasadas en bolsas a vacío (tabla 5) y en botella (tabla 6).

**Tabla 5.** Efecto del tratamiento por altas presiones hidrostáticas y el tiempo de almacenamiento sobre la textura de los bizcochos cuyas masas fueron envasadas en bolsa.

| Factores                      | Textura        |                    |                    |                    |                    |                   |
|-------------------------------|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
|                               | Dureza (N)     | Elasticidad        | Cohesividad        | Masticabilidad (N) | Resiliencia        |                   |
| TRATAMIENTO (MPa/min)         | Error estándar | 0,60               | 0,00               | 0,01               | 0,38               | 0,01              |
|                               | Control        | 7,70 <sup>a</sup>  | 0,91 <sup>c</sup>  | 0,52 <sup>ab</sup> | 3,88 <sup>a</sup>  | 0,19 <sup>a</sup> |
|                               | 300/3          | 8,93 <sup>ab</sup> | 0,91 <sup>c</sup>  | 0,51 <sup>a</sup>  | 4,51 <sup>ab</sup> | 0,19 <sup>a</sup> |
|                               | 300/6          | 8,06 <sup>ab</sup> | 0,90 <sup>bc</sup> | 0,53 <sup>ab</sup> | 4,21 <sup>a</sup>  | 0,20 <sup>a</sup> |
|                               | 600/3          | 10,93 <sup>c</sup> | 0,89 <sup>b</sup>  | 0,54 <sup>b</sup>  | 5,60 <sup>b</sup>  | 0,19 <sup>a</sup> |
|                               | 600/6          | 9,75 <sup>bc</sup> | 0,87 <sup>a</sup>  | 0,52 <sup>ab</sup> | 4,96 <sup>ab</sup> | 0,18 <sup>a</sup> |
| TIEMPO DE CONSERVACIÓN (días) | Error estándar | 0,38               | 0,00               | 0,01               | 0,24               | 0,00              |
|                               | 0              | 9,16 <sup>a</sup>  | 0,93 <sup>b</sup>  | 0,53 <sup>b</sup>  | 4,64 <sup>a</sup>  | 0,21 <sup>b</sup> |
|                               | 60             | 8,98 <sup>a</sup>  | 0,85 <sup>a</sup>  | 0,51 <sup>a</sup>  | 4,62 <sup>a</sup>  | 0,17 <sup>a</sup> |

Los valores medios para un mismo factor seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Tabla 6.** Efecto del tratamiento por altas presiones hidrostáticas y el tiempo de almacenamiento sobre la textura de las masas envasadas en botella.

| Factores                            | Textura        |                    |                    |                       |                   |                    |
|-------------------------------------|----------------|--------------------|--------------------|-----------------------|-------------------|--------------------|
|                                     | Dureza<br>(N)  | Elasticidad        | Cohesividad        | Masticabilidad<br>(N) | Resiliencia       |                    |
| TRATAMIENTO<br>(MPa/min)            | Error estándar | 0,40               | 0,01               | 0,01                  | 0,27              | 0,01               |
|                                     | Control        | 6,90 <sup>a</sup>  | 0,92 <sup>b</sup>  | 0,58 <sup>b</sup>     | 3,86 <sup>a</sup> | 0,25 <sup>ab</sup> |
|                                     | 300/3          | 10,88 <sup>b</sup> | 0,90 <sup>ab</sup> | 0,53 <sup>a</sup>     | 5,14 <sup>b</sup> | 0,22 <sup>a</sup>  |
|                                     | 300/6          | 9,90 <sup>b</sup>  | 0,89 <sup>ab</sup> | 0,54 <sup>a</sup>     | 4,77 <sup>b</sup> | 0,23 <sup>a</sup>  |
|                                     | 600/3          | 10,50 <sup>b</sup> | 0,87 <sup>a</sup>  | 0,54 <sup>a</sup>     | 4,99 <sup>b</sup> | 0,24 <sup>ab</sup> |
|                                     | 600/6          | 9,76 <sup>b</sup>  | 0,87 <sup>a</sup>  | 0,58 <sup>b</sup>     | 4,88 <sup>b</sup> | 0,26 <sup>b</sup>  |
| TIEMPO DE<br>CONSERVACIÓN<br>(días) | Error estándar | 0,25               | 0,01               | 0,01                  | 0,17              | 0,01               |
|                                     | 0              | 9,22 <sup>a</sup>  | 0,92 <sup>b</sup>  | 0,54 <sup>a</sup>     | 4,58 <sup>a</sup> | 0,24 <sup>a</sup>  |
|                                     | 60             | 9,96 <sup>a</sup>  | 0,86 <sup>a</sup>  | 0,56 <sup>b</sup>     | 4,84 <sup>a</sup> | 0,24 <sup>a</sup>  |

Los valores medios para un mismo factor seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Los bizcochos elaborados a partir de batidos envasados en bolsa presentaron valores de dureza y masticabilidad más elevados después de aplicar presión, siendo estos parámetros más elevados para tratamientos de 600 MPa/3min. Por el contrario, la aplicación de APH originó un descenso de la elasticidad, a mayores presiones y tiempos de aplicación menores valores de elasticidad. La cohesividad no presentó una tendencia clara y por su parte, la resiliencia no presentó diferencias significativas. Los parámetros de textura de los bizcochos elaborados a partir de batidos en botella siguieron una tendencia similar a los anteriores. Por su parte, Bárcenas, et al., (2010) después de aplicar presiones de entre 50 y 250 MPa a masas elaboradas con harina de trigo, observaron que la cohesividad de éstas no se veía afectada por el tratamiento.

En cuanto a la evolución de las características de textura, se pudo observar que la dureza y la masticabilidad no presentaron diferencias significativas con el paso del tiempo para ambos formatos. Por el contrario, la elasticidad disminuyó tanto para el formato bolsa como para el formato botella, presentando los menores valores de este parámetro a los 60 días de conservación.

Los parámetros de textura de los bizcochos están directamente relacionados con el volumen específico de estos. Gómez, et al., (2010) determinaron una correlación directa entre el volumen de los bizcochos y su firmeza. Así mismo, estas variables

están directamente relacionadas con la cantidad de aire retenida en el batido. En el presente estudio, tal y como se observó en la figura 8, la aplicación de presiones de 300 MPa/3 min a los batidos produjo una reducción del volumen específico de los bizcochos. Por otra parte, también se observó mediante las imágenes de los batidos al microscopio, una importante reducción de la cantidad de aire de aquellas muestras que habían sido sometidas a presión. Por lo que se puede indicar que la aplicación de los tratamientos con presión origina una disminución del volumen así como un aumento de la dureza de los bizcochos. En general los fenómenos de endurecimiento de los bizcochos se atribuyen a la deshidratación de la miga (Willhoft, 1974) y a la retrogradación del almidón (Gujral, et et., 2003). Se ha observado que la aplicación de presión reduce la temperatura de gelatinización del almidón y por tanto un menor hinchamiento de los gránulos.

### 3.2.3. Parámetros colorimétricos

En las tablas 7 y 8 se indica el efecto que los tratamientos por presión y el tiempo de almacenamiento de los batidos ejercen sobre cada uno de los parámetros cromáticos de la miga y de la corteza de los bizcochos.

**Tabla 7.** Efecto del tratamiento por altas presiones hidrostáticas y el tiempo de almacenamiento de las masas envasadas en bolsa sobre el color de los bizcocho

| Factor                              | Color de la corteza |                    |                     | Color de la miga   |                    |                   |                     |
|-------------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-------------------|---------------------|
|                                     | L*                  | a*                 | b*                  | L*                 | a*                 | b*                |                     |
| TRATAMIENTO<br>(MPa/min)            | Error estándar      | 0,16               | 0,45                | 0,79               | 0,94               | 0,11              | 0,28                |
|                                     | <b>Control</b>      | 44,75 <sup>b</sup> | 15,11 <sup>ab</sup> | 15,20 <sup>b</sup> | 67,37 <sup>a</sup> | 2,48 <sup>a</sup> | 17,71 <sup>d</sup>  |
|                                     | <b>300/3</b>        | 44,33 <sup>b</sup> | 14,84 <sup>ab</sup> | 11,38 <sup>a</sup> | 66,22 <sup>a</sup> | 2,48 <sup>a</sup> | 14,80 <sup>a</sup>  |
|                                     | <b>300/6</b>        | 46,25 <sup>d</sup> | 13,77 <sup>a</sup>  | 9,53 <sup>a</sup>  | 67,76 <sup>a</sup> | 2,52 <sup>a</sup> | 16,30 <sup>bc</sup> |
|                                     | <b>600/3</b>        | 42,09 <sup>a</sup> | 16,02 <sup>b</sup>  | 10,40 <sup>a</sup> | 66,44 <sup>a</sup> | 2,70 <sup>a</sup> | 15,63 <sup>ab</sup> |
|                                     | <b>600/6</b>        | 45,59 <sup>c</sup> | 14,94 <sup>ab</sup> | 9,67 <sup>a</sup>  | 65,01 <sup>a</sup> | 2,39 <sup>a</sup> | 16,77 <sup>c</sup>  |
| TIEMPO DE<br>CONSERVACIÓN<br>(días) | Error estándar      | 0,10               | 0,28                | 0,51               | 0,60               | 0,07              | 0,17                |
|                                     | <b>0</b>            | 47,27 <sup>b</sup> | 15,33 <sup>a</sup>  | 15,71 <sup>b</sup> | 66,08 <sup>a</sup> | 2,04 <sup>a</sup> | 16,48 <sup>a</sup>  |
|                                     | <b>60</b>           | 41,93 <sup>a</sup> | 14,54 <sup>a</sup>  | 6,75 <sup>a</sup>  | 66,14 <sup>a</sup> | 3,03 <sup>b</sup> | 16,00 <sup>a</sup>  |

Los valores medios para un mismo factor seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

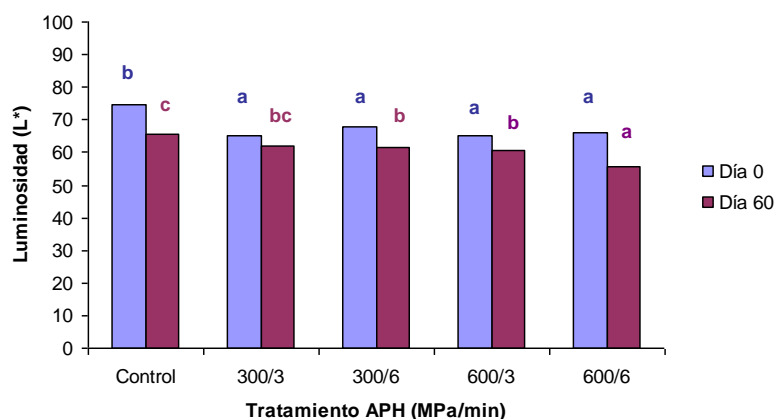
**Tabla 8.** Efecto del tratamiento por altas presiones hidrostáticas y el tiempo de almacenamiento de las masas envasadas en botella sobre el color de los bizcochos

| Factor                              | Color de la corteza |                     |                    | Color de la miga    |                     |                   |                    |
|-------------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|-------------------|--------------------|
|                                     | L*                  | a*                  | b*                 | L*                  | a*                  | b*                |                    |
| TRATAMIENTO<br>(MPa/min)            | Error estándar      | 0,66                | 0,55               | 0,98                | 0,96                | 0,39              | 0,78               |
|                                     | <b>Control</b>      | 43,18 <sup>b</sup>  | 14,44 <sup>a</sup> | 9,17 <sup>ab</sup>  | 70,19 <sup>c</sup>  | 2,27 <sup>a</sup> | 17,81 <sup>a</sup> |
|                                     | <b>300/3</b>        | 41,29 <sup>ab</sup> | 14,02 <sup>a</sup> | 8,22 <sup>a</sup>   | 63,67 <sup>ab</sup> | 3,06 <sup>a</sup> | 16,08 <sup>a</sup> |
|                                     | <b>300/6</b>        | 39,97 <sup>a</sup>  | 13,35 <sup>a</sup> | 8,96 <sup>ab</sup>  | 64,73 <sup>b</sup>  | 2,48 <sup>a</sup> | 18,45 <sup>a</sup> |
|                                     | <b>600/3</b>        | 43,04 <sup>b</sup>  | 14,90 <sup>a</sup> | 13,25 <sup>c</sup>  | 62,79 <sup>ab</sup> | 3,40 <sup>a</sup> | 16,36 <sup>a</sup> |
|                                     | <b>600/6</b>        | 43,39 <sup>b</sup>  | 14,32 <sup>a</sup> | 11,94 <sup>bc</sup> | 60,93 <sup>a</sup>  | 2,74 <sup>a</sup> | 16,05 <sup>a</sup> |
| TIEMPO DE<br>CONSERVACIÓN<br>(días) | Error estándar      | 0,42                | 0,35               | 0,62                | 0,61                | 0,24              | 0,17               |
|                                     | <b>0</b>            | 42,39 <sup>a</sup>  | 15,72 <sup>b</sup> | 13,59 <sup>b</sup>  | 67,82 <sup>b</sup>  | 2,23 <sup>a</sup> | 17,13 <sup>a</sup> |
|                                     | <b>60</b>           | 41,96 <sup>a</sup>  | 12,70 <sup>a</sup> | 7,02 <sup>a</sup>   | 61,11 <sup>a</sup>  | 3,34 <sup>b</sup> | 16,77 <sup>a</sup> |

Los valores medios para un mismo factor seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La luminosidad ( $L^*$ ) o brillo del color, es el parámetro por el cual se diferencian los colores claros ( $L=100$ , color blanco) de los oscuros ( $L=0$ , color negro). No se observó una tendencia clara en cuanto a la luminosidad de la corteza de los bizcochos después de la aplicación de presión sobre los batidos. En el caso de los batidos envasados en bolsa, presiones de 300 MPa originaron un aumento de la luminosidad de la corteza de los bizcochos, mientras que presiones superiores, 600 MPa, originaron un descenso de este parámetro. Obteniendo resultados opuestos para los batidos envasados en botella. El color de la corteza, debido a las altas temperaturas que alcanza la superficie del bizcocho en el interior del horno, depende principalmente de la caramelización y de las reacciones de Maillard. Por lo que se puede observar en la figura 12, la aplicación a los batidos de presiones de 300 MPa durante 6 minutos inhiben parcialmente las reacciones de caramelización de los azúcares de la superficie de los bizcochos de acuerdo con lo obtenido por Sangronis, et al., (1997). Sin embargo, este efecto no se mantiene en el tiempo, ya que se observó una disminución del parámetro  $L^*$  y por tanto, un oscurecimiento de la corteza de los bizcochos en el día 60, para ambos formatos. Por lo que respecta a la miga, la temperatura que alcanza no es lo suficientemente alta como para producir reacciones de coloración, por lo que, el color de la miga depende fundamentalmente del color de los ingredientes añadidos (Ronda et al., 2009). En el presente estudio se ha observado que la aplicación de tratamientos por APH (300 -600 MPa) a los batidos en botella, originó una reducción significativa de  $L^*$  de la miga de los bizcochos, sin existir diferencias entre los tratamientos, disminuyendo durante el periodo de conservación del batido.

Sin embargo, en el formato bolsa no se observaron diferencias significativas entre el control y las muestras tratadas, para este parámetro.



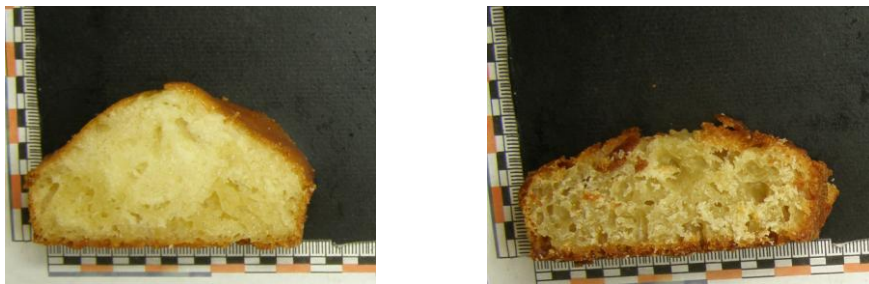
**Figura 12.** Efecto del tratamiento APH y el tiempo de conservación de masas envasadas en botella sobre la luminosidad de la miga de los bizcochos. Las barras del mismo color con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La variable  $a^*$  informa de la cromaticidad o tonalidad, midiendo la diferencia entre la luz reflejada por la muestra en la zona de rojo a verde. Sus valores están comprendidos entre -60 (verde) y + 60 (rojo). No se aprecie influencia de los tratamientos por APH de las masas sobre el parámetro  $a^*$  de los bizcochos, ni la miga ni la corteza, para ninguno de los formatos. Sin embargo, si que se aprecia una influencia del tiempo de conservación de la masa, ya que los mayores valores de  $a^*$  de la miga, que dan cuenta de la mayor tonalidad rojiza, aparecen después de 60 días conservación en refrigeración. La variable  $b^*$  mide la diferencia entre la luz reflejada por la muestra en la zona de amarillo y azul. Sus valores están comprendidos entre -60 (azul) y + 60 (amarillo). La presión disminuye significativamente los valores de  $b^*$  de la corteza y de la miga de los bizcochos elaborados a partir de masas envasadas en bolsa a vacío, teniendo éstos una menor pigmentación amarilla independientemente del tratamiento aplicado. Sin embargo, no ejerce un efecto significativo sobre los parámetros  $b^*$  de la corteza y  $b^*$  de la miga de los bizcochos obtenidos a partir de muestras envasadas en botella. Mientras que el parámetro  $b^*$  de la miga no se ve afectado por el tiempo de conservación del batido, el parámetro  $b^*$  de la corteza disminuye significativamente, para ambos formatos de envasado.

#### 3.2.4. Análisis sensorial

Los bizcochos obtenidos a partir de batidos envasados y presurizados en bolsa presentaron características similares a aquellos envasados en botella. En lo referente al aspecto exterior de los bizcochos, los catadores apreciaron un menor volumen y un

color más oscuro después de la aplicación de los tratamientos por APH. Estos efectos se hicieron aún más pronunciados con el tiempo de conservación de las masas en refrigeración. Aquellos bizcochos obtenidos con batidos que habían sido conservados 60 días en refrigeración presentaban burbujas de gran tamaño en la corteza, aportándole a ésta un aspecto quebradizo. En cuanto al interior de los bizcochos, se apreciaron diferencias entre las muestras tratadas y las muestras sin tratar. Los bizcochos obtenidos a partir de las masas tratadas por APH presentaron un menor alveolado, huecos de gran tamaño en forma de surco así como un aspecto más compacto y menos esponjoso. Se apreció que la miga de estos bizcochos tenía un color vítreo y traslúcido que podría estar causado por la cristalización de los azúcares (**figura 13**) y (Anexo II y III). La formación de una estructura densa en la parte más interna del bizcocho pudo evitar la penetración del calor hacia el interior del mismo, evitando que se desarrollaran la textura y la coloración características de estos productos. Posteriormente, se realizó el análisis olfato-gustativo, en el que se apreció un sabor ligeramente más dulce así como una textura más firme y menos esponjosa por efecto del tratamiento APH.



**Figura 12.** Estructura interna de un bizcocho elaborado a partir de un batido envasado en botella y sometido a un tratamiento APH (600 MPa/6 min). (Izquierda) día de preparación de la masa, (derecha) a los 60 días de conservación del batido en refrigeración

#### 4. CONCLUSIONES

Los tratamientos por APH aplicados permiten reducir la carga microbiana de los batidos pero producen cambios en su microestructura y sus características reológicas, de tal forma que los bizcochos obtenidos no presentan las cualidades sensoriales deseadas. Estos cambios son producidos independientemente del formato de envase seleccionado (a vacío o sin vacío) y se hacen más pronunciados durante el periodo de conservación de los batidos en refrigeración. Se deberán estudiar nuevas formulaciones para conseguir batidos más estables en el tiempo. Entre los posibles aditivos, cabría destacar el empleo de algún emulgente que estabilice la dispersión de las burbujas así como un hidrocoloide o espesante (carragenato, goma guar o goma xantana) que mejore la viscosidad de las masas y por tanto el volumen y textura de los bizcochos.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, J., & Ramaswamy, H.S. (2003). Effect of High-Hydrostatic Pressure and Temperature on Rheological Characteristics of Glycomacropeptide. *Journal of Dairy Science*, 86, 1535-1540.
- 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.
- Aymerich, T., Picouet, P.A., & Monfort, J.M. (2008). Descontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78, 114-129.
- Baeva, M., & Panchev, I. (2005). Investigation of the retaining effect of pectin containing edible film upon the crumb ageing of dietetic sucrose-free sponge cake. *Food Chemistry*, 92(2), 343-348.
- Bárcenas, M.E., Altamirano-Fortoul, R., Rosell, C.M. (2010). Effect of high pressure processing on wheat dough and bread characteristics. *Food Science and Technology*, 43, 12-19.
- Bearth, A., Cousin, M.A., & Siegrist, M. (2014). The consumer's perception of artificial food additives: Influences on acceptance, risk and benefit perceptions. *Food Quality and Preference*.
- Brooker, B.E. (1993). The stabilization of air in cake batters - the role of fat. *Food Structure*, 12, 285-296.
- Buccheim, W., & Abour El Nour., A.M. (1992). Induction of milkfat crystallization in the emulsified state by high hydrostatic pressure. *Fat Science and Technology*, 94, 369-373.
- Campbell, G.M., & Mougeot, E. (1999). Creation and characterization of aerated food products. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 283-296.
- Cheftel, J.C. (1992). Effect of high hydrostatic pressure on food constituents: an overview. *High Pressure and Biotechnology*, C. Balny, et al., (ed) 195- 209.
- Cheftel, C. J. (1995). Review: high-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*, 1, 75–90.
- Cheftel, J. C., & Culioli, J. (1997). Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science*, 46, 211-236.
- De Lamo, S., Capellas, M., López, T., Hernández, M., & Guamis, B. (2004) Behaviour of *Yersinia enterocolitica* strains inoculated in model cheese treated with high hydrostatic pressures. *Journal of food protection*, 68 (3), 528-533.
- Dury-Brun, C., Jury, V., Guillard, V., Desobry, S., Voilley, A., & Chalier, P. (2006). Water barrier properties of treated-papers and application to sponge cake storage. *Food Research International*, 39(9), 1002-1011.
- Galazka, V.B., Dickinson, E., & Ledward, D.A. (2000). Influence of high pressure processing on protein solutions an emulsions. *Current Opinions on Colloid & Interface Science*, 5 (3-4), 182-187.
- Gélinas, P., Roy, G., & Guillet, M. (1999). Relative effects of ingredients on cake staling based on an accelerated shelf-life test. *Journal of Food Science*, 64, 937–940.
- Gomes, M.R.A., Clark, R., & Ledward, D.A. (1998). Effects of high pressure on amylases and starch in wheat and barley flours. *Food Chemistry*, 63, 363-372.
- Gómez, M., Ronda, F., Caballero, P. A., Blanco, C. A., & Rosell, C. M. (2007). Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes. *Food Hydrocolloids*, 21(2), 167-173.
- Gómez, M., Moraleja, A., Oliete, B., Ruiz, E & Caballero, P.A. (2010). Effect of fibre size on the quality of fibre-enriched layer cakes. *Food Science and Technology*, 43, 33-38.
- Gómez, M., Ruíz, E., & Oliete. (2011). Effect of batter freezing conditions and resting time on cake quality. *Food Science and Technology*, 44, 911-916.

- Gujral, H.S., Rosell, C.M. Sharma, S., & Singh, S. (2003). Effect of sodium lauryl sulphate on the texture of sponge cake. *Food Science and Technology International*, 9, 89-93.
- Guy, R. C. E. (1983). Factors affecting the staling of Madeira slab cake. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 34, 477–491.
- Handleman, A.R., Conn, J.F., & Lyons, J.W. (1961). Bubble mechanics in thick foams and their effects on cake quality. *Cereal Chemistry*, 38, 294-301.
- Hayashi, R., & Hayashida, A. (1989). Increased amylase digestibility of pressure-treated Starch. *Agriculture Biology and Chemistry*, 53, 2543-2544.
- He, H., & Hosene, R. C. (1990). Changes in bread firmness and moisture during long-term storage. *Cereal Chemistry*, 67, 603–605.
- Hugas, M., Garriga, M., & Monfort, J.M. (2002). New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. *Meat Science*, 62, 359-371.
- Hütter, E.K., Dal Bello, F., Pautanen, K., & Arendt, E.K. (2009). Fundamental evaluation of the impact of high hydrostatic pressure on oat batters. *Journal of Cereal Science*, 49, 363-370.
- Karaöglu, M. M., Kotancilar, H. G., & Celik, I. (2001). Effects of utilization of modified starches on the cake quality. *Starch-Starke*, 53(3-4), 162-169.
- Karaöglu, M. M., Kotancilar, H. G., & Gercekaslan, K. E. (2008). The effect of par-baking and frozen storage time on the quality of cupcake. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1778–1785.
- Karaöglu, M. M., & Kotancilar, H. G. (2009). Quality and textural behaviour of par-baked and re-baked cake during prolonged storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 93–99.
- Kaushik, N., Barjinder, P.K., Rao, S., & Mishra H.N. (2014) Effect of high pressure processing on color, biochemical and microbiological characteristics of mango pulp (*Mangifera indica cv. Amrapali*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22 (40-50).
- Marcotte, M., Sablani, S. S., Kasapis, S., Baik, O.-D., & Fustier, P. (2004). The thermal kinetics of starch gelatinization in the presence of other cake ingredients. *International Journal of Food Science and Technology*, 39(7), 807–810.
- Maxwell, J. L., & Zobel, H. F. (1978). Model studies on cake staling. *Cereal Foods World*, 23(3), 124-128.
- Ngo, W.H., Taranto, W. (1986). Effect of sucrose level on the rheological properties of cake batters. *Cereal Food World* 31 (4), 403-411.
- Ogawa, H., Fukushima, K., Kubo, & Fukumoto, H. (2004). Pressure inactivation of yeast, moulds and pectin esterase in Satsuma mandarin juice. *Agriculture Biology and Chemistry (Tokyo)*, 54, 1219-1225.
- Orlien, V., Hansen, E., & Skibsted, L. H. (2000). Lipid oxidation in high-pressure processed chicken breast muscle during chill storage: Critical working pressure in relation to oxidation mechanism. *European Food Research and Technology*, 211, 99-104.
- Patterson, M. F., & Linton, M. (2008). Factors affecting inactivation of food-borne bacteria by high pressure. In C. Michiels, D. H. Bartlett, & A. Aertsen (Eds.), *High-pressure microbiology*, 181–193. Washington DC: ASM Press.
- Patrignani, F., Vannini, L & Sado Kandem, S.L. (2013). High pressure homogenization vs heat treatment safety and functional properties of liquid whole egg. *Food Microbiology*, 36, 63-69.
- Rodríguez, M. V., Medina, L. M., & Jordano, R. (2002). Prolongation of shelf life of sponge cakes using modified atmosphere packaging. *Acta Alimentaria*, 31(2), 91-196.

- Ronda, F., Gómez, M., Caballero, P.A., Oliete, B., & Blanco, C.A (2009). Improvement of quality of gluten-free layer cakes. *Food Science and Technology International*, 15, 193-202.
- Rubio, B., Martínez, B., García-Cachán, M.D., Rovira, J., & Jaime, I. (2007) Effect of high pressure preservation on the quality of dry cured beef “Cecina de León”. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 102-110.
- Sale, A. J. H., Gould, G. W., & Hamilton, W. A. (1970). Inactivation of bacterial spores by hydrostatic pressure. *Journal of Genetic and Applied Microbiology*, 60, 323–34.
- Sangronis, E., Pothakanmury, U., Ramos, A.M. & Barbosa- Cánovas, G.V. (1997). La alta presión hidrostática: una alternativa en el procesado no térmico de alimentos. *Alimentaria*, 35, 33-43.
- Seyhun, N., Sumnu, G., & Sahin, S. (2003). Effects of different emulsifier types, fat contents, and gum types on retardation of staling of microwave-baked cakes. *Nahrung-Food*, 47(4), 248-251.
- Seyhun, N., Sumnu, G.,&Sahin, S. (2005). Effects of different starch types on retardation of staling of microwave-baked cakes. *Food and Bioproducts Processing*, 83(1), 1-5.
- Smith, J.P. (1992). Bakery products. In *Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Food*. p. 134. Ed. R.T. Parry, Blackie Academic and Professional, London.
- Smith, D., Phillips, D., Wassim, E., Koukoutsis, J., & El- Khoury, A. (2004). Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products. A Review .*Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 19–55.
- Stauffer, C.E. (1990). *Functional additives for bakery foods*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Stolt, M., Stofors, N.G., Taukis, P.S. & Autio, K. (1999). Evaluation and modelling of rheological properties of high pressure treated waxy maize starch dispersions. *Journal of Food Engineering*, 40,293-298.
- Stolt, M., Oinonen, S., & Autio, K. (2000). Effect of high pressure on the physical properties of barley starch. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 1, .167-175.
- Stute,R., Eshtiagi, M.N., Boguslawski, S., & Knorr, D. (1996). High pressure treatment of vegetables. *High Pressure Chemical Engineering*, 271-276.
- Trujillo, A.J. (1995). High pressure effects on milk and milk products. *Recent Research Developments. Agriculture and Food Chemistry*, 1,137-159.
- Wilderjans, E., Luyts, A., Brijs, K & Delcour, J.A. (2013). Ingredient functionality in batter type cake making. *Trends in Food Science & Technology*, 30, 6-15.
- Willhoft, E.M.A. (1973). Mechanism and theory of staling of bread and baked goods, and associated changes in textural properties. *Journal of Texture Studies*, 4, 292-322.

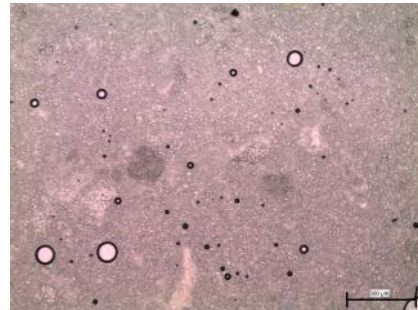
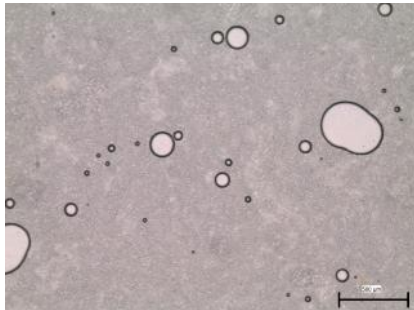


ANEXO I. MICROSCOPIA

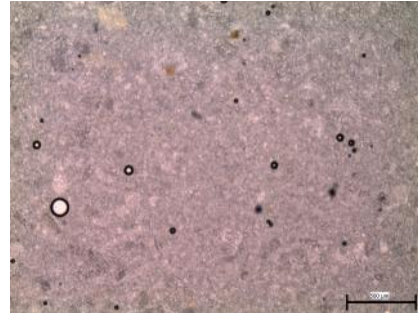
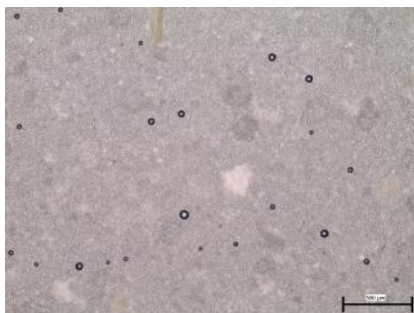
A. BATIDOS ENVASADOS EN BOLSA

Día 0

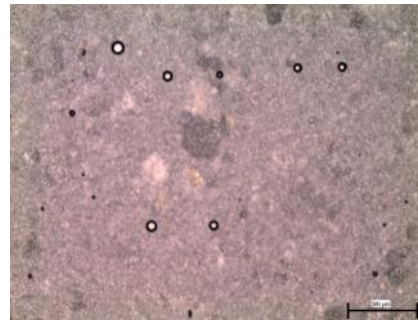
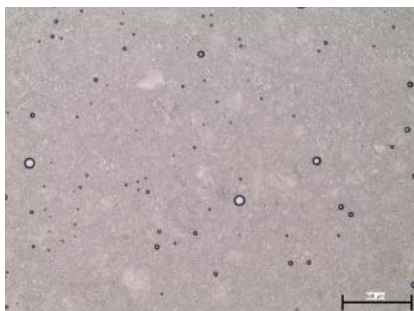
Día 60



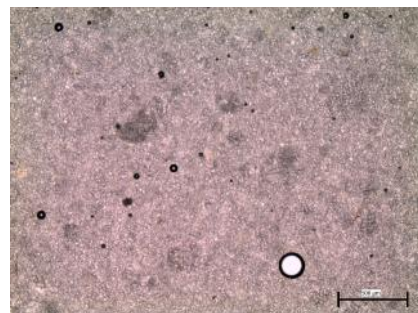
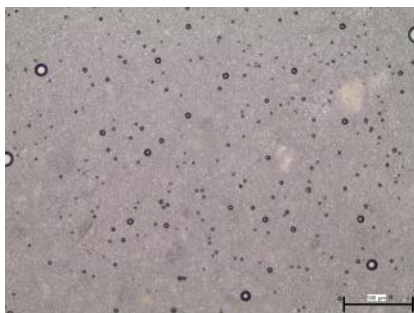
Control



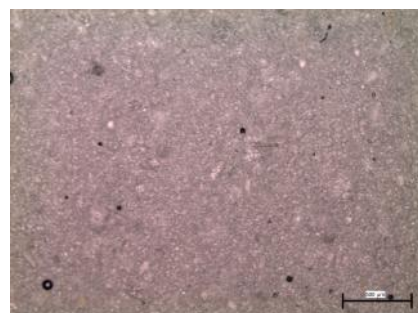
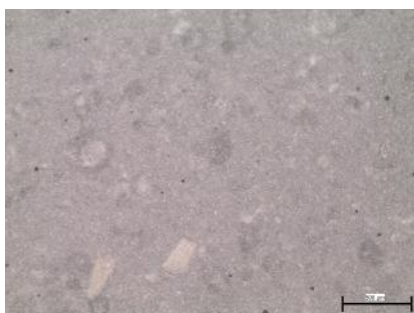
300 MPa / 3 min



300 MPa / 6 min



600 MPa / 3 min



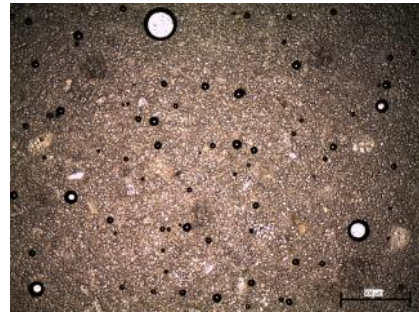
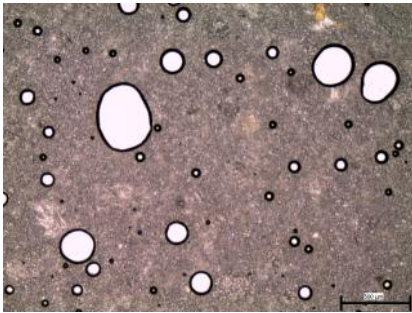
600 MPa / 6 min



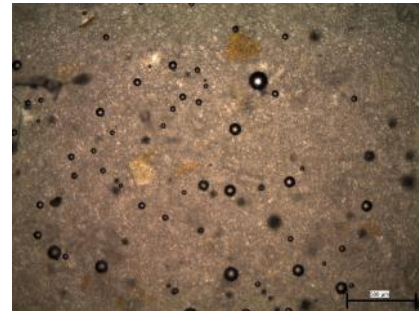
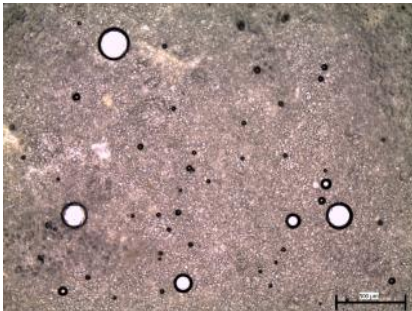
**B. BATIDOS ENVASADOS EN BOTELLA**

**Día 0**

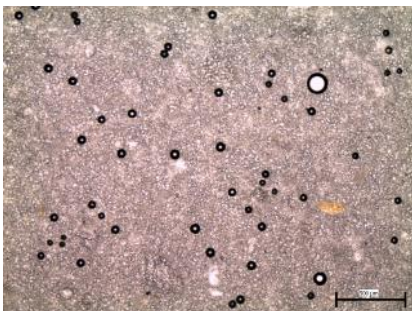
**Día 60**



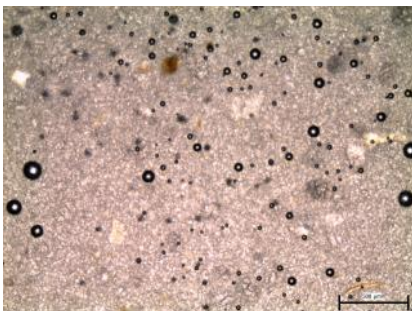
**Control**



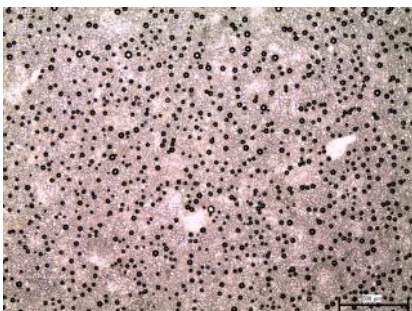
**300 MPa / 3 min**



**300 MPa / 6 min**



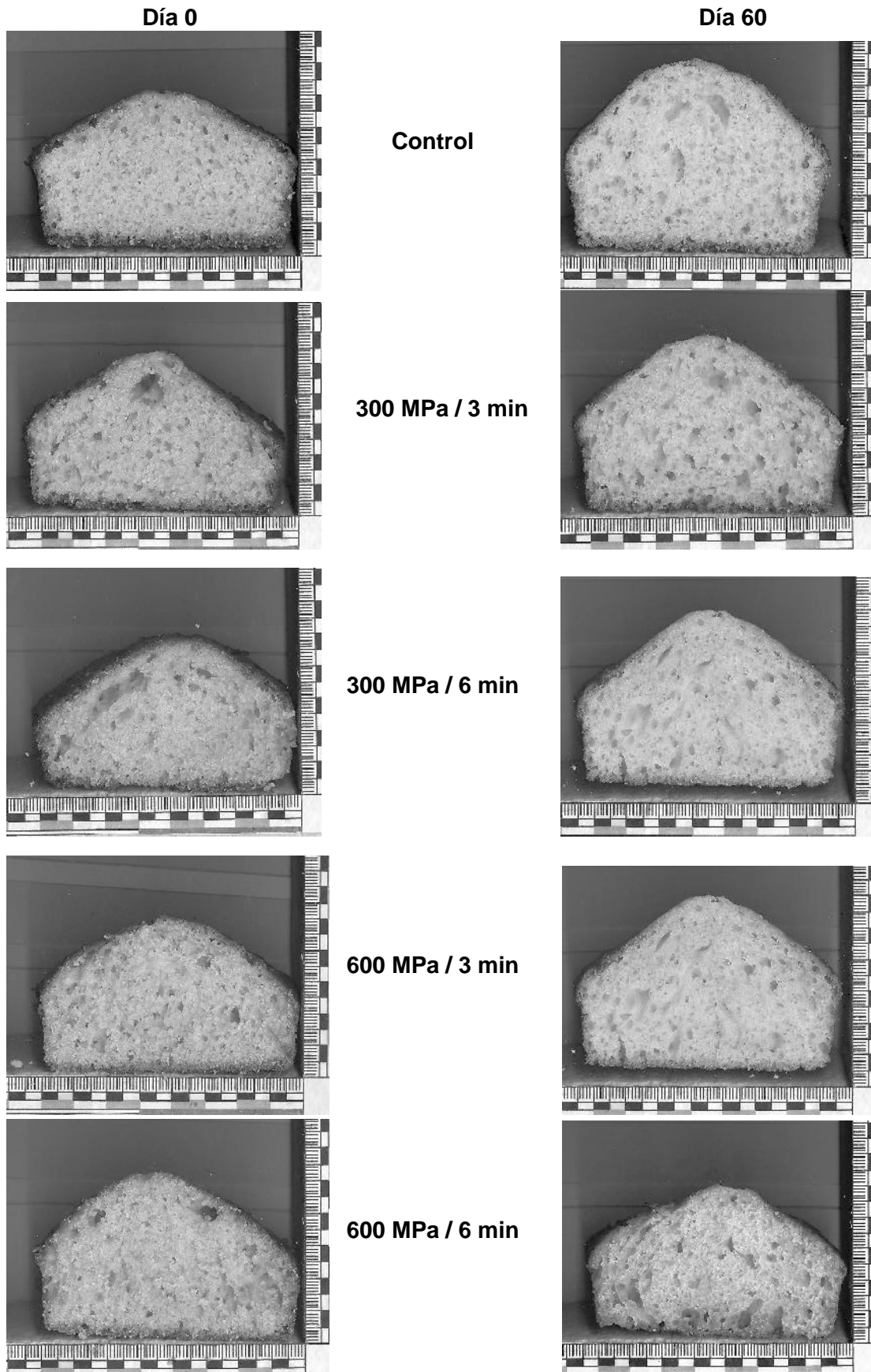
**600 MPa / 3 min**



**600 MPa / 6 min**

ANEXO II. ESCANEADO

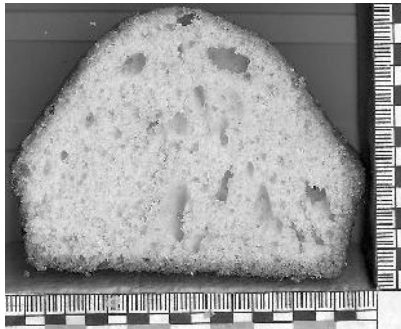
A. BIZCOCHOS ELABORADOS A PARTIR DE BATIDOS ENVASADOS EN BOLSA



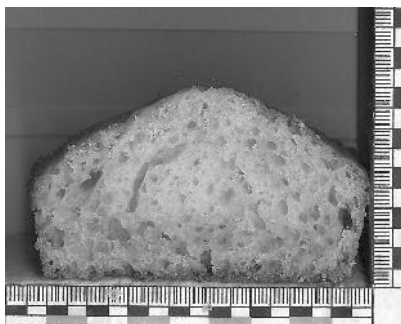
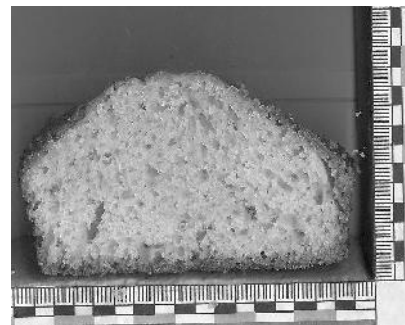
B. BIZCOCHOS ELABORADOS A PARTIR DE BATIDOS ENVASADOS EN BOTELLA

Día 0

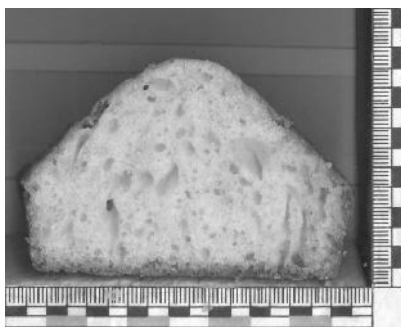
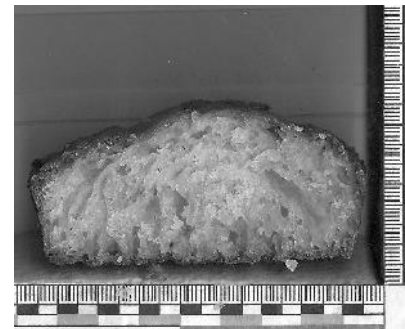
Día 60



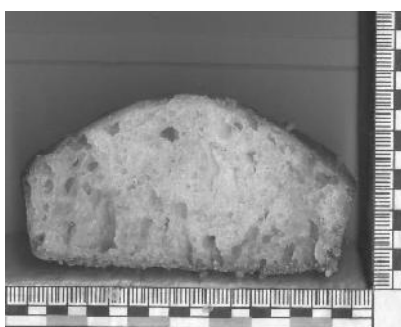
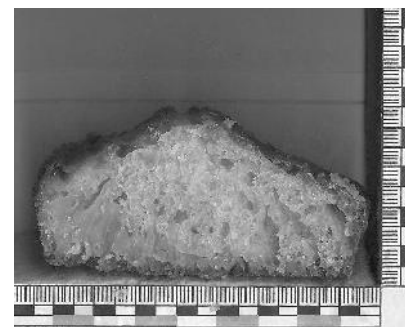
Control



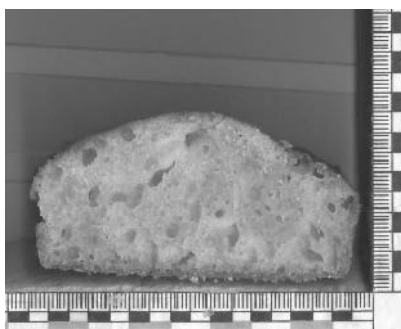
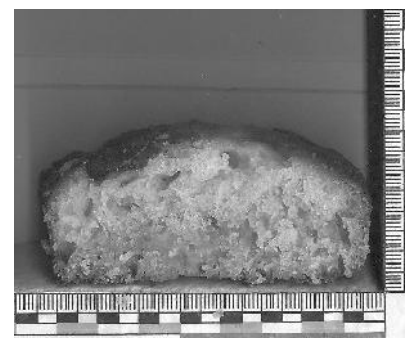
300 MPa / 3 min



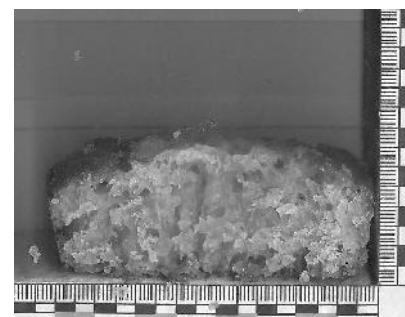
300 MPa / 6 min



600 MPa / 3 min



600 MPa / 6 min





ANEXO III. FOTOS DE LA CORTEZA DE LOS BIZCOCHOS

A. A PARTIR DE BATIDOS ENVASADOS EN BOLSA

Día 0

Día 60



Control



300 MPa / 3 min



300 MPa / 6 min



600 MPa / 3 min



600 MPa / 6 min



**B. A PARTIR DE BATIDOS ENVASADOS EN BOTELLA**

**Día 0**

**Día 60**



**Control**



**300 MPa / 3 min**



**300 MPa / 6 min**



**600 MPa / 3 min**



**600 MPa / 6 min**

