



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

**UNIVERSIDAD DE SONORA**  
**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO EN ALIMENTOS**  
**Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos**

**Especialidad en Almacenamiento y Procesamiento de Granos**

**Formulación de un Pan sin Gluten y Descripción de  
Características Externas e Internas de Calidad**

**TESIS**

**Como requisito parcial para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**Presenta:**

**Q.B. José Manuel Peña Leriche**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**

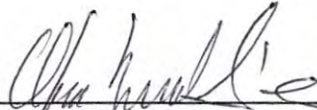


Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## APROBACIÓN

### Formulación de un Pan sin Gluten y Descripción de Características Externas e Internas de Calidad

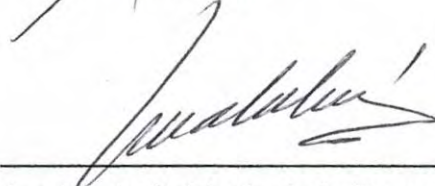
**Q. B. José Manuel Peña Leriche**



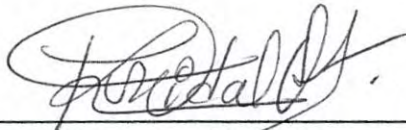
Dra. Ofelia Rouzaud Sández  
Director de Tesis



Dra. María Guadalupe Salazar García  
Sinodal



Dra. Ana María Calderón de la Barca Cota  
Sinodal



Dra. Reyna Luz Vidal Quintanar  
Sinodal

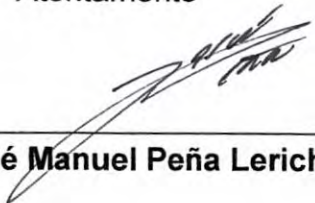
## DERECHOS DE AUTOR

El presente trabajo de tesis se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del grado de **Maestro en Ciencias** de la Universidad de Sonora.

Se deposita en la biblioteca del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos para ponerla a disposición de los interesados. Se permiten citas breves del material contenido en la tesis sin permiso del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Para reproducir, o en su caso referirse a este documento en forma parcial o total, se deberá solicitar la autorización al Coordinador del Programa del Posgrado.

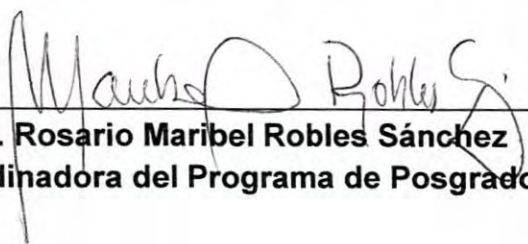
Bajo cualquier otra circunstancia se debe solicitar permiso directamente al autor.

Atentamente



---

**Q.B. José Manuel Peña Leriche**



---

**Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez**  
Coordinadora del Programa de Posgrado

Hermosillo, Sonora

Noviembre de 2013



## AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por brindarme vida, salud, retos y conocimientos durante estos tiempos radicales.

A la **Dra. Ofelia Rouzaud**, por ser una gran amiga y ángel, brindarme su apoyo, conocimientos, consejos, paciencia y sobre todo por no dejarme desistir.

Al **Maestro Nacho** que estuvo al pendiente de mi trabajo durante mis experimentos para no descomponer los equipos, al igual que todo el personal DIPA (**Coty, Maestros Rafeles de molinos, Dr. Benjamín, Dr. Barrón, Dra. Silveira, Dra. Vidal, Dra. Salazar, Dra. Robles**, disculpen si se me pasó alguien) y a la **Dra. Ana María Calderón de la Barca** que me ayudaron y apoyaron durante mis estudios, experimentos y seminarios.

A los **panelistas** de la evaluación sensorial que me regalaron su valioso tiempo para elaborar esta etapa de mi tesis.

A mis **padres y hermanos** que sin su apoyo no hubiese tenido la fuerza para concluir esta etapa de mi vida.

A mis **compañeros/amigos** de maestría que me acompañaron con tantos desvelos, preocupaciones, soportar mis crisis y que nunca dejaron que me tirara por la borda (Ivonne, Dalila, Cesar, Nadia y Patty).

A mis **amigos** que siempre estuvieron a mi lado para ayudarme, escucharme, soportarme y en muchas ocasiones guiarme (Wadal, Alí y Tomás).

## DEDICATORIA

“Yo, sin embargo, siento que estas aquí, desafiando las leyes del tiempo y de la distancia... Sutil?, quizás!, tan real como una fragancia...” J. Drexler

**A Ramsés...**

## RESUMEN

Es un reto en la tecnología de los alimentos sustituir al gluten en la formulación de un producto de panificación. Hay en el mercado diversos productos formulados con ingredientes alternativos, que usan como base arroz, quinua, amaranto, maíz y otros. Para formar la estructura se han utilizado hidrocoloides y enzimas, sin embargo, las características de los productos y su costo alto los hacen poco aceptables. Por ello, el objetivo de este trabajo fue obtener una formulación para pan sin gluten sustituyendo la harina de trigo por una mezcla de harina de garbanzo cocido y harina de arroz, con hidroxipropil-metil-celulosa y glucosa-oxidasa, además de sal, azúcar y levadura. Se determinó la consistencia de las masas elaboradas con y sin los coadyuvantes, y a los productos obtenidos se les determinó su volumen específico, así como algunas características de calidad. La formulación con 100% de harina compuesta 15/85, 190% de agua, 3% de levadura, 2% de sal, 6% de azúcar y 4% de HPMC produjo un pan con un volumen específico semejante al de un pan de trigo. El nivel de glucosa-oxidasa no hizo sinergia con el HPMC. Algunas características internas y externas de calidad del pan de arroz y garbanzo cocido coincidieron con las obtenidas en otros estudios para este tipo de panes.



## CONTENIDO

	Pagina
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	4
Generalidades.....	4
Consistencia de una masa panaria.....	5
Producción de Pan sin Gluten.....	12
Ingredientes para la Panificación Sin Gluten.....	14
Harinas y almidones.....	14
Hidrocoloides.....	17
Enzimas.....	20
Proceso de Producción de Pan Sin Gluten.....	22
La Importancia de Medir la Calidad del Pan Sin Gluten.....	24
Calidad externa.....	25
Calidad Interna.....	25
Textura sensorial.....	26
<b>HIPÓTESIS</b> .....	28
<b>OBJETIVOS</b> .....	29
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	30
Materia Prima.....	30
Obtención de la Harina de Garbanzo.....	30
Obtención de las Harinas Compuestas.....	31
Caracterización Físicoquímica de las Harinas Compuestas.....	33
Análisis Químico Proximal.....	33
Capacidad de Absorción de Agua.....	33
Propiedades Térmicas.....	34
Etapa I. Obtención del Sistema Modelo sin gluten.....	34
Obtención del Pan sin Gluten.....	35
Efecto del HPMC en la CAA de las Harinas, en la Consistencia Farinográfica de la Masa y en el Volumen Específico del Pan sin Gluten.....	37
Efecto de la Enzima Glucosa-oxidasa en la Consistencia Farinográfica de la Masa y en el Volumen Específico de una Formulación.....	38
Etapa II. Descripción de las Características Externas e Internas del Pan sin Gluten Formulados con HGC/HA.....	39
Estructura de la Miga de Pan.....	39
Dureza de la Miga.....	40
Actividad de Agua.....	40
Color.....	41
Análisis Sensorial de la Textura.....	41
Diseño de Experimentos.....	42
Etapa I. Obtención del sistema modelo sin gluten.....	42
Obtención del Pan sin Gluten.....	42
Obtención del nivel de HPMC en la formulación para pan sin gluten.....	44
Efecto de la Enzima Glucosa-oxidasa (GOx) en la Formulación para Pan sin Gluten con HPMC.....	44

Etapa II. Descripción de las características externas e internas del pan sin gluten formulado con HGC/HA.....	45
Análisis de los Resultados.....	45
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	47
Características de las Harinas.....	47
Tamaño de Partícula.....	47
Contenido Químico Proximal y Capacidad de Adsorción de Agua de las Harinas Compuestas.....	47
Entalpía y Rango de Temperaturas de Gelatinización.....	51
Etapa I. Obtención de una Formulación para Pan sin Gluten.....	55
Obtención del Sistema Modelo sin Gluten.....	55
Consistencia farinográfica de la masa.....	55
Volumen específico del pan.....	57
Obtención de la Dosis de Hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC) en el Sistema Modelo sin de Gluten.....	61
Influencia del hidrocoloide sobre la capacidad de absorción de agua de las harinas compuestas.....	61
Efecto del HPMC sobre la consistencia farinográfica de la masa.....	63
Efecto del HPMC sobre el volumen específico del pan.....	67
Efecto de la Enzima Glucosa-Oxidasa (GOx) en la Formulación Sin Gluten con Hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC).....	70
Efecto de la GOx sobre la consistencia farinográfica de la masa.....	70
Efecto de la GOx sobre el volumen específico del pan.....	72
Etapa II. Descripción de las Características Externas e Internas del Pan sin Gluten Formulado con 15/85 (HGC/HA) y 4% de HPMC.....	76
Volumen Específico del Pan.....	76
Estructura de la Miga.....	78
Dureza de la Miga.....	81
Actividad de Agua.....	82
Color de la Corteza y la Miga.....	83
Análisis Sensorial de la Textura.....	84
<b>CONCLUSIONES</b> .....	88
<b>REFERENCIAS</b> .....	89



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Pagina</b>
1	Modelo mecánico Cuerpo Burgers de la reología de la masa de trigo.....	10
2	Funcionalidad de los hidrocoloides en una masa modelo sin gluten.....	19
3	Diagrama de flujo del proceso de pan de trigo (A) comparado con el proceso de pan sin gluten (B).....	23
4	Termogramas de la gelatinización del almidón de las harinas de garbanzo cocido (100/0), de arroz (0/100) y harinas compuestas (15/85, 30/70, 45/55, 60/40, 75/25).....	52
5	Farinogramas de la consistencia de las masas elaboradas con las formulaciones de harinas de garbanzo cocido y de arroz.....	56
6	Consistencia farinográfica de las masas elaboradas con las formulaciones de harinas de garbanzo cocido.....	58
7	Volumen Específico del Pan Elaborado con las Formulaciones de Harinas de Garbanzo Cocido y de Arroz.....	60
8	Efecto del HPMC sobre la capacidad de absorción de agua de las harinas de las formulaciones modelo sin de gluten seleccionadas.....	62
9	Efecto del HPMC sobre la consistencia farinográfica de la masa de las formulaciones modelo sin de gluten.....	64
10	Registro de la consistencia farinográfica de las masas elaboradas con las formulaciones seleccionadas y los dos niveles de hidroxipropil-metil-celulosa.....	66
11	Efecto del hidrocoloide HPMC sobre el volumen específico del pan elaborado con las formulaciones modelo sin gluten.....	68
12	Efecto de la enzima glucosa-oxidasa (GOx) sobre la consistencia farinográfica de la masa formulada con 15HGC/85HA y dos niveles de hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC).....	71
13	Efecto de la enzima glucosa-oxidasa (GOx) sobre el volumen específico del pan formulado con 15HGC/85HA y dos niveles de hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC).....	73
14	Imágenes digitales del aspecto general y ampliada de la rebanada central de los panes formulados con la harina 15/85, HPMC, sin y con glucosa-oxidasa (GOx).....	75
15	A) Área de los poros como porcentaje del área total de poros y cantidad de poros como porcentaje de la cantidad total de poros. B) Imagen ampliada del centro de la rebanada del pan sin gluten.....	79

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Pagina</b>
1	Formulaciones para Pan Sin Gluten Disponibles en Publicaciones Científicas.....	11
2	Proporciones de las Harinas Arroz: Garbanzo para cada Mezcla.....	32
3	Ingredientes Utilizados en las Formulaciones para Seleccionar el Sistema Modelo sin Gluten.....	36
4	Atributos de textura y las definiciones sensoriales correspondientes que se utilizaron en la evaluación del pan.....	43
5	Contenido Químico Proximal (base seca) y Capacidad de Absorción de Agua (CAA) de las Harinas Compuestas de Garbanzo Cocido/Arroz.....	49
6	Entalpía y Temperaturas de Gelatinización de los Almidones de las Harinas Compuestas de Garbanzo Cocido/Arroz en Exceso de Agua.....	54
7	Características externas e internas del pan sin gluten formulado con HGC/HA + 4% HPMC y de otras formulaciones con hidrocoloide, disponibles en publicaciones científicas.....	77
8	Resultados del análisis descriptivo de la evaluación sensorial...	86



## INTRODUCCIÓN

La fabricación de productos de panadería que no dañen a las personas con intolerancia al gluten, es un gran desafío para los panaderos y los científicos de los cereales en el siglo XXI. Entre el 2011 y 2013, el mercado experimentó un crecimiento del 44% y se estima que las ventas en el mercado de alimentos y bebidas sin gluten alcanzará \$ 10.5 mil millones de dólares en 2013 (Intel, 2013). Para abastecer el mercado con productos de alta calidad, la investigación y el desarrollo tecnológico tienen que estar dirigidos para adquirir los conocimientos que coadyuven a conseguirlos.

La ausencia de gluten tiene alta influencia en la reología de la masa, en el proceso de producción y en la calidad del producto de panificación final. Las masas sin gluten son mucho menos cohesivas y elásticas que las masas de trigo. Su manejo es más semejante a la masa de un pastel, que son semi-líquidas, por lo que los mecanismos que actúan durante el procesamiento y la cocción de estas masas se consideran para entender lo que ocurre a las masas sin gluten (Cauvain, 2007).

En la literatura, las masas sin gluten son a menudo llamadas batidos en lugar de masa, y el mecanismo de formación de las burbujas de gas es similar al de la masa para pan, pero los mecanismos para su estabilización son muy diferentes, ya que ante la ausencia del gluten, la contribución a la estructura del producto final, proviene significativamente de la gelatinización del almidón de la harina y de la interacción de los otros ingredientes añadidos a la formulación.

Las formulaciones que se han desarrollado de los panes sin gluten, tienen principalmente como base, harina de cereales tales como el arroz, maíz y sorgo.

De ellos, el arroz, tiene varias cualidades únicas, como gusto suave, color blanco, fácil digestión y propiedades hipoalergénicas que lo convierten en un alimento ideal para pacientes con la enfermedad celiaca (Kulp et al., 1974). Además de los granos sin gluten y de los pseudocereales (Schoenlechner et al., 2008), se usan como aditivos de almidón, harinas de leguminosas tales como de garbanzo, haba, soya, chícharo, entre otras, debido a su capacidad de enlazar agua (Abdel-Aal 2009). Como sustitutos de la red de gluten y su funcionalidad, se han usado hidrocoloides naturales, sintéticos y biotecnológicos, debido a que también tienen una capacidad alta de retener el agua y son aptos para la creación de estructura. Otras alternativas para sustituir el gluten son el uso de otras proteínas alimentarias como la de soya, la de huevo o leche (Gallagher et al 2004). También el uso de enzimas ha mejorado el comportamiento de la masa sin gluten, así como la vida útil y la calidad del producto final (Rosell, 2009).

Los estudios realizados para relacionar la consistencia de la masa sin gluten con el volumen específico del pan, presentan resultados contradictorios tanto con la inclusión de proteínas que no son gluten como con el uso de hidrocoloides y otros coadyuvantes. Renzetti y Arendt (2009), sugirieron que la disminución de la consistencia del batido mejora su desarrollo debido a que se disminuye la resistencia a la expansión durante la fermentación. Otros afirman que una mayor consistencia del batido conduce a panes con mayor volumen específico, debido a que un aumento de la viscosidad mejora el desarrollo de la masa y la retención de gas, lo que aumenta el volumen del pan (Marco y Rosell, 2008;. Sciarini et al., 2010). Estos hallazgos permiten esclarecer que la relación entre las propiedades reológicas del batido y el volumen del pan depende del tipo y nivel de hidrocoloide



y de proteína añadidos, del nivel de incorporación de agua y de las interacciones que se establecen entre los constituyentes del batido.

El uso de las harinas de leguminosas frecuentemente se describe en los libros de recetas de cocina para celíacos, como mezclas comerciales de harina de garbanzo (*Cicer arietinum*) y de haba (*Vicia faba*) (Schober, 2009). Una mezcla de harinas comercial surtida por Bob's Red Mill (2013, online), contiene 50% de una mezcla de harinas de leguminosas, en la que, la harina de garbanzo parece ocupar la mayor proporción. En la literatura científica, los estudios de la incorporación de harina de garbanzo son muy pocos y se han enfocado a desarrollar mezclas con otras leguminosas para sustituir a la harina de soya (Miñarro et al., 2012).

Para contribuir en la búsqueda de una fórmula alternativa para un pan sin gluten de calidad, en este estudio se pretendió desarrollar una formulación con una harina compuesta de harina de garbanzo cocido y harina de arroz, que con los otros ingredientes de una formulación base para pan de trigo, se evaluó el efecto en la consistencia de la masa y en el volumen específico del pan. El nivel de incorporación a la formulación de dos coadyuvantes tecnológicos, se decidió por el efecto sobre el volumen específico del pan. Con la formulación resultante, también se determinaron algunas de las características externas e internas que definen la calidad del pan y se describió su textura sensorial.



## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### Generalidades

El pan en sus diversas formas es uno de los alimentos más antiguos y básicos consumidos por la humanidad. Tradicionalmente se elabora con harina de trigo, sin embargo, cuando las condiciones económicas de muchos países requieren la reducción de importaciones de trigo, se usan harinas de otros cereales como el centeno, el maíz, la avena, la cebada el arroz y el sorgo. Otra razón para utilizar la tecnología de panes sin trigo, es la producción de panes sin gluten para los consumidores que sufren de trastornos alimenticios o alergias asociadas con el gluten (Cauvain, 2007).

En algunos casos, con mezclas de harinas de otros cereales y de leguminosas, es posible obtener un producto que tenga algunos de los atributos del pan de trigo, como la estructura aireada que se forma mediante la gelatinización de sus almidones. En estas circunstancias, la falta de capacidad de retención de gas de las proteínas presentes en esas harinas debe ser compensada con la adición de otros aditivos estabilizadores de las burbujas de gas (Abdel-Aal., 2009; Renzetti, et al., 2008). Aun así, los productos de panificación sin gluten tienen características de calidad distintas a los productos de trigo, ya que se retrogradan rápidamente, su corteza no es uniforme y tienen alta densidad. Estas características son un reto en la tecnología de la panificación, que busca mejorarlas usando aditivos o añadiendo proteínas que aporten funcionalidad (Cabrera-Chávez et al., 2009).

En la ausencia de la formación de gluten, la estructura del producto final proviene de la gelatinización del almidón, propiedad que se utiliza al hacer pan sin trigo (Sluimer, 2005). La viscosidad de la "masa" que se forma a partir de formulaciones a base de almidón, es mucho más parecida a la de una masa de pastel, y debido a esta similitud, muchas de las técnicas utilizadas para estabilizar las burbujas de gas durante el procesamiento y el horneado se han derivado de la producción de pasteles (Cauvain, 2007).

En el batido para pastel, la estabilización de las burbujas de aire que se forman durante la mezcla del huevo y el azúcar, se consigue con las proteínas y las lipoproteínas que forman una película protectora alrededor de la burbuja. Este efecto se aumenta con otros materiales de superficie activa tales como los monoglicéridos destilados, con la condición de que también se agregue aceite o grasa. La formación del gluten es mínima, en parte debido a los niveles altos de agua, más altos de grasa y a la presencia de azúcar (Cauvain, 2007).

Como la fórmula del pan no contiene los niveles altos de grasa y azúcar que un pastel, se han buscado medios alternativos para atrapar y estabilizar las burbujas en el pan sin trigo. Para proporcionar la información necesaria sobre este tema, es apropiado hacer una revisión de los mecanismos que operan durante el procesamiento de las masas sin gluten y de las características del producto.

### **Consistencia de una Masa Panaria**

El primer paso básico del proceso de panificación es la formación de una masa elástica que se consigue combinando agua con harina de trigo y amasando para impartir energía mecánica a la mezcla (Bushuk, 1985; Hosney, 1985), que se convierte de una suspensión espesa y viscosa a una masa suave y visco-elástica,



que se caracteriza por un aspecto seco, sedoso al tacto y con capacidad de ser extendida en una membrana delgada continua.

Durante la formación de la masa, se aumenta la consistencia o resistencia a la mezcla, que se denomina también, desarrollo de la masa (Stauffer, 2007).

Las características que definen un buen desarrollo de la masa son:

1. La capacidad de retener el dióxido de carbono, que se genera durante la fermentación, en la forma de numerosas y pequeñas burbujas de gas;
2. La capacidad de mantener un equilibrio adecuado de flujo viscoso y de fuerza elástica de modo que la masa formada se pueda expandir adecuadamente durante la fermentación y en las primeras etapas del horneado, conservando la forma redondeada de las burbujas (Bloksma, 1990a, 1990b).

El gluten, que es la proteína de almacenamiento hidratada del trigo, es el componente que determina el cumplimiento de los requisitos en la matriz de la masa que contribuyen a la calidad del pan. Para el desarrollo de estas características, además de los otros componentes de la harina que afectan la funcionalidad del gluten, también son cruciales la proporción apropiada de harina-agua y la aplicación de energía mecánica durante el mezclado (Bloksma, 1990a; Stauffer, 2007).

Cuando se añade agua a la harina, las capas externas de las partículas de la harina se hidratan y se obtiene una masa pegajosa. Al continuar el mezclando, las capas superficiales exteriores hidratadas se desprenden, exponiendo nuevas capas que son entonces hidratadas. Esto continúa hasta que todas las partículas de la harina son hidratadas y desaparecen (Hoseney y Rogers, 1990).

Durante el mezclado y el amasado de una mezcla de harina de trigo y agua, se producen varias transformaciones físicas y químicas. Bajo las fuerzas de corte y tensión que se aplican, las proteínas que forman el gluten absorben agua y parcialmente se desarrolla la masa. El despliegue parcial de las moléculas de proteína facilita las interacciones hidrofóbicas y las reacciones de intercambio sulfidrilo-disulfuro que forman polímeros lineales. Estos a su vez, se cree que interactúan entre sí, probablemente a través de enlaces de hidrógeno, asociaciones hidrofóbicas y enlaces disulfuro, para formar una película similar a una lámina capaz de atrapar el gas (Damodaran, 1996).

El almidón durante la preparación de la masa, absorbe hasta aproximadamente 45% de agua y se considera que actúa como un relleno inerte en la matriz continua de la masa (Bloksma, 1990a). Por otro lado, Larsson y Eliasson (1997) informaron que el comportamiento reológico de la masa de trigo está influenciado por las propiedades específicas de la superficie del gránulo de almidón. Debido a la combinación del calor, de la humedad, y del tiempo durante el horneado, los gránulos de almidón gelatinizan, es decir, se hinchan y se solubilizan parcialmente, pero se dice que mantienen su identidad granular (Hug-Iten y col., 2001). También, es un elemento estructural esencial del pan y es un factor determinante de su volumen inicial (Eliasson y Larsson, 1993).

El término usual para nombrar a la proporción adecuada harina-agua es "absorción", que se expresa como un porcentaje del peso de la masa. El adjetivo "adecuada", difiere dependiendo del tipo de masa que se fabrique y del método que se utilice para medirla. También está la absorción operativa que representa la relación de harina-agua que da como resultado una masa que tiene las características reológicas necesarias para ser amasada, fermentada, horneada y



dar el producto deseado. Esta absorción la determina la experiencia del operador de la mezcladora, para obtener una manipulación óptima de la masa y las mejores cualidades del producto final (Stauffer, 2007).

En todos los casos, se consigue la cohesión o coalescencia de las partículas en una masa homogénea de consistencia característica. Desde el punto de vista estructural, la masa de trigo es un sistema coloidal, cuya fase continua se compone con los biopolímeros hidratados y la fase discontinua con el CO<sub>2</sub>. Esto hace que la masa de trigo se asemeje a una estructura de espuma (Gan et al., 1995). Esta propiedad en la masa de trigo se debe al contenido de proteínas del gluten que está constituido por gliadinas y gluteninas que le otorgan sus propiedades viscoelásticas, dando como resultado la característica de esponjosidad al pan al retener el dióxido de carbono durante la fermentación de la masa y su posterior horneado (Hayman et al., 1998; Auvergne et al., 2008).

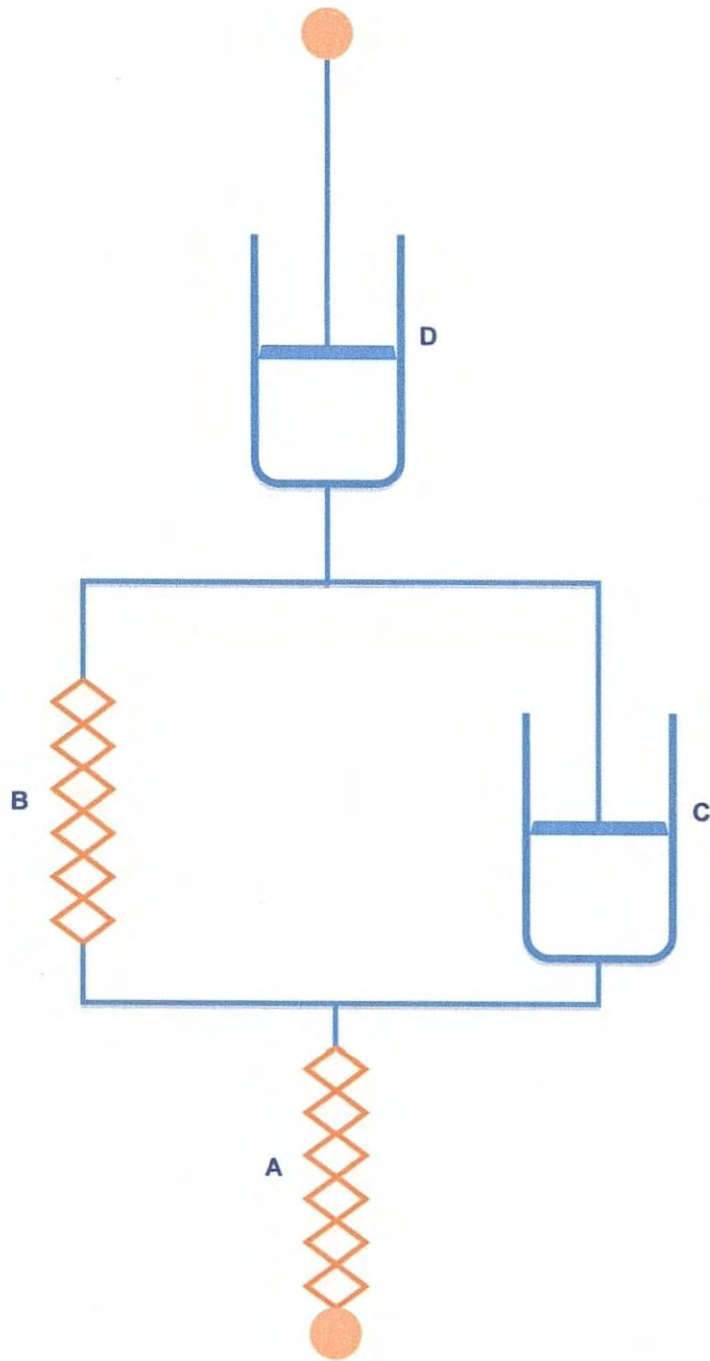
Sobre la reología de la masa de trigo existen numerosas discusiones, y el punto importante en el que coinciden es que responde a dos tipos de esfuerzos: cortante y extensional, que la caracterizan como un material viscoelástico, es decir, que posee las tipologías de un líquido viscoso y de un sólido elástico (Bloksma y Bushuk. 1988).

Para la evaluación de la calidad y la funcionalidad de la harina, los ensayos mecánicos empíricos o descriptivos han tenido una aceptación generalizada en la industria del pan. Los instrumentos que mayormente se utilizan son los empíricos, que se dividen en dos grupos: Las amasadoras de registro continuo, tales como el farinógrafo de Brabender y el mixógrafo, y los instrumentos de carga y extensión, tales como el extensógrafo de Brabender y el alveógrafo de Chopin.



El modelo mecánico más simple que se puede utilizar para interpretar los estudios reológicos de una masa de trigo es el Cuerpo de Burgers (Figura 1). Este modelo mecánico describe el comportamiento viscoelástico de la masa, que sugiere que frente a la aplicación de un esfuerzo o deformación, el componente que responde primero es la parte elástica del material (resorte A); después hay una respuesta simultánea de los componentes elástico y viscoso (B y C) y por último aparece la respuesta del componente viscoso (D), que relaja la tensión elástica instantánea en A. Cuando el esfuerzo se retira, ninguna deformación elástica restante de A se elimina inmediatamente. La eliminación del esfuerzo en el elemento B se alivia sólo cuando C se somete a flujo viscoso, en la dirección opuesta. No hay una fuerza para invertir el flujo que se produjo en D, de modo que la cantidad de deformación de la masa permanece hasta que se alcanza el equilibrio final (Stauffer, 2007).

Los estudios que describen el comportamiento reológico de las masas sin gluten y las posibles relaciones con las propiedades y atributos de calidad del pan son muy escasos (Lazaridou y Biliaderis, 2009). Uno de ellos es el de Lazaridou et al. (2007), que aplicaron el modelo de Burgers a los datos que se generaron de pruebas de deformación y de fluencia realizadas a una masa de harina de arroz sin gluten. Observaron que se comportó como un fluido viscoso combinado con componentes elásticos, y obtuvieron, que la magnitud de la influencia en la elasticidad dependió de la concentración y tipo de hidrocoloides, así como de la cantidad de agua. Este y otros estudios (Tabla 1), coinciden que los efectos parecen estar relacionados con la estructura molecular de los polisacáridos (almidones e hidrocoloides) que determinan las asociaciones intermoleculares entre las cadenas poliméricas del sistema.



**Figura 1.** Modelo mecánico Cuerpo Burgers de la reología de la masa de trigo (Modificado de Stauffer, 2007)

**Tabla 1.** Formulaciones para Pan Sin Gluten Disponibles en Publicaciones Científicas

Formulación	Nivel (%)	Nivel de HPMC (%)	Referencia	Formulación	Nivel (%)	Nivel de HPMC (%)	Referencia
Harina de arroz	25	-	Carvalho de Moraes et al. 2013	Harina de arroz	46.25	-	Mezaize et al. 2010
Almidón de papa	6	-		HTS	5.07	-	
Almidón de yuca	8	-		Almidón de papa	5.07	-	
Harina de arroz	95.24	-	Hamada et al. 2013	Almidón de maíz	29.82	-	
Arroz germinado	4.76	-		Harina de maíz	14.60	-	
Harina de arroz	100	-	Kawamura-Konishi et al. 2013	Harina de arroz	40	-	Sciarini et al. 2010
			Mariotti et al. 2013	Harina de maíz	40	-	
Harina de arroz	ND	0.5		Harina de soya	20	-	Cabrera-Chávez et al. 2010
Almidón de papa	ND			Harina de arroz	100/97/95	-	Hegazy et al. 2009
Almidón de maíz	ND			Harina de soya	0/3/5	-	
Almidón de	ND			Harina de arroz	50/50/50	-	
tapioca				Almidón de maíz	40/35/30	-	
HTS	5/35			Harina de soya	57.5/10	-	
Harina de arroz	100	0.5	Demirkesen et al. 2012	Harina de garbanzo	57.5/10	-	
Almidón de maíz	92.33	-	Miñarro et al. 2012	Harina de arroz	50	2.3	Mezaize et al. 2009
Harina de garbanzo	7.67	-		Harina de maíz	15	-	
Harina de arroz	45	-	Sciarini et al. 2012*	Almidón de maíz	30.6	-	
Harina de soya	10	-		Almidón de papa	4.4	-	
Almidón de yuca	45	0.57	Smerdel et al. 2012	Harina de arroz	50	0.3	Nunez et al. 2009
Almidón de arroz <sup>e</sup>	40/40/57.14			Almidón de papa	50	-	
Almidón de maíz	25.71/25.71/25.71			Harina de arroz	25	1.5	Sabanis et al. 2009
Hojuelas de				Almidón de maíz	75	-	
Papa <sup>a</sup>	34.29/0/0			Harina de arroz	40	-	Cabrera-Chávez et al. 2008
Harina de Maíz <sup>a</sup>	0/34.29/0			Harina de maíz	25.71	-	
HTS <sup>e</sup>	0/0/17.14			Almidón de papa	34.29	-	
Harina de arroz	95/90/85	-	Tsatsaragkou et al. 2012	Harina de arroz	100/87	4	Marco y Rosell 2008a
Harina de carob	5/10/15			APS	0/3	-	
Harina de arroz	100	2	Blanco et al. 2011	Harina de arroz	100	-	Lazaridou et al. 2007
Harina de arroz	66.52	2/3/5	Crockett et al. 2011	Harina de arroz	50	0.5/0.8/1.5/2.2/2.5	McCarthy et al. 2005
Almidón de yuca	33.48	-		Almidón de papa	50	-	
Harina de arroz	60	-	Peresini et al. 2011	Harina de arroz	100	2/4	Gujral y Rosell 2004*
HTS	40			Harina de arroz	100	1.5/3/4.5	Sivaramakrishnan et al. 2004
Almidón de maíz	75	0.5/0.8/1.5/2.2/2.5	Sabanis y Tzia 2011	Harina de arroz	100	2/3/4/5/6	Gujral et al. 2003a
Harina de arroz	25	-		Harina de arroz	100	4	Gujral et al. 2003b
Harina de arroz	50 y	-	Alvarez-Jubete et al. 2010	Harina de arroz	100	-	Sanchez et al. 2002
Almidón de papa	50 ó	-		Harina de arroz	100	-	Nishita et al. 1976
Harina de amaranto	50 ó	-		Harina de arroz	100	-	
Harina de quinua	50 ó	-					
HTS	50	-					
Harina de arroz	100	0.5	Demirkesen et al. 2010				

% en base a harina, HTS= harina de trigo sarraceno, APS= aislado de proteína de soya, ND= no disponible por ser una formulación de marca comercial, \* = utilizó GOX, <sup>e</sup> = extruido



Desde el punto de vista estructural, los batidos y masas sin gluten, son sistemas coloidales con partículas de almidón que componen la fase continua y el agua que constituye la fase dispersa (Dobraszczyk et al., 2001). Como resultado, estas masas o batidos son más parecidos a un gel semi-líquido, que ofrecen poca resistencia contra el cizallamiento y tienen una alta permeabilidad al CO<sub>2</sub> (Stauffer, 2007). A estas masas no se les puede enrollar o dar forma, por lo que fluyen al molde y toman su forma, como lo hacen las masas para pasteles. Estas masas pueden ser fermentadas y la estructura la proporciona el almidón al gelatinizar durante la cocción (Sluimer, 2005).

A las formulaciones de panes sin gluten se les incorporan ingredientes como almidones y proteínas de diferente origen, hidrocoloides, enzimas y otros tipos de aditivos, o bien, se utilizan pseudocereales, que aportan sus características funcionales para mejorar la calidad general del producto (Tabla 1). Los resultados han sido ventajosos, pero la calidad de la miga sigue siendo densa y desmoronadora, lo que causa que se siga buscando una mejoría del volumen específico y de la textura.

## **Producción de Pan sin Gluten**

Además de la enfermedad celiaca con una prevalencia del 1% en la población mundial, en los últimos años se ha reconocido a la sensibilidad al gluten no celiaca, cuyos pacientes deben de seguir también una dieta sin gluten (Peña y Rodrigo, 2013). La seguridad de estos alimentos debe garantizarse, por eso, los organismos encargados de ella contribuyen de diversas formas. El *Codex*

*Alimentarius* (CODEX, 2008), que es la Comisión de la OMS / FAO que se encarga de establecer normas alimentarias a nivel internacional, define a los alimentos exentos de gluten o libres de gluten como alimentos que:

- a) están constituidos por, o son elaborados únicamente con, uno o más ingredientes que no contienen trigo (es decir, todas las especies de *Triticum*, como el trigo duro, la espelta y el kamut), centeno, cebada, avena o sus variedades híbridas, y cuyo contenido de gluten no sobrepasa los 20 mg/kg en total (20 ppm), medido en los alimentos tal como se venden o distribuyen al consumidor.
- b) están constituidos por uno o más ingredientes procedentes del trigo (es decir, todas las especies de *Triticum*, como el trigo duro, la espelta y el kamut), el centeno, la cebada, la avena o sus variedades híbridas que han sido procesados de forma especial para eliminar el gluten, y cuyo contenido de gluten no sobrepasa los 20 mg/kg (20 ppm) en total, medido en los alimentos tal como se venden o distribuyen al consumidor.

Una amplia gama de productos que garantizan el no contener gluten se fabrican específicamente para los pacientes con enfermedad celíaca y se identifican porque se etiquetan con una marca reconocida internacionalmente en la forma de la espiga de trigo cruzada (Catassi y Fasano, 2008).

En muchas áreas del mundo, incluyendo Europa, América del Norte, Australasia y Norte de África, el pan y la pasta, son parte de la dieta básica y contribuyen sustancialmente a la ingesta diaria de energía (Catassi y Fasano, 2008). Es por eso, que la demanda de producción de estos alimentos sin gluten, es mayor que los otros tipos de alimentos. De acuerdo con la investigación reciente de Mintel (Mintel, 2013), el 65% de los consumidores en los EUA que no tienen la



enfermedad celíaca o sensibilidad al gluten, comen estos alimentos porque creen que tienen múltiples beneficios para la salud, tales como bajos en grasa o sin ingredientes de origen animal, que les pueden ayudar a perder peso. Es deseable que la disponibilidad de estos productos se de en todos los países del mundo, inclusive en países en vías de desarrollo y sobre todo, empleando materias primas regionales que disminuyan los costos de su producción (Singh y Whelan, 2011).

Los cereales que no contienen gluten y que pueden ser consumidos por los celíacos son el arroz y el maíz. Otros alimentos naturales, como verduras, legumbres, frutas, frutos secos, carne, pescado, aves, queso, huevo y leche también se puede comer sin limitaciones (Catassi y Fasano, 2008) y pueden incluirse como ingredientes en formulaciones para panificar.

## **Ingredientes para la Panificación sin Gluten**

### Harinas y almidones

Las harinas y almidones que se usan en los estudios para la producción de panes sin gluten, son de diferentes tipos de cereales, de pseudocereales, de tubérculos y de legumbres. Algunos ejemplos son el arroz, el maíz, la yuca, la papa, el sorgo, la soya, el amaranto, la quinua y el garbanzo (Tabla 1). Estas harinas y almidones sin gluten tienen proteínas con menor número de puentes disulfuro que el trigo, por lo que se dificulta el desarrollo de redes de proteína (Dobraszczyk et al., 2003). Para aumentar el porcentaje de proteína se mezclan estas harinas con las de otras fuentes como de nueces, pescado y con proteínas de la leche, del huevo y de la soya.

Pero también cabe señalar que la adición de estas harinas y proteínas, introduce otros alérgenos, que son un riesgo en los casos de pacientes celíacos recién diagnosticados, ya que la mucosa intestinal está susceptible a desarrollar alergias nuevas o temporales (Mendoza, 2005). Es por eso, que la harina de arroz es la más utilizada, ya que es fácilmente digerible, tiene un color blanco y un sabor neutro. Además, por su bajo contenido de proteínas y baja concentración de prolaminas es hipoalérgica (Rosell y Marco, 2008).

La harina de arroz tiene muchas ventajas, pero tiene el inconveniente de que sus proteínas son de naturaleza hidrófoba y la masa o batido formada con ella tiene un comportamiento poco viscoelástico (Rosell y Marco 2008). Esto ocasiona que el volumen del pan sea bajo, que la estructura de la miga sea densa y con una propensión a la retrogradación rápida.

Las harinas de leguminosas tienen características que algunos investigadores consideran podrían ser una alternativa a las harinas comunes para preparar pan sin gluten. Principalmente porque son una fuente importante de proteína y poseen propiedades funcionales que participan de manera significativa en la formulación y elaboración de alimentos (Boye et al., 2010).

Los cereales como el arroz, son deficientes en lisina, uno de los aminoácidos esenciales para la dieta humana, mientras que las legumbres tienen un alto nivel de este aminoácido, al mismo tiempo, las proteínas de los cereales son capaces de complementar a las proteínas de las leguminosas en el aminoácido esencial metionina (Iqbal et al., 2006). Debido a sus propiedades funcionales la proteína de soya es la más utilizada (Ran-Horta et al., 1975; Ribottan et al., 2004), pero las proteínas de chícharos y de garbanzo también se utilizan con éxito en productos de panadería, para mejorar el valor biológico y la calidad de estos productos



(Tömsközi et al., 2001). Con garbanzo y almidón de maíz se obtiene pan con mejores características fisicoquímicas y un buen comportamiento sensorial, por lo que se ve como una alternativa prometedora a la proteína de soya para panes sin gluten (Miñarro et al., 2012).

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) se reconoce como una fuente valiosa y económica de proteína vegetal en la dieta humana. El grano crudo contiene aproximadamente 10% de humedad, 26% de proteína (del 60-80% son globulinas y del 15-25% son albúminas), 43% de almidón, 7% de grasa, 11% de polisacáridos no almidonosos y 3% de cenizas. La importancia nutricional de sus proteínas es su alto contenido de lisina y de aminoácidos azufrados, sin embargo, tiene factores antinutricionales que afectan el valor nutritivo, al limitar su susceptibilidad a la hidrólisis de las proteasas digestivas (Rincón et al., 1998; Clemente et al., 2000; Marconi et al., 2000; Klamczynska et al., 2001).

Con la finalidad de reducir los factores antinutricionales y aumentar su digestibilidad, se emplean diferentes métodos para su procesamiento, tales como decortización, remojo, germinación, fermentación, extrusión, ebullición, tostado, frito, cocido al vapor y en microondas (Ravi y Bhattacharya, 2006; El-Adawy, 2002; Milán-Carrillo et al., 2002; Bath y Bhattacharya, 2001; Klamczynska et al., 2001; Marconi et al., 2000).

El garbanzo por su contenido bajo de prolaminas (Boye et al., 2010) parece un ingrediente adecuado para el desarrollo de alimentos para celíacos, por lo que, en este estudio se exploró el uso de la harina del grano cocido para complementar la formulación de panes de arroz.

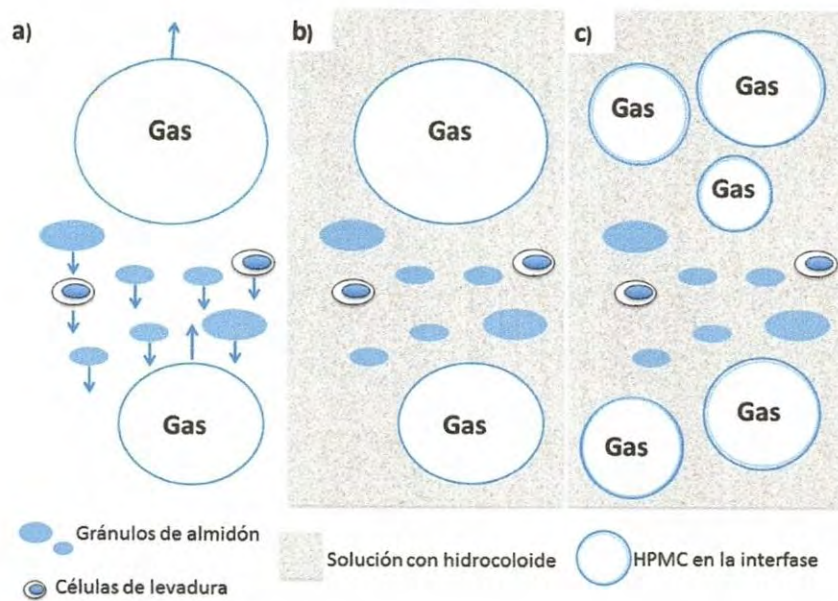


## Hidrocoloides

Los hidrocoloides son polímeros hidrófilos de cadena larga y alto peso molecular, con propiedades coloidales que en un sistema acuoso producen geles. Generalmente son polisacáridos y proteínas de origen vegetal, animal, microbiano, o de material sintético que también tienen como propiedades secundarias, la de emulsionar, espumar y encapsular (Hoefler, 2004).

Debido a sus propiedades formadoras de estructura, la adición de hidrocoloides en panificación, garantiza una mayor consistencia de la masa, una mejoría de la capacidad de retención del gas (Nishita y col., 1976; Ylimaki et al., 1988) y una vida útil más larga del pan (Kang et al., 1997). Sin embargo, cada tipo difiere considerablemente en sus capacidades para impartir cualquier funcionalidad específica, que cambia al interactuar con los componentes del alimento. Es por esto, que antes de su elección para formular alimentos sin gluten, es importante entender las interacciones que se dan con los almidones y las proteínas (Abdel-Aal, 2009). A este respecto, se ha demostrado que los que aportan un beneficio en la formulación de productos sin gluten son: hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), goma de algarrobo, goma guar, carragenina y goma de xantano (Christianson et al., 1974; Gallagher et al., 2004; Lazaridou et al., 2007).

En un estudio sobre la elaboración de pan sin gluten de harina de arroz y almidón de yuca, con adición individual de goma xantana y HPMC, se encontró que la calidad del pan fue mayor con HPMC y se recomendó que antes de probar proteínas alternativas, se pruebe a este aditivo (Crockett et al., 2011). En otros estudios (Tabla 1), también se seleccionó a este hidrocoloide debido a que tiene propiedades similares a los compuestos tensoactivos, y a que experimenta una



**Figura 2.** Funcionalidad de los hidrocoloides en una masa modelo sin gluten. a) Sin hidrocoloide los gránulos de almidón y las células de levadura sedimentan y las burbujas se unen aumentando su tamaño; b) con hidrocoloide (ejemplo goma xantana) la viscosidad se aumenta y los componentes del sistema permanecen suspendidos; c) con HPMC se estabiliza la interfase gas-líquido, se evita la coalescencia lo que aumenta el número de burbujas pequeñas. Fuente: Modificado de Shober (2009).



gelificación térmica reversible, a que retiene agua y a que forma un material pseudo-plástico que soporta la cizalla (BeMiller 2008).

La funcionalidad de los hidrocoloides en una masa modelo sin gluten o en un batido de almidón, se puede explicar como lo hizo Schober (2009), por medio de la Figura 2. Una masa o batido de almidón, es una suspensión de gránulos de almidón y células de levadura en agua, con pequeñas cantidades de azúcar y de sal disueltos. Cuando el gas (aire) se incorpora durante la mezcla o el amasado, las burbujas se suspenden pero se unen o salen de la suspensión, y los gránulos de almidón y las células de levadura sedimentan (Figura 2 a) por la ausencia de compuestos estructurales. Una forma de aminorar estos eventos, es aumentar la viscosidad de la fase líquida a temperatura ambiente, agregando un hidrocoloide (Figura 2 b).

La goma xantana retarda lo suficiente la sedimentación de las partículas sólidas y la coalescencia de las burbujas, para que el sistema permanezca homogéneo durante la fermentación y hasta la gelatinización del almidón en la cocción, debido a que la viscosidad de la solución no se altera con el aumento de la temperatura. Las otras gomas, como la goma guar, la goma de algarrobo y la carragenina, disminuyen en viscosidad con el calentamiento.

Por otro lado, el HPMC difiere de la goma xantana en que es una sustancia tensoactiva (BeMiller, 2008), por lo que estabiliza espumas. Esta característica lo aventaja de los otros hidrocoloides, porque además de aumentar la viscosidad estabiliza las burbujas en la interfase gas-líquido (Figura 2 c).

El HPMC está disponible en muchas variantes que atienden a las necesidades de los procesadores de alimentos.



Esta versatilidad se debe a que la celulosa se modifica químicamente ajustando la cantidad de grupos hidroxipropilo y de grupos metoxilo sustituidos a la cadena principal (BeMiller, 2008). Es de interés de esta tesis utilizar HPMC como coadyuvante en una formulación sin gluten de harina de arroz y garbanzo cocido.

### Enzimas

En la producción de panes sin gluten, también se ha investigado el uso de enzimas para formar redes semejantes a las del gluten, a través de enlaces covalentes, intramoleculares o intermoleculares de los polipéptidos presentes en los ingredientes de la formulación (Rosell, 2009). De las enzimas que inducen enlaces cruzados, la transglutaminasa (EC.2.3.2.13) y la glucosa-oxidasa (EC 1.1.3.4), son las que se han estudiado con mayor frecuencia.

La transglutaminasa, es la que ha recibido mayor atención, debido a las evidencias previas de que cataliza el entrecruzamiento de una cantidad grande de proteínas, incluyendo a las de la leche, de la soya (Ikura et al., 1980), a la gelatina (Kolodziejaska et al., 2004), a la miosina, a la legumina del chícharo (Larré et al., 1993) y a la globulina de la avena (Siu et al., 2002).

Gujral y Rosell (2004 a), usaron transglutaminasa con harina de arroz y confirmaron que se formaron enlaces covalentes entre los polipéptidos, al agregar 1.0 U de la enzima/g de harina de arroz. Sin embargo, un aumento en la concentración de enzima no promovió un entrecruzamiento significativo. Posteriormente, se evaluó el impacto de esta enzima a diferentes niveles, en conjunción con proteínas de soya, leche y huevo (Moore et al., 2006), así como sobre un rango amplio de cereales (Renzetti et al., 2008). Los autores concluyeron que la transglutaminasa se puede aplicar con éxito a las harinas sin

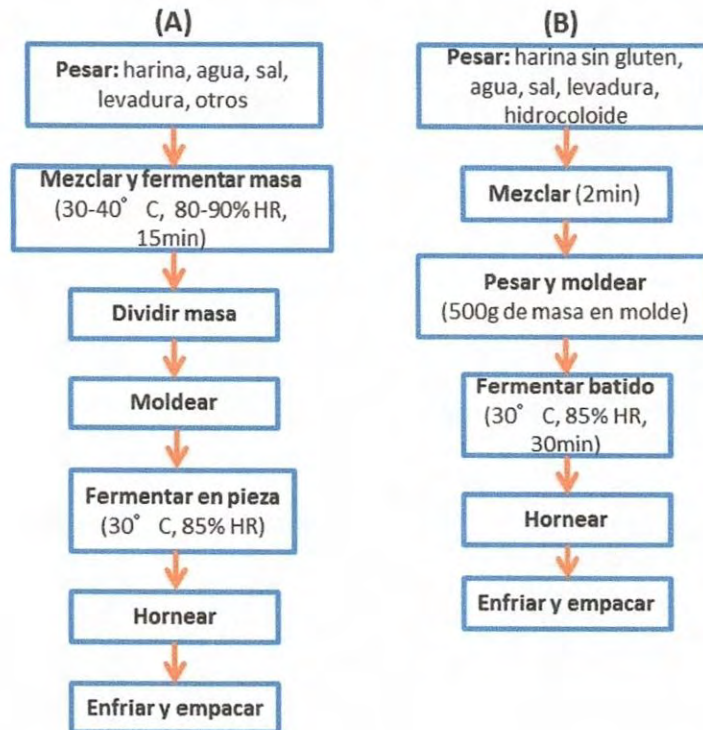
gluten para mejorar su potencial de panificación mediante el desarrollo y formación de la red proteica. Mencionan también, que la fuente de proteína es un elemento clave para determinar el impacto de la enzima.

Por otro lado, se ha demostrado que la modificación enzimática con transglutaminasa microbiana a las prolaminas del maíz, extraídas del pan sin gluten (Cabrera-Chavez et al., 2008; Cabrera-Chávez et al., 2009), producidos con el tratamiento enzimático, incrementó la reactividad de IgA de los celíacos, lo que alerta a los productores de alimentos de ese colectivo, a limitar el uso de esta enzima en panificación.

La glucosa oxidasa (EC 1.1.3.4) cataliza la oxidación de la glucosa con la presencia de oxígeno, en gluconolactona (que se convierte espontáneamente en ácido glucónico) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). La funcionalidad de la glucosa oxidasa en la masa de trigo, está relacionada con la producción de peróxido de hidrógeno que causa la oxidación de los grupos sulfidrilo libres de las proteínas del gluten para formar enlaces disulfuro, o la gelación de los pentosanos solubles en agua que cambia las propiedades reológicas de la masa de trigo (Hoseney y Faubion, 1981; Goesart et al., 2008).

Los mecanismos de oxidación de las proteínas y de gelación de los pentosanos del trigo, se utilizan también para explicar los cambios en la reología de las masas de harina de arroz, como lo hacen en su estudio Gujral y Rosell (2004b). El incremento que observaron en el módulo elástico y en el viscoso de la masa de harina de arroz, lo soportaron con la idea de la formación de una red artificial de proteína, que junto con el efecto de refuerzo que dan los pentosanos gelificados, dan forma a una estructura con funcionalidad muy parecida a la red de gluten.





**Figura 3.** Diagrama de flujo del proceso de pan de trigo (A) comparado con el proceso de pan sin gluten (B). Fuente: Adaptado de Arendt et al., (2008)



univariados para establecer los niveles de un ingrediente que defina a una característica de calidad (Carvalho de Moraes, et al. 2013). Debido al plan de la investigación de esta tesis, se aplicaron diseños de experimentos de factoriales univariados.

### **La Importancia de Medir la Calidad del Pan sin Gluten**

La calidad del pan es diversa en cuanto a gusto y costumbre del consumidor, ya que hay diferencia de opinión que se complementa con el tipo de pan, con el proceso y con la fórmula; todo en función a los antecedentes culturales y el gusto de cada individuo. Se adopta el término "pan" para describir una gama de productos de diferentes formas, tamaños, texturas, cortezas, colores, suavidad, cualidades culinarias y sabores (Cauvain, 2007).

Junto al gusto, el volumen y la textura del pan son los atributos fundamentales que influyen en la aceptación del consumidor de pan. El pan de trigo tiene una miga elástica, abierta, que no sólo es flexible, sino también de peso bajo. Un pan denso, con textura dura o quebradiza se percibe tanto como de mala calidad o como viejo.

A pesar del desarrollo tecnológico que produce alimentos sin gluten de mejor sabor y nutritivos (Mintel, 2013), y del aumento de su disponibilidad, las propiedades de vida útil aún son deficientes (Arendt et al., 2008). Esto se debe a la gran cantidad de almidón presente en la formulación y a la ausencia de gluten, lo que causa un aumento de la dureza de la miga y una disminución de la crujibilidad de la corteza (Gallagher et al., 2004).

Las características que determinan la calidad del pan suelen estar en tres grandes categorías: calidad externa, calidad interna y calidad comestible (Cauvain, 2007).

### Calidad externa

Entre los principales atributos que se evalúan en este apartado son las dimensiones del producto, el volumen, el color, y apariencia de la corteza.

Las dimensiones que se determinan en la mayoría de los panes son su longitud y altura, y los dispositivos para medirlas suelen ser simples e incluyen reglas graduadas o vernier y cintas métricas (Cauvain, 2007).

El método más común para evaluar el volumen del producto entero es mediante el desplazamiento de semillas. El aparato en cuestión por lo general consta de un recipiente de volumen conocido, que ha sido previamente calibrado con una semilla adecuada. El pan se introduce, la semilla cae y se mide el volumen desplazado sin comprimir la estructura del producto (AACC, 2001).

La apariencia externa del producto es a menudo un factor importante que atrae la mirada del consumidor, con este fin, cualquier evaluación de la calidad de este atributo puede llevarse a cabo mediante la comparación del producto con un estándar aceptado.

El color de la corteza se suele evaluar mediante técnicas de medición descriptiva. Se pueden utilizar cartas de color estándar sobre la superficie que quiere ser comparada, o bien, con el sistema de Munsell o la medición directa con instrumentos de tipo triestímulo. La presencia de defectos superficiales no deseados puede ser observado y se incluye como parte de la puntuación de la calidad del pan (Cauvain, 2007).

### Calidad interna

Las características de calidad interna se limitan normalmente a los tamaños, el número y distribución de las celdas de la miga (grano miga), el color de la miga y



los defectos de calidad más importantes como los agujeros no deseados o zonas densas, visibles en una sección transversal del producto.

Cada tipo de pan tiene requisitos especiales en cuanto a la estructura de las celdas y por lo tanto, no existe una norma única que se puede aplicar a todos los productos. Debido a esto, la evaluación subjetiva de la estructura de las celdas de miga sigue siendo el método más común utilizado con algún tipo de material de referencia estándar, tales como fotografías. La evaluación objetiva de la estructura de la miga, incluye la forma, el tamaño y la distribución de los poros, así como la porosidad global (Scanlon y Zghal, 2001).

Las técnicas que se emplean incluyen las fotografías digitales o escaneos, junto con el análisis de imágenes mediante programas de cómputo específicos que proporcionan datos cuantitativos sobre la estructura celular (Tsatsaragkou et al. 2012).

La textura se mide cuantitativamente mediante una máquina de ensayo universal Instron con la que se obtiene la firmeza y la elasticidad de la miga. Este método de medición está estandarizado y se publica en los métodos aprobados por la AACC International (AACC, 2001).

### Textura sensorial

La evaluación de la textura de la miga de pan tiene que ver con sus propiedades mecánicas, como la dureza y la elasticidad. La suavidad o dureza de la miga están estrechamente relacionadas con la percepción humana de la frescura.

En el proceso de comer, la fuerza en la boca debe ser lo suficientemente grande como para causar cambios irreversibles en las propiedades de la miga. Además de las grandes fuerzas de compresión y cizallamiento, la acción de la saliva y los



efectos mecánicos de los patrones de masticación son la base de un método de evaluación sensorial, que en conjunto con la fuerza aplicada con los dedos de la mano en la prueba de compresión, se describe al producto.

## **HIPÓTESIS**

La adición de hidroxipropil-metil-celulosa y de glucosa-oxidasa como únicos coadyuvantes de una formulación básica de pan de trigo, aumentará el volumen específico del pan sin gluten elaborado con una harina compuesta de arroz y de garbanzo cocido.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Obtener una formulación para pan sin gluten utilizando los ingredientes básicos de la panificación y una mezcla de harina de garbanzo cocido y harina de arroz con hidroxipropil-metil-celulosa y glucosa-oxidasa.

### **Objetivos Específicos**

- Obtener un sistema modelo sin gluten evaluando el efecto de la adición de una harina compuesta de harina de garbanzo cocido y harina de arroz, sobre la consistencia de la masa y el volumen específico del pan.
- Obtener el nivel de adición de coadyuvantes tecnológicos en el sistema modelo sin gluten evaluando su efecto sobre la consistencia de la masa y el volumen específico del pan.
- Determinar las características externas e internas de calidad del producto formulado.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materia Prima

Se utilizó como materia prima harina de arroz comercial y harina de garbanzo (grano de garbanzo *Cicer arietinum* comercial clase Blanco Sinaloa) obtenida en el laboratorio. Como coadyuvantes se utilizaron hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC) (H7509-250G Lot # 010M0149) y la enzima glucosa-oxidasa (GOx) (G7141-10KU tipo X-S de *Aspergillus niger* con 181,300 U/g de sólido) ambos de Sigma-Aldrich y de grado alimenticio. La levadura instantánea, la sal y el azúcar se adquirieron en el mercado local.

### Obtención de la Harina de Garbanzo

La obtención de la harina de garbanzo se llevó a cabo mediante un tratamiento térmico con el que se ha comprobado que se reducen los factores antinutricionales y se aumenta su digestibilidad y que se describe a continuación: Para el tratamiento térmico se tomó como base la metodología descrita por El-Adawy (2002) con algunas modificaciones: Se llevó a cabo previamente el lavado del grano con agua destilada (1:1 p/v), después se remojó en agua destilada (1:10 p/v) por 20 h y se drenó la fase líquida, posteriormente se llevó a cocción en agua destilada (1:10 p/v) a 100°C por 2 h desechándose el agua de cocción. Inmediatamente se le dio una trituración con un molino de discos estriados sin ajuste y la masa obtenida se llevó a un secador de túnel a 57°C ± 3 por 4 h.

La harina se obtuvo en un molino de cuchillas marca Thomas Wiley laboratory mill, modelo 4 (Thomas Scientific U.S.A.) a un tamaño de partícula de 2 mm que según la American Society for Testing and Materials (ASTM) es de malla No. 10, posteriormente en el mismo molino se redujo el tamaño de partícula a 1mm (malla No. 18, ASTM). La harina se almacenó en bolsas de polietileno por 12 h a 25°C, después se refrigeró a 4°C, y 24 h antes de su utilización se atemperaron a temperatura ambiente (25°C).

A las harinas de arroz y de garbanzo cocido, se les determinó la distribución del tamaño de partícula por tamizado mecánico (Rotachoc, Tripette et Renaud, Villeuneuve La Garenne, Francia).

### **Obtención de las Harinas Compuestas**

Al comparar las publicaciones disponibles de usos de harinas en formulaciones de panes sin gluten, se evidencia un rango amplio de mezclas de harina de arroz con harinas de quenopodiáceas y amarantáceas, de leguminosas, de almidones de cereales y tubérculos (nativos y modificados térmicamente), así como coadyuvantes con efectos divergentes (Tabla 1). Por lo tanto, para investigar en un sistema modelo sin gluten la influencia de dos coadyuvantes; el hidrocoloide hidroxipropil-metil-celulosa(HPMC) y la enzima glucosa-oxidasa(GOx), en este estudio se utilizaron las proporciones de harina de garbanzo cocido y harina de arroz indicadas en la Tabla 2, con la finalidad de proponer una nueva formulación que mejore las características internas y externas del producto. Cada mezcla tuvo la proporción relativa de los dos componentes que dio como resultado 100% (Cornell, 2002).



**Tabla 2.** Proporciones de las Harinas Arroz: Garbanzo para cada Mezcla

<b>Nomenclatura de la harina</b>	<b>Harina de garbanzo cocido (%)</b>	<b>Harina de arroz (%)</b>
<b>0/100</b>	0	100
<b>15/85</b>	15	85
<b>30/70</b>	30	70
<b>45/55</b>	45	55
<b>60/40</b>	60	40
<b>75/25</b>	75	25
<b>100/0</b>	100	0

Las mezclas de harinas se elaboraron mediante agitación continua en un recipiente cerrado durante 1 minuto. Cada harina compuesta se empacó en bolsas de polietileno, posteriormente se refrigeraron a 4°C y se mantuvieron 24 h a temperatura ambiente (25°C) previa a su utilización.

## **Caracterización Fisicoquímica de las Harinas Compuestas**

### **Análisis Químico Proximal**

La caracterización química de las harinas de arroz y garbanzo, se llevó a cabo mediante los métodos oficiales de la AACC (2001):

- Humedad. Método 44-40
- Cenizas. Método 08-01
- Lípidos. Método 30-25
- Proteínas. Método 46-10, donde el valor del factor de corrección para el nitrógeno proteico, fue de 5.99 en la harina de arroz y 6.25 en la harina de garbanzo.

### **Capacidad de Absorción de Agua**

Para determinar la capacidad de absorción de agua (CAA) se siguió el método empleado por Carcea-Bencini (1986) con modificaciones. Se tomó 1g de harina compuesta y se agitó en un agitador Shaker Wrist Action modelo 75 (Burrell, U.S.A.) por 30min a 25°C con 15mL de agua destilada, después se centrifugó a 11,000 X g por 20min (centrifuga Sorval Biofuge Stratos Centrifuge, Thermo Fisher Scientific, U.S.A.). El sobrenadante se decantó y el residuo se pesó en una balanza Explorer OHAUS (OHAUS Co. Switzerland). Los gramos de agua absorbida se obtuvieron calculando la diferencia de peso entre el residuo húmedo



menos el peso inicial de la muestra. Se siguió el mismo procedimiento para las mezclas de harinas con HPMC al 2 y 4%.

### **Propiedades Térmicas**

Las características térmicas de los almidones contenidos en las harinas, se obtuvieron en condiciones de exceso de humedad (200 % del peso de la harina) por medio de calorimetría diferencial de barrido. Se pesaron entre 15 a 20 mg de muestra en recipientes de acero inoxidable (Perkin Elmer Instruments LLC, Shelton, Connecticut, EE.UU.), se añadió el agua destilada con una microjeringa y se sellaron herméticamente con una prensa KBr Quick Press de Perkin-Elmer. El recipiente con la muestra y un recipiente vacío como referencia, se colocaron en la celda del calorímetro DSC-8000 de Perkin Elmer, que se purgó con gas nitrógeno. La calibración del equipo se realizó con indio. Las muestras se mantuvieron a 25°C durante un minuto antes de calentar a 110°C a una velocidad de calentamiento de 10° C/min. El flujo de calor se registró en mW y se representó frente a la temperatura. La temperatura de inicio ( $T_o$ ), la temperatura pico ( $T_p$ ), la temperatura final ( $T_f$ ) y la entalpía de gelatinización ( $\Delta H$ ) se calcularon automáticamente por medio del programa de cómputo integrado al equipo (Thermal Analysis Pyris software versión 10.1.0.0412).

### **Etapas I. Obtención del Sistema Modelo sin Gluten**

Primero se obtuvo el sistema modelo sin gluten, compuesto de una mezcla de harina de garbanzo cocido y de harina de arroz, utilizando los ingredientes de una formulación básica de pan de trigo, es decir, harina, agua, levadura, sal y azúcar (Tabla 3). Para seleccionar el contenido de agua, se realizaron experimentos

preliminares de prueba y error, variando los niveles de adición de agua en ensayos de panificación. Se midió la consistencia farinográfica de la masa semilíquida y se evaluó el volumen específico del pan. La base de la selección del contenido de agua en la formulación fue la producción de una masa semilíquida homogénea y coalescente, considerándose también el volumen específico del pan.

### **Obtención del Pan sin Gluten**

El procedimiento fue el siguiente: Se colocaron 300 g de la harina compuesta, elegida aleatoriamente, con 3% de levadura (base harina) dentro del recipiente de la mezcladora KitchenAid modelo Classic (max watt250, St. Joseph Michigan U.S.A.), se mezclaron a velocidad 1 por 1 min, posteriormente se agregó el volumen de agua necesario para obtener una masa homogénea y coalescente, que de acuerdo a los ensayos de panificación preliminares fue de 190%. El 2% de sal y el 6% de azúcar (base harina) fueron disueltos previamente en el volumen de agua antes de su adición en la mezcladora.

El tiempo de mezclado (también determinado en los ensayos preliminares) se distribuyó entre tres velocidades de mezclado: por 3 min a la velocidad 1, a continuación 1 min a la velocidad 3 y posteriormente se aumentó la velocidad a 6 por 3 min, dando un total de 7 min de tiempo de mezclado. Se pesaron 500 g de la masa obtenida y se le midió la consistencia farinográfica después de 5 min de mezclado en el farinógrafo Brabender (Gujral et al., 2003), después la masa total se dividió en 3 porciones iguales de 285 g, que se colocaron en moldes de 500 cm<sup>3</sup>.



**Tabla 3. Ingredientes Utilizados en las Formulaciones para Seleccionar el Sistema Modelo sin Gluten**

<b>Ingrediente</b>	<b>0/100</b>	<b>15/85</b>	<b>30/70</b>	<b>45/55</b>	<b>60/40</b>	<b>75/25</b>	<b>100/0</b>
<b>HGC (g)</b>	0	45	90	135	180	225	300
<b>HA (g)</b>	300	255	210	165	120	75	0
<b>Agua (ml)</b>	570	570	570	570	570	570	570
<b>Levadura (g)</b>	9	9	9	9	9	9	9
<b>Sal (g)</b>	6	6	6	6	6	6	6
<b>Azúcar (g)</b>	18	18	18	18	18	18	18

Los ingredientes expresados en porcentaje base harina (en peso) son: HGC/HA: 100%, agua: 190%, levadura: 3%, sal: 2%, azúcar: 6%.

La fermentación de la masa se llevó a cabo en una cámara de temperatura y humedad relativa controlada de 30°C y 80%, respectivamente. La cocción se realizó a 195°C por 45 min (Cabrera-Chávez et al. 2009) en un horno de gas Carcamo modelo compactos Z-X Carcamo.

Los panes sin gluten se enfriaron a temperatura ambiente por 1 h, para a continuación pesarlos en una balanza analítica y medirles el volumen usando el equipo de desplazamiento de semilla de nabo. Con estos dos datos se calculó el volumen específico de la pieza usando la fórmula: volumen específico (cm<sup>3</sup>/g) = volumen / peso. Las harinas compuestas que produjeron panes con mayor volumen específico se seleccionaron como los sistemas modelos sin gluten, con los que se estudió la influencia de los dos coadyuvantes sobre la consistencia farinográfica y el volumen específico del pan, como se describe en las dos secciones siguientes.

### **Efecto del HPMC en la CAA de las Harinas, en la Consistencia Farinográfica de la Masa y en el Volumen Específico del Pan sin Gluten**

El hidrocoloide HPMC se cree que mantiene la homogeneidad de una masa (batido) sin gluten debido a su afinidad, tanto por la fase acuosa como en la no acuosa, y que proporciona estabilidad a las celdas de gas durante la cocción dando panes con volumen específico alto (Schober, 2009), por lo que, se probó su influencia en el sistema modelo sin gluten HGC/HA. Con base en los estudios disponibles sobre el efecto del HPMC en la calidad del pan sin gluten (Tabla 1), se seleccionaron dos niveles, 2 y 4 % (base harina).

Se determinó su efecto sobre la capacidad de absorción de agua (CAA) de las harinas compuestas 15/85, 30/70 y 45/55 basados en el método de Carcea-Bencini (1986) anteriormente descrito.

Después, se procedió a determinar su influencia sobre la consistencia farinográfica de la masa y en el volumen específico del pan, siguiendo el procedimiento descrito en el apartado para obtener el sistema modelo sin de gluten. El hidrocoloide en polvo se agregó con la harina. De acuerdo a la información del fabricante (Sigma-Aldrich), el hidrocoloide tiene un peso molecular de aproximadamente 86 kDa y un contenido de metoxilo de 28-30% y de hidroxipropilo de 7 a 12%. Se seleccionó el nivel de HPMC que produjo el pan con el volumen específico más alto, para que formara parte de los ingredientes de la formulación de un pan sin gluten de HGC/HA.

### **Efecto de la Enzima Glucosa-oxidasa en la Consistencia Farinográfica de la Masa y en el Volumen Específico de una Formulación**

Se seleccionó un nivel de adición de la enzima GOx, 0.016 % en base harina, a las formulaciones 15/85 con 2% y 4% de HPMC que produjeron panes con volumen específico alto, para determinar su influencia en la consistencia de la masa y en el volumen específico del pan. Se procedió de acuerdo a lo descrito en el apartado para obtener el sistema modelo sin gluten. La enzima en polvo se agregó junto con la harina.

La formulación seleccionada fue aquella que produjo el pan con el volumen específico más alto, y fue el producto que se utilizó en la siguiente etapa del estudio, para obtener una descripción de algunas de sus características externas e internas de calidad.



Con el fin de comprobar la contaminación probable del producto seleccionado, se cuantificó el gluten usando el ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas (ELISA), con el kit RIDASCREEN® Gliadin (Art. No. R7001), validado y certificado con licencia No. 120601 de la AOAC (2013), como lo recomienda el Codex Alimentarius.

## **Etapas II. Descripción de las Características Externas e Internas del Pan sin Gluten Formulados con HGC/HA**

En esta etapa del estudio, se utilizaron técnicas instrumentales y sensoriales para obtener una descripción de las características externas e internas del pan sin gluten formulado con HGC/HA y con HPMC. Se hicieron tres experimentos independientes con tres panes cada uno.

Las características externas que más a menudo se evalúan son las dimensiones, el volumen, la apariencia, el color y la formación de la costra o corteza del producto. Las características internas que generalmente interesan son el tamaño, número y distribución de las celdas de la miga (grano de la miga), el color de la miga y cualquier defecto de calidad, entre los que se encuentran los agujeros no deseados o parches densos visibles en un corte transversal del producto (Cauvain, 2007).

### **Estructura de la Miga de Pan**

Se llevó a cabo una observación y la cuantificación de la distribución de las celdas de gas de la miga del pan o grano de la miga. Para evaluar el grano de la miga, se cortó una rebanada de un centímetro de espesor, del centro de la barra de pan, de manera que se usaron 9 rebanadas en total. Las imágenes de las

rebanadas se capturaron utilizando un escáner plano (HP Scanjet 4370, HewlettePackard, EUA), en el formato TIFF estándar. El análisis de las imágenes de las rebanadas de pan se llevó a cabo utilizando el software de análisis de imagen Quantity One versión 4.5.2 1-D de Bio-Rad, seleccionando un área de 2 x 2 cm. Los valores obtenidos en píxeles, se convirtieron a centímetros mediante el uso de valores conocidos de longitud. Se determinó el área de los poros con el que se obtuvo la porosidad de la superficie ( $\epsilon_s$ ), usando la ecuación,  $\epsilon_s = \text{área de poros} / \text{área total (2 x 2 cm)}$  (Tsatsaragkou et al. 2012)

### **Dureza de la Miga**

La dureza de la miga se midió con el método 74-09 de la AACC (2001), en un texturómetro Instron modelo 4465 equipado con una celda de carga de 50 N. Una rebanada de 3 cm de espesor se comprimió a 30% de su altura inicial con una sonda de 3 cm de diámetro que bajó con una velocidad de 100 mm/s. La lectura de la fuerza (en kilogramos fuerza = Kgf), expresó la resistencia de la miga a la penetración de la sonda y representó la dureza de la miga. Esta evaluación se realizó después de 2 h de haberlo sacado del horno. Como se realizaron tres experimentos independientes con la formulación obtenida en la primera etapa del estudio, con tres panes cada uno, se midió la textura a nueve rebanadas.

### **Actividad de Agua**

La actividad de agua es un parámetro que refleja la forma en que el agua está unida a la estructura interna del alimento y a la forma en que interactúa con sus componentes (Figura y Teixeira, 2007). La actividad de agua se midió a 25°C usando un equipo Hygrolab 3 con un detector AwVC-DIO/OF y el software



Rotronic HW3, después de 2 h de sacado del horno. El análisis se llevó a cabo en muestras obtenidas de la corteza y de partes diferentes de la miga del pan. Inmediatamente antes de medir la actividad de agua, todas las muestras se dividieron en trozos pequeños. Las muestras se analizaron por triplicado para cada barra de pan obtenido de cada experimento.

### **Color**

La determinación del color se llevó a cabo en la corteza y la miga usando un colorímetro marca Minolta CR-10, equipado con un iluminante estándar D65. Se registraron los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  en cada muestra usando la posición  $10^\circ$  del observador estándar. El valor  $L^*$  es la luminosidad que varía desde 100 para el blanco perfecto a cero para el negro, mientras que  $a^*$  y  $b^*$  son los valores de la cromaticidad, + enrojecimiento/- verdor y + amarillez/- azulado, respectivamente. El color se midió 2 horas después de la cocción.

### **Análisis Sensorial de la Textura**

El análisis sensorial que se llevó a cabo es del tipo descriptivo. El panel estuvo formado por 10 panelistas escogidos al azar (7 hombres y 3 mujeres) con un rango de edades de 24 a 35 años. Se invirtió un tiempo de 8 h para entrenarlo en la percepción de los atributos de la textura sensorial del pan.

Durante el entrenamiento, se discutieron los atributos de dureza, elasticidad, cohesión y adhesividad, definidos por Setser en 1993 y citados por Carson y Sun (2001), con panes de trigo de marca comercial como referencia, situados enfrente de cada persona, en una mesa redonda y con iluminación normal. Los atributos de textura y las definiciones sensoriales correspondientes utilizados en el



entrenamiento y en la evaluación de la textura sensorial del pan se muestran en la Tabla 4.

Para el análisis de las muestras de pan sin gluten formulado con HGC/HA y HPMC del estudio, la miga de pan cortada en un cuadrado de 3 cm de lado, se presentó al panelista con una letra asignada aleatoriamente. Los panelistas probaron la dureza, elasticidad, cohesión y adherencia de las muestras de pan en comparación con el pan de arroz comercial sin gluten, y marcaron sus respuestas en una línea recta estructurada con una escala de 1-15 cm, como la que se muestra en la figura 2. Entre cada muestra el juez se enjuagó la boca con agua.

## **Diseño de Experimentos**

### **Etapa I. Obtención del sistema modelo sin gluten**

#### Obtención del Pan sin Gluten

Para obtener el pan sin gluten, se empleó un experimento de una variable: proporción de harina de garbanzo cocido (HGC)/harina de arroz (HA) en una formulación básica de pan de trigo. Para que la respuesta dependa únicamente de la proporción relativa de los componentes de la mezcla de harinas (levadura, agua, azúcar y sal) se fijaron a las cantidades que se explicaron en la Tabla 3, por lo que, el experimento consistió de siete tratamientos: 0/100, 15/85, 30/70, 45/55, 60/40, 75/25, 100/0. Como variables respuesta se midieron la consistencia farinográfica de la masa y el volumen específico del pan, pero fue ésta última, la variable que determinó la selección de la formulación del sistema modelo sin gluten. Cada tratamiento se repitió tres veces, por lo que se tuvieron veintiuna unidades experimentales, a las que se les asignaron los tratamientos de una manera completamente al azar.

**Tabla 4.** Atributos de textura y las definiciones sensoriales correspondientes que se utilizaron en la evaluación del pan

<b>Atributos de textura</b>	<b>Definición sensorial</b>
<b>Dureza</b>	Se analiza en la primera mordida: grado de fuerza requerida por los molares para penetrar la muestra.
<b>Elasticidad</b>	Se analiza entre el dedo pulgar y el índice: velocidad y % de recuperación con que la muestra vuelve al tamaño y a la forma originales, después de la compresión parcial entre los dedos.
<b>Cohesión</b>	Se analiza durante la masticación: grado en el que la masa se mantiene unida en el punto más extremo del proceso de masticación
<b>Adhesividad</b>	Se analiza después de la compresión entre la lengua y el paladar: grado en el que el producto se adhiere al paladar

### Obtención del nivel de HPMC en la formulación para pan sin gluten

Considerando el resultado del experimento anterior y para obtener el nivel del hidrocoloide en la formulación, se eligió un experimento factorial de dos vías, cuyas variables experimentales fueron:

- Proporción de harina de garbanzo cocido (HGC)/harina de arroz (HA) en una formulación básica de pan de trigo, con tres niveles: 15/85, 30/70, 45/55.
- Concentración de HPMC con dos niveles: 2 y 4 % (base harina).

Por lo que resultó un experimento con seis tratamientos. Además de las variables respuesta que se midieron en el experimento anterior, se obtuvo también, el efecto del hidrocoloide sobre la capacidad de absorción de agua de las harinas, pero una vez más, el volumen específico del pan, fue la variable que determinó la selección del nivel de HPMC en la formulación para pan sin gluten. Cada tratamiento se repitió tres veces, por lo que se tuvieron dieciocho unidades experimentales, a las que se les asignaron los tratamientos de una manera completamente al azar.

### Efecto de la Enzima Glucosa-oxidasa (GOx) en la Formulación para Pan sin Gluten con HPMC

Para conocer el efecto de la enzima GOx en la formulación para pan sin gluten con HPMC, se llevó a cabo un experimento factorial de dos vías, cuyas variables experimentales fueron:

- Proporción de harina de garbanzo cocido (HGC)/harina de arroz (HA) en una formulación básica de panificación e HPMC, con dos niveles: 15/85 más 2% de HPMC y 15/85 más 4% de HPMC.



- Concentración de GOx con un nivel: 0.016 % (base harina)

Por lo que resultó un experimento con dos tratamientos. Como variables respuesta se midieron la consistencia farinográfica de la masa y el volumen específico del pan, pero fue ésta última, la variable que determinó la selección de la formulación del pan sin gluten. Cada tratamiento se repitió tres veces, por lo que se tuvieron seis unidades experimentales, a las que se les asignaron los tratamientos de una manera completamente al azar.

## **Etapa II. Descripción de las características externas e internas del pan sin gluten formulado con HGC/HA**

Las variables respuesta que describieron las características externas e internas del pan sin gluten, elaborado con la formulación que se obtuvo en la etapa 1, se obtuvieron con tres repeticiones independientes. Se midieron: la dureza de la miga a las 2 horas de haber salido del horno, la actividad de agua y el color de la miga y la corteza. Se midió también la proporción de la superficie ocupada por las celdas de gas en la miga del pan.

El experimento para describir la textura sensorialmente, se realizó con un panel entrenado de ocho personas y con tres repeticiones. Las variables respuesta fueron dureza, elasticidad, cohesión y adhesividad.

## **Análisis de los Resultados**

Para saber si las diferencias entre las respuestas se debieron a los diferentes tratamientos se efectuó un análisis de varianza. Para el experimento de una sola variable experimental, si el valor de P para los tratamientos fue menor que 0.05,

probablemente fue porque por lo menos dos tratamientos difirieron significativamente y de ese modo se demostró que los tratamientos tuvieron un efecto sobre la variable de respuesta.

Para los experimentos factoriales, se vio si los efectos de un factor dependieron de los niveles del otro factor, observando el valor de P de las interacciones, que debió ser menor que 0.05.

En todos los casos, el nivel de las diferencias se obtuvo por medio de la prueba de comparación de las medias de Tukey. Todos estos análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico JMP versión 5.0.1.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Características de las Harinas**

#### **Tamaño de Partícula**

La distribución del tamaño de partícula de las harinas se determinó por tamizado mecánico (Rotachoc, Tripette et Renaud, Villeuneuve La Garenne, Francia) en tres fracciones: a > 250 micras; 250 micras < b <150 micras; c < 150 micras, y presentó diferencias entre las dos harinas. El 36% de la harina de garbanzo cocido (HGC) mostró un tamaño > 250 micras mientras que el 46% de la harina de arroz (HA) perteneció a esta fracción de tamaño. Además, en la HA se observó aproximadamente el doble de la proporción de la fracción de tamaño más pequeño (< 150 micras).

El rendimiento de la harina de garbanzo cocido (HGC) fue del 80%, debido a que durante el secado, además de evaporar el agua, el aire del ventilador también se llevó consigo el material más liviano.

#### **Contenido Químico Proximal y Capacidad de Adsorción de Agua de las Harinas Compuestas**

A la HA, HGC y a todas las harinas compuestas (15/85, 30/70, 45/55, 60/40, 75/25) se les determinó proteína, grasa cruda, ceniza y humedad mediante los métodos oficiales de la AACC (2001), el contenido de hidratos de carbono se obtuvo por diferencia de composición y la capacidad de absorción de agua (CAA)



se determinó por el método implementado por Carcea-Bencini (1986), estos resultados se muestran en la Tabla 5.

El aumento de la proporción de harina de garbanzo en la mezcla HGC/HA, incrementó el contenido de proteína, de grasa cruda, de cenizas, y la capacidad de absorción de agua, mientras que disminuyó el contenido de humedad y de hidratos de carbono.

El contenido de proteína (N x 6.25) de la HGC fue de  $20.41 \pm 0.39$  g/100g peso seco, que fue menor que el reportado por El-Adawy en el 2002 ( $23.21 \pm 0.36$  g/100g peso seco), sin embargo, Klamczynska et al. (2001) detectaron un rango de contenido proteico en garbanzo (*Cicer arietinum*) de 20.8 a 25.6% y explican que el contenido de proteína en semillas de leguminosas puede ser significativamente diferente entre cada cultivo.

Fue evidente que el contenido de proteína de la harina de arroz (HA) es menor que la de garbanzo cocido (HGC), con  $7.49 \pm 0.35$  g/100g peso seco, pero coincide con los encontrados en la literatura (Ronda et al., 2013).

El garbanzo es una fuente importante de proteínas y contienen altas cantidades de leucina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico y arginina, y proporciona un perfil de aminoácidos esenciales bien balanceado cuando se consume con cereales y otros alimentos ricos en aminoácidos que contienen azufre y triptófano. Aparte de sus propiedades nutricionales, las proteínas del garbanzo también poseen propiedades funcionales importantes en la formulación y elaboración de alimentos (Roy et al 2010 ; Boye et al 2010). Por otro lado, la FAO (2004) informó que el perfil de aminoácidos del arroz indica que presenta altos contenidos de glutámico y aspártico, en tanto que la lisina es el aminoácido limitante.

**Tabla 5.** Contenido Químico Proximal (base seca) y Capacidad de Absorción de Agua (CAA) de las Harinas Compuestas de Garbanzo Cocido/Arroz\*

Harina garbanzo cocido/harina arroz (%/%)	Proteína (%)	Grasa cruda (%)	Cenizas (%)	Humedad (%)	Hidratos de carbono (%)	CAA (g H <sub>2</sub> O/g harina)
0/100	7.49±0.35	0.01±0.00	0.47±0.02	10.65±0.02	81.38	1.24±0.05
15/85	9.43±0.34	1.01±0.02	0.66±0.02	9.58±0.02	79.32	1.43±0.08
30/70	11.37±0.20	2.01±0.03	0.85±0.01	8.51±0.02	77.26	1.58±0.15
45/55	13.31±0.14	3.00±0.48	1.03±0.02	7.44±0.00	75.22	1.84±0.11
60/40	15.25±0.15	4.00±0.06	1.22±0.04	6.37±0.02	73.16	1.99±0.03
75/25	17.18±0.23	5.00±0.07	1.41±0.05	5.29±0.10	71.12	2.26±0.06
100/0	20.41±0.39	6.67±0.09	1.72±0.08	3.51±0.02	67.69	2.66±0.10

\* Todos los valores son promedios de determinaciones por triplicado ± la desviación estándar. Los hidratos de carbono se calcularon por diferencia. CAA es la capacidad de absorber agua.



El-Adawy (2002) obtuvo  $6.22 \pm 0.09$  g/100g de grasa cruda en HGC, que es similar a lo obtenido en el presente trabajo ( $6.67 \pm 0.009$  g/100g), sin embargo, el contenido de grasa cruda obtenido por Marco y Rosell (2008b) en HA fue de 0.9%, que es mayor al obtenido en este estudio (0.01 g/100 g), esto puede ser debido a que existen diferencias entre un cultivo y otro, que dependen del tipo de fertilización, del tipo de suelo, de la época de cosecha, entre otros factores (Rautaray, et al., 2003).

El contenido de cenizas en la HGC fue de 1.72 g/100g; este resultado muestra una diferencia de 1.8% con los obtenidos por El-Adawy (2002) de  $3.52 \pm 0.07$  g/100 g. Esta diferencia puede deberse al tratamiento de remojo previo a la cocción, que cambió el contenido de cenizas en la matriz del grano por la lixiviación de los minerales. En este parámetro químico se obtuvo  $0.47 \pm 0.02$  g/100g que fue similar al obtenido por Gujral et al. 2003 de 0.57 g/100g. El garbanzo también es una buena fuente de minerales biodisponibles, como Fe, Zn y Se (Thavarajah y Thavarajah, 2012 ).

La HA aportó hidratos de carbono a la mezcla de acuerdo a su proporción, por lo que la harina compuesta por 15/85 HGC/HA, tuvo 79.32 g/100g de este componente. La harina de arroz contiene aproximadamente 78 g/100g de almidón (Hager y Arendt, 2013). El polisacárido más abundante en la harina de arroz es el almidón, y un aumento de su concentración en las harinas compuestas con HGC, puede favorecer la formación de la miga en el pan sin gluten.

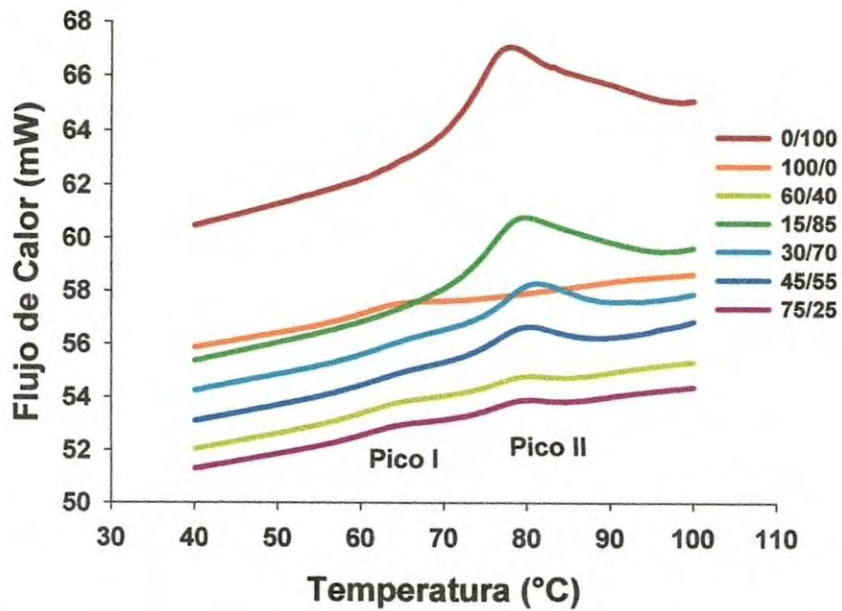
La CAA se define como la capacidad de retener el agua físicamente contra la gravedad (Kinsella, 1979) y se expresa como la cantidad de agua que se absorbe por gramo de muestra. La CAA de las harinas es una propiedad funcional muy importante en panificación, y se dice que una alta CAA permite a los panaderos



agregar más agua a la masa, lo que mejora el mantenimiento de la frescura del pan (Sluimer, 2005). En la tabla 8 se observa que hubo diferencias significativas entre cada una de las harinas compuestas ( $p < 0.05$ ). Al aumentar el contenido de harina de garbanzo, se aumentó la absorción de agua. Este efecto podría deberse a las diferencias físicas estructurales de las harinas, tales como la porosidad de la harina de garbanzo cocido que permite un mayor atrapamiento del fluido (Catsimpoolas y Meyer, 1970) que la harina de arroz crudo; o, a que en la leguminosa hay una exposición de más subunidades o residuos de aminoácidos con mayor capacidad de interaccionar con el agua, como resultado de la desnaturalización (Paredes-López et al. 1991; Milán-Carrillo et al. 2002). También, el almidón gelatinizado y dañado por el procesamiento térmico y la molienda de la leguminosa, pudieron ser causantes de los incrementos en la capacidad de retención del agua (Aguilera et al., 2009). Debido a la gran cantidad de almidón en las harinas compuestas, la influencia que tiene la poca absorción de los gránulos intactos de la harina de arroz, también es notable.

### **Entalpía y Rango de Temperaturas de Gelatinización**

Por medio de calorimetría diferencial de barrido se obtuvieron las características térmicas de los almidones contenidos en las harinas, en condiciones de exceso de humedad. El almidón de la HGC y de la HA, mostró un pico endotérmico bien definido (Figura 4), característico de cada fuente de almidón. Las temperaturas de gelatinización coincidieron con los valores de 60 a 68 °C para garbanzo (Miao et al., 2009; Rouzaud-Sández 2012); y de 75 a 82°C para el arroz (Ojeda et al., 2000; Rouzaud-Sández 2012), mientras que el área del pico endotérmico de la



**Figura 4.** Termogramas de la gelatinización del almidón de las harinas de garbanzo cocido (100/0), de arroz (0/100) y harinas compuestas (15/85, 30/70, 45/55, 60/40, 75/25)

gelatinización en la HGC fue pequeño, indicando que después de la cocción del garbanzo a ebullición, quedo muy poco almidón sin gelatinizar.

En todas las harinas compuestas, se detectaron dos picos endotérmicos, excepto en la mezcla 15/85 garbanzo/arroz. El pico I que se expuso entre 64 y 65 °C y el pico II que se presentó entre 77 y 80°C, se asociaron a la gelatinización del almidón del garbanzo y del arroz, respectivamente. En la Tabla 6 están las temperaturas ( $T_o$ ,  $T_p$ ,  $T_f$  y  $\Delta T$ ) y las entalpías de la gelatinización ( $\Delta H$ ) de los almidones de las harinas estudiadas.

Los valores de  $\Delta H$  del almidón de garbanzo (0.02- 0.37 J/g) fueron más pequeños que los del almidón de arroz (5.26-0.34 J/g). Estas diferencias se pueden atribuir a que en la harina de arroz crudo, la estabilidad de la estructura cristalina del almidón es mayor y hace al gránulo más resistente a la gelatinización.

En general, el rango de las temperaturas de gelatinización ( $\Delta T = T_f - T_o$ ), correspondiente al almidón de la HGC también fue menor que el de la HA, sin embargo, en la mezcla 60/40 el almidón de garbanzo tuvo el valor más alto, mientras que en el almidón de arroz, este rango de temperatura fue disminuyendo en las mezclas con menor proporción de HA.

Tanto el rango de las temperaturas de gelatinización como el cambio de entalpía obtenidos en el calorímetro diferencial de barrido, reflejan el grado de perfección cristalina de los gránulos de almidón (Singh et al 2004); y la transformación de esos gránulos se altera por la presencia de sustancias que pueden competir por el agua disponible (Eliasson, 1983). Los enunciados anteriores ayudan a explicar los resultados de las características térmicas de los almidones en las harinas compuestas.



**Tabla 6.** Entalpía y Temperaturas de Gelatinización de los Almidones de las Harinas Compuestas de Garbanzo Cocido/Arroz en Exceso de Agua\*

Harina garbanzo cocido/ harina arroz (%/%)	Pico I				Pico II					
	To (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)	$\Delta T$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)	To (°C)	Tp (°C)	Tf (°C)	$\Delta T$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
0/100	-	-	-	-	-	62.00 <sup>b</sup>	77.57 <sup>b</sup>	98.52 <sup>a</sup>	36.52 <sup>a</sup>	5.26 <sup>a</sup>
15/85	ND	ND	ND	ND	ND	60.00 <sup>b</sup>	79.14 <sup>a</sup>	96.02 <sup>a</sup>	36.02 <sup>a</sup>	4.29 <sup>b</sup>
30/70	60.58 <sup>b</sup>	65.33 <sup>a</sup>	68.03 <sup>c</sup>	7.45 <sup>c</sup>	0.02 <sup>c</sup>	71.73 <sup>a</sup>	80.66 <sup>a</sup>	92.25 <sup>b</sup>	20.52 <sup>b</sup>	1.37 <sup>c</sup>
45/55	59.89 <sup>b</sup>	65.13 <sup>a</sup>	70.00 <sup>b</sup>	10.11 <sup>b</sup>	0.04 <sup>c</sup>	70.89 <sup>a</sup>	79.50 <sup>a</sup>	90.79 <sup>b</sup>	19.90 <sup>b</sup>	1.20 <sup>c</sup>
60/40	56.87 <sup>c</sup>	64.29 <sup>a</sup>	69.56 <sup>b</sup>	12.69 <sup>a</sup>	0.12 <sup>b</sup>	71.35 <sup>a</sup>	79.47 <sup>a</sup>	86.45 <sup>c</sup>	15.1 <sup>c</sup>	0.32 <sup>d</sup>
75/25	57.34 <sup>c</sup>	64.26 <sup>a</sup>	68.24 <sup>c</sup>	10.90 <sup>b</sup>	0.12 <sup>b</sup>	70.94 <sup>a</sup>	79.40 <sup>a</sup>	85.14 <sup>c</sup>	14.2 <sup>c</sup>	0.34 <sup>d</sup>
100/0	62.72 <sup>a</sup>	64.38 <sup>a</sup>	72.58 <sup>a</sup>	9.86 <sup>b</sup>	0.37 <sup>a</sup>	-	-	-	-	-

\* Los valores en las columnas marcados con la misma letra no difieren significativamente. Todas las mediciones son valores medios de determinaciones por triplicado. Pico I, gelatinización del almidón de garbanzo; Pico II, gelatinización del almidón de arroz. To = Temperatura de inicio, Tp = Temperatura máxima, Tf = Temperatura final,  $\Delta T$  = To - Tf y  $\Delta H$  = entalpía de gelatinización, ND = no detectado.

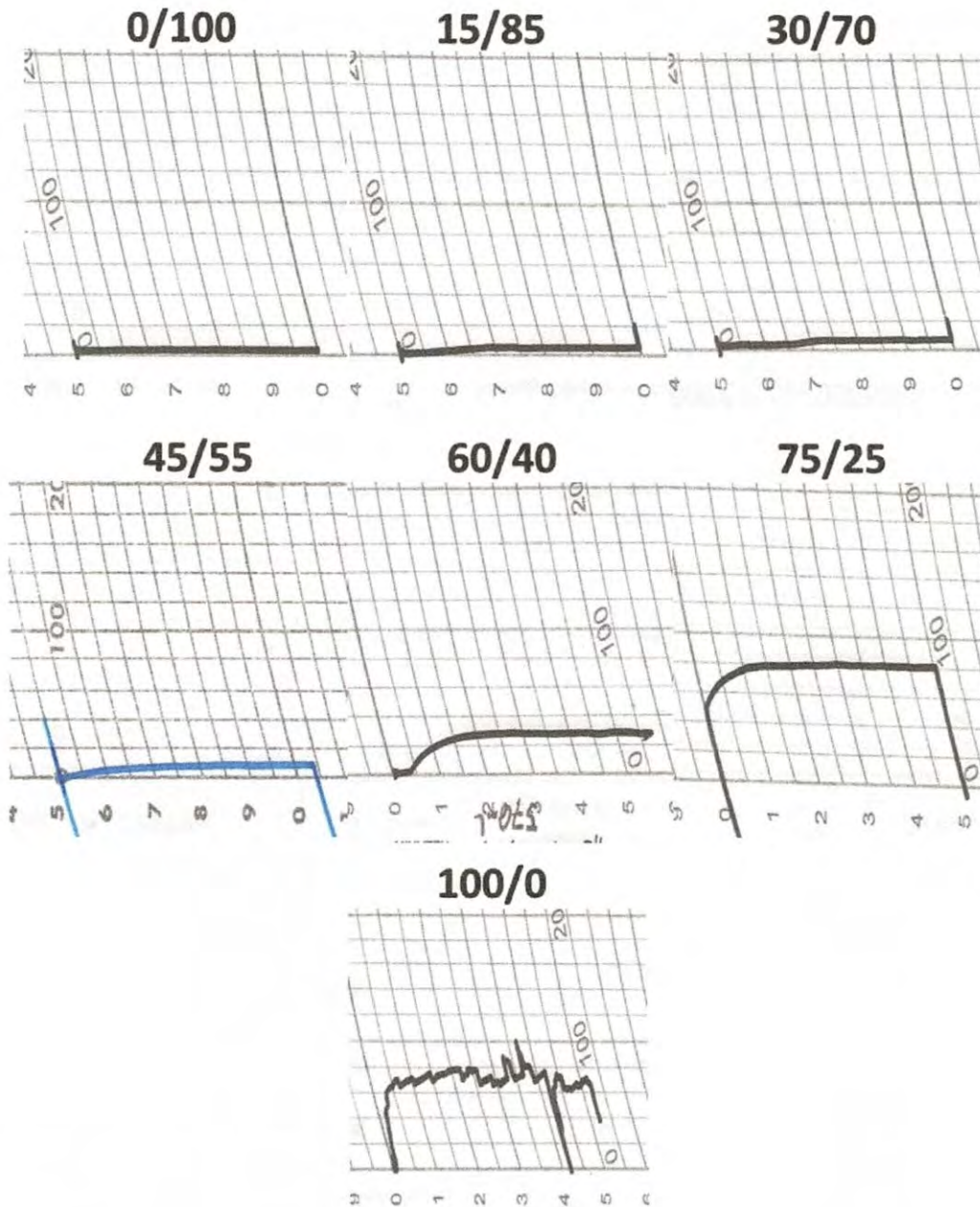
## **Etapa I. Obtención de una Formulación para Pan sin Gluten**

Una vez conocidas las características fisicoquímicas propias de la HGC y de la HA y sus mezclas, se procedió a determinar su comportamiento durante el desarrollo de la masa sin gluten y su influencia en el volumen específico del pan. A continuación, se describen primero los resultados para la selección de las mezclas que se utilizaron como sistemas modelo sin gluten, después, se muestran las observaciones que mostraron el efecto de dos niveles de adición del hidrocoloide hidroxipropil-metil-celulosa, en las variables respuestas: capacidad de absorción de agua de las harinas compuestas, en la consistencia farinográfica de la masa y en el volumen específico del pan, que definieron la decisión del nivel de este hidrocoloide en la formulación. Por último, se presentan los efectos de la enzima glucosa oxidasa, sobre las variables que ayudaron a definir el nivel de su participación en la formulación sin gluten.

### **Obtención del Sistema Modelo sin Gluten**

#### Consistencia farinográfica de la masa

En este estudio, se utilizó la curva que genera el farinógrafo Brabender para medir la consistencia de las masas sin gluten obtenidas después de haber sido mezcladas por 7 min, en la mezcladora KitchenAid modelo Classic, con los ingredientes de la Tabla 3. Las curvas obtenidas se muestran en la Figura 5. La consistencia farinográfica de la masa se midió en la línea del farinograma que detectó la máxima fuerza (en unidades Brabender) después de 5 min de mezclado. En otros estudios, la consistencia farinográfica se ha informado como



**Figura 5.** Farinogramas de la consistencia de las masas elaboradas con las formulaciones de harinas de garbanzo cocido y de arroz. 0/100 es harina de arroz al 100%, 15/85, 30/70, 45/55, 60/40, y 75/25 son harina de garbanzo cocido/harina de arroz en %, y 100/0 es harina de garbanzo cocido al 100%

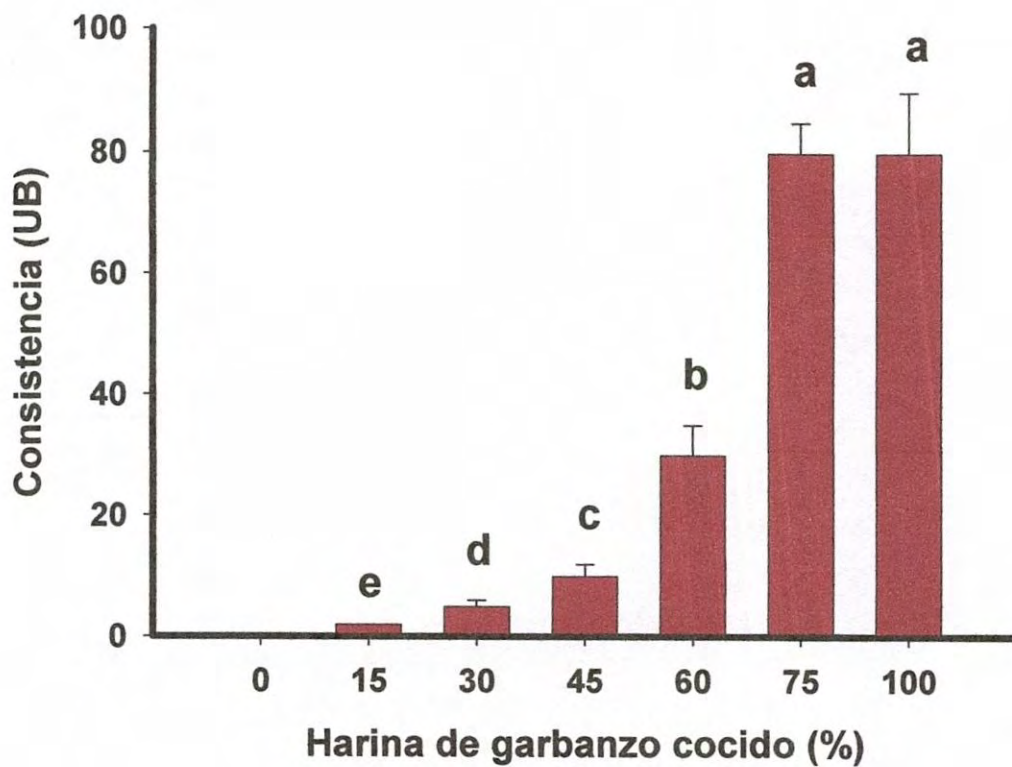


un índice de la resistencia de la masa a una velocidad constante de mezclando (Mariotti y Alamprese, 2012).

A pesar de que las masas tenían el mismo contenido de agua y de sólidos secos (Tabla 3), las masas formuladas con 100 % de HA tuvieron una consistencia que el torque del farinógrafo no detectó (Figura 5 y 6), mientras que las masas que contenían una proporción de HGC de 15, 30, 45, 60, 75 y 100%, mostraron una consistencia farinográfica de 5, 6, 8, 30, 80 y 80 UB, respectivamente. En la curva, también se observó el tiempo en el que el farinógrafo detectó la máxima fuerza. Las masas con 15, 30 y 45% de HGC llegaron a la máxima consistencia en 2 minutos, mientras que las masas con 60, 75 y 100% de HGC, la alcanzaron a 1':45", 1':15" y 0':30", respectivamente. La observación visual describió que todas las masas presentaron una consistencia viscosa y fácil de verter, pero la viscosidad fue mayor y la fluencia menor con el aumento de la proporción de HGC, es decir, con mayor contenido de almidón pregelatinizado. Este comportamiento se puede atribuir a que el almidón pregelatinizado de la HGC espesó y gelificó a la masa semilíquida o batido. En otros estudios, se ha visto que la presencia de almidón dañado contribuye a la hidratación de los gránulos de almidón, y de ese modo, a sus propiedades espesantes (Onyango et al., 2010).

#### Volumen específico del pan

El volumen del pan es la característica visual más importante que afecta a la aceptación general de los consumidores (Arendt et al., 2008).



**Figura 6.** Consistencia farinográfica de las masas elaboradas con las formulaciones de harinas de garbanzo cocido y de arroz

El volumen de la hogaza se mide generalmente por el desplazamiento de semilla y se divide por su peso para obtener el volumen específico. En la Figura 7 se observa que la formulación con harina compuesta 15/85 (%) HGC/HA, tuvo el volumen específico del pan más alto, con un valor promedio de  $2.12 \text{ cm}^3/\text{g}$ , y que las formulaciones con 30/70 y 45/55, estadísticamente no difieren entre sí y presentaron valores cercanos a  $2 \text{ cm}^3/\text{g}$ . Sin embargo, las formulaciones con 60, 75% y 100% de HGC, cuya consistencia pudo detectarse en el farinógrafo, presentaron valores más bajos de volumen específico y sin diferencias estadísticas entre sí. El pan con volumen específico más bajo fue el de la formulación con 100% de HA.

La funcionalidad de las proteínas del garbanzo, que tienen valores altos de expansión y estabilización de espumas (Boye et al., 2010), no se evidenció con un aumento del volumen específico en las formulaciones con mayor proporción de HGC, debido tal vez, a que la cocción del grano modificó la estructura, indisponiendo a los aminoácidos específicos responsables de esa funcionalidad.

Estos resultados parecen indicar que hay un efecto favorable de la presencia de almidón pregelatinizado, en las formulaciones con las proporciones de HGC de 15, 30 y 45%. Esto puede explicarse de la siguiente manera: En la panificación, hay dos etapas importantes, antes y después de la gelatinización del almidón, que determinan la construcción de la estructura que contendrá el gas que la levadura fermenta y que mantendrá su volumen cuando se hornea (Sluimer, 2005; Shoher, 2009). En la primera, se incluyen la mezcla, el reposo, la fermentación y los primeros minutos de la cocción, y es en esta etapa donde el almidón, tanto el pregelatinizado y dañado como el nativo, ejerce su efecto, espesante y gelificante.



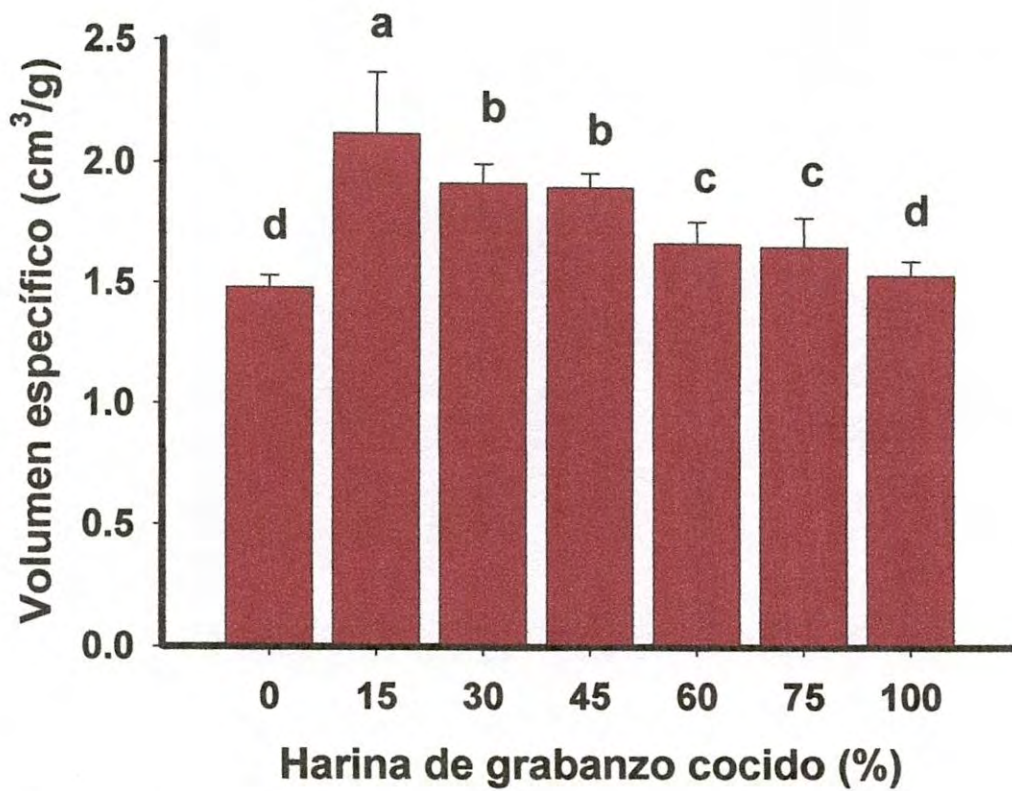


Figura 7. Volumen Específico del Pan Elaborado con las Formulaciones de Harinas de Garbanzo Cocido y de Arroz

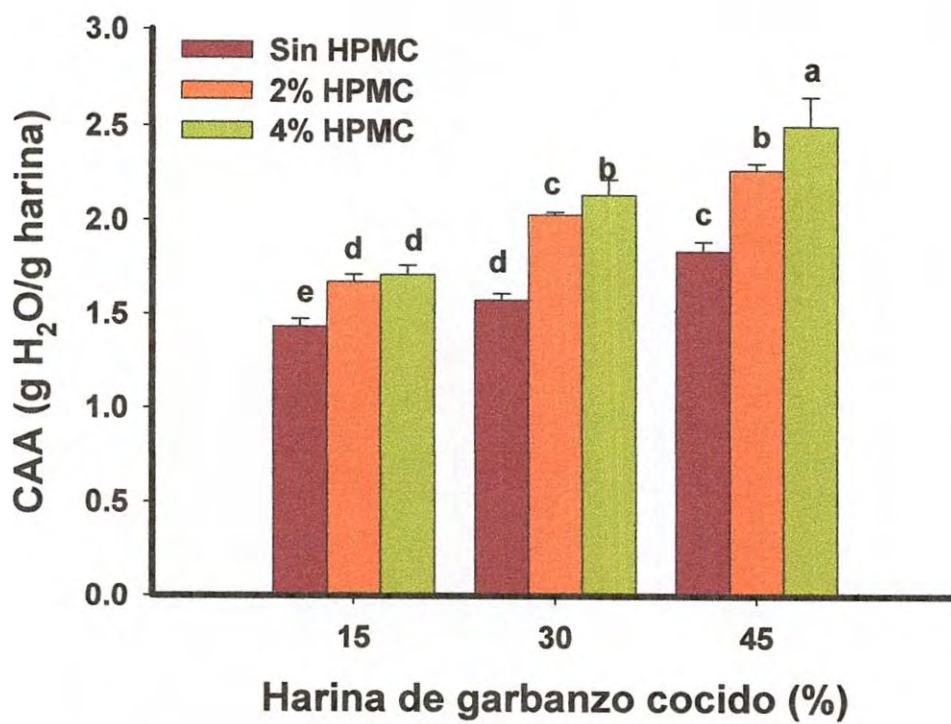
La acción espesante del almidón nativo se debe a la hidratación de las cadenas del polímero, mientras que la gelificación se debe al entrecruzamiento de los polímeros del almidón pregelatinizado para formar redes tridimensionales (Onyango et al., 2010), comportamiento muy parecido al de los hidrocoloides en agua (Hoefler, 2004). Estas redes refuerzan la estructura durante la expansión del gas evitando la coalescencia de las celdas y mejorando el volumen específico. Por todo lo anterior, las formulaciones que se seleccionaron como sistemas modelos sin gluten, fueron las que contenían 15, 30 y 45% de HGC.

### **Obtención de la Dosis de Hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC) en el Sistema Modelo sin de Gluten**

#### Influencia del hidrocoloide sobre la capacidad de absorción de agua de las harinas compuestas

En general los hidrocoloides tienen una capacidad alta de atrapar y retener el agua. Particularmente, el HPMC, es un éter de celulosa que se obtiene por la unión química de grupos hidroxipropilo y de metilo, al b-1,4-D-glucano de la cadena principal de la celulosa. Esta modificación química lo convierte en un polímero soluble en agua con alta actividad de superficie y con propiedades únicas relacionadas con sus características de hidratación en solución, así como durante los cambios de temperatura (Sarkar y Walker, 1995). Esta capacidad de hidratación y de formación de geles termorreversibles lo hace un ingrediente muy utilizado en las formulaciones de panes sin gluten (Crockett et al., 2011).

El efecto de este hidrocoloide sobre la absorción de agua de las harinas que contenían 15, 30 y 45% de HGC, se muestra en la Figura 8.



**Figura 8.** Efecto del HPMC sobre la capacidad de absorción de agua de las harinas de las formulaciones modelo sin de gluten seleccionadas

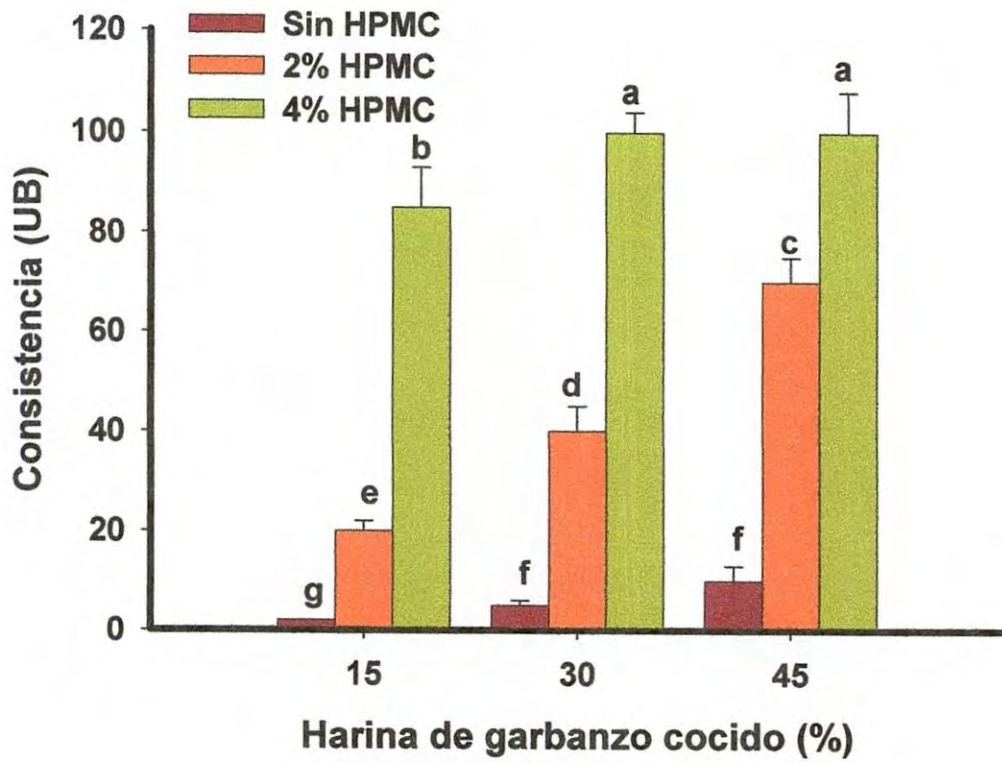


La adición de los dos niveles de hidrocoloide a cada harina compuesta incrementó la CAA significativamente ( $P < 0.05$ ). La más alta absorción de agua se observó con la adición de 4% (base harina) de HPMC en la harina compuesta que contenía 45% de HGC, que absorbió un promedio de 2.5 g de  $H_2O/g$  de harina. Estos resultados se esperaban debido a que los grupos hidroxilo de la estructura del hidrocoloide, permiten la unión de más agua a través de interacciones de hidrógeno (Sarkar y Walker, 1995).

#### Efecto del HPMC sobre la consistencia farinográfica de la masa

Los hidrocoloides se agregan a la masa de trigo para aumentar su fuerza (Rosell et al., 2001). En las masas sin de gluten, la adición de HPMC aumentó significativamente la consistencia farinográfica de las formulaciones 15/85, 30/70 y 45/55, con los ingredientes básicos para elaborar un pan (Figura 9). Además, el aumento del nivel del hidrocoloide también aumentó la respuesta, siendo las formulaciones con 30 y 45% de harina de garbanzo cocido y 4% de HPMC las de mayor consistencia observada, que fue 100 UB. El análisis estadístico reveló que el efecto del nivel del hidrocoloide no dependió de la proporción de harina de garbanzo cocido, excepto la adición de 2% que aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) la consistencia de la masa con el aumento de la proporción de HGC.

La observación visual durante la mezcla, describió que todas las masas presentaron una consistencia más viscosa, con menor fluencia y más esponjosas que las masas semilíquidas o batidos, con la misma proporción de HGC y sin hidrocoloide. Estas respuestas (farinográfica y visual) sugieren que el sistema con HPMC era más semisólido, debido a la mayor retención de agua y a una reducción del agua disponible para hidratar al almidón.



**Figura 9.** Efecto del HPMC sobre la consistencia farinográfica de la masa de las formulaciones modelo sin de gluten

También se ha visto que el HPMC en solución exhibe un comportamiento reológico pseudoplástico (BeMiller, 2008), lo que pudo ser una de las características que contribuyeron a aumentar la consistencia del batido en el sistema modelo.

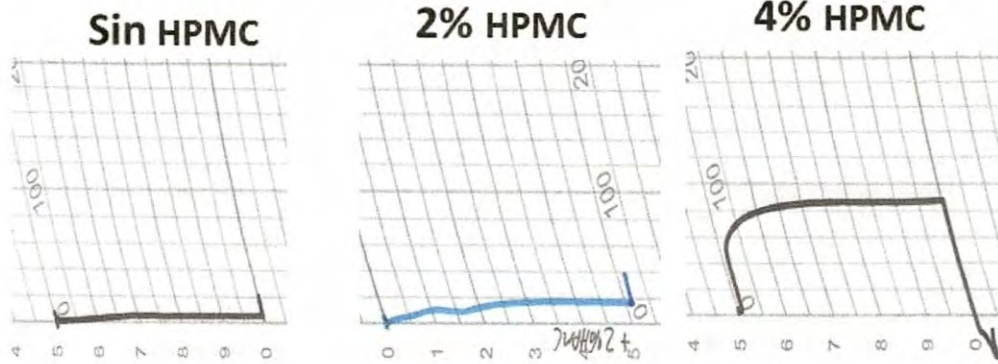
Durante la mezcla, la interacción entre los componentes de la harina y el agua cambia con el cambio de la formulación. Se sabe que el HPMC interfiere en la interacción y la agregación de las cadenas de las proteínas durante el desarrollo de la masa, mediante la sustitución de las proteínas del gluten en la red. En la masa tradicional, HPMC también tiende a reducir las interacciones entre el gluten y el almidón porque se une a la parte exterior de los gránulos de almidón, lo que modifica la retrogradación de la amilopectina (Rosell y Foegeding, 2007). La interacción del HPMC con el almidón de arroz en una masa sin gluten, Ahlborn et al. (2005), la describieron como una "matriz bi-continua con los fragmentos de almidón y de forma similar a la que se da con el gluten".

Es pertinente recordar que la funcionalidad del HPMC depende de su estructura. Con sus grupos laterales de hidroxipropilo, que son hidrófilos, interactúa con el almidón y el agua, principalmente por enlaces de hidrógeno. A su vez, el grupo metoxilo es hidrófobo y le permite actuar como un agente tensoactivo en la interface de la matriz de almidón/aire, fortaleciendo las micelas de aire de la masa (Crockett et al., 2011). El HPMC utilizado en este estudio tenía una sustitución alta de grupos metoxilo (28% a 30%), lo que explica su influencia en la consistencia esponjosa de la masa.

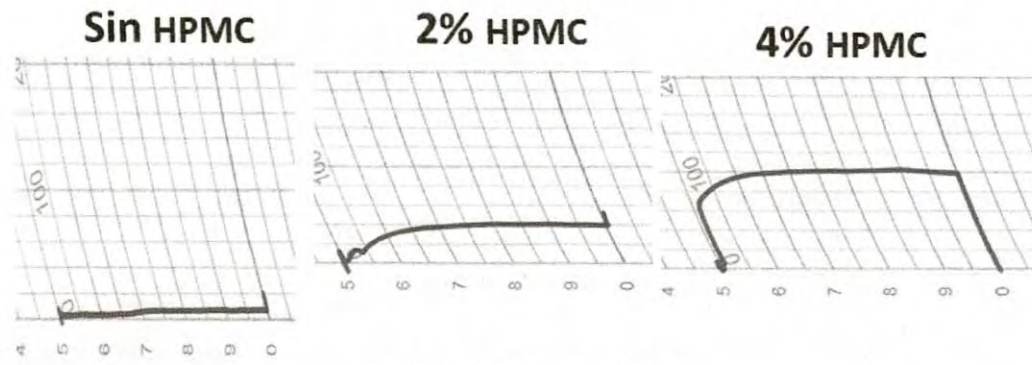
En general, la adición de hidrocoloide dio lugar a un aumento de la fuerza de la masa, sin embargo, la sección de la curva farinográfica que resultó después de 5 minutos de mezcla en el farinógrafo, no reprodujo en forma visual (Figura 10), el



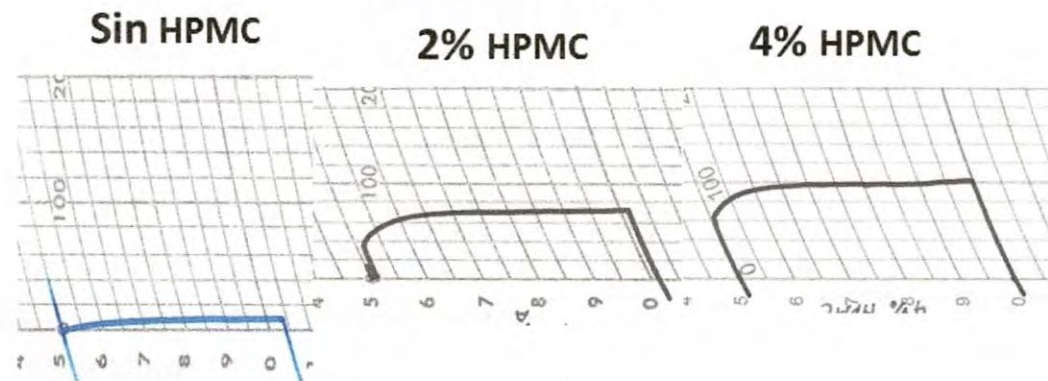
### HGC/HA: 15/85



### HGC/HA: 30/70



### HGC/HA: 45/55



**Figura 10.** Registro de la consistencia farinográfica de las masas elaboradas con las formulaciones seleccionadas y los dos niveles de hidroxipropil-metil-celulosa

conjunto de características de calidad de la harina para panificación como ocurre con harina de trigo, ni tampoco mostró las características de elasticidad y cohesividad, que otros estudios han observado en sistemas sin gluten con hidrocoloides (Lazaridou et al., 2007; Sivaramakrishnan et al., 2004). El perfil que dio el farinógrafo, fue útil para obtener valores de la consistencia farinográfica de la masa formada previamente en una mezcladora, y observar el efecto de la presencia del hidrocoloide en ese sistema heterogéneo de harina-agua-levadura-azúcar-sal.

#### Efecto del HPMC sobre el volumen específico del pan

El efecto del hidrocoloide en la formulación básica de este estudio (harina, agua, levadura, azúcar y sal), con las mezclas de harinas de garbanzo cocido y de arroz seleccionadas en el apartado anterior, en el volumen específico del pan se muestra en la Figura 11.

El análisis de varianza confirmó que hubo un efecto significativo del nivel de HPMC en el volumen específico de las tres formulaciones. El aumento del nivel del hidrocoloide dependió de la matriz de la harina. Este efecto fue lineal positivo en el volumen del pan que contenía 15/85, mientras que el volumen del pan de 30/70 y 45/55 no cambió significativamente.

Con frecuencia, los hidrocoloides se utilizan en la panificación sin trigo para imitar las propiedades visco-elásticas del gluten, aumentando de este modo la retención de gas durante la fermentación y la cocción, y por lo tanto, aumentar el volumen específico del pan. Al comparar los resultados de otros estudios, es evidente que el HPMC es con mucho, el más adecuado.

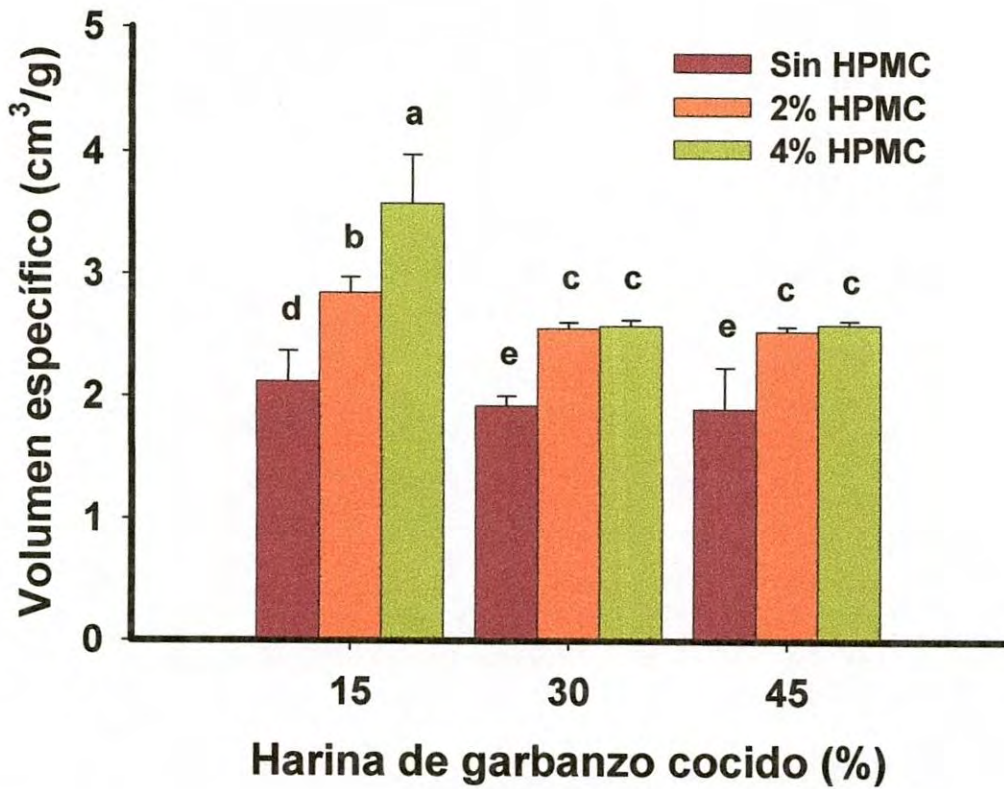


Figura 11. Efecto del hidrocoloide HPMC sobre el volumen específico del pan elaborado con las formulaciones modelo sin gluten



En varias publicaciones se encontró que el volumen aumentó tras la adición de diferentes niveles de HPMC (Haque y Morris, 1994; Mezaize, et al., 2009; Sabanis y Tzia, 2011a, b). Sin embargo, el estudio de Crockett et al. (2011) muestra claramente que el grado de metoxilación del hidrocoloide es crucial en su efecto. Si bien estos autores observaron un aumento de volumen después de la adición de 3 y 5% de HPMC con bajo metoxilo, la adición de HPMC con alto metoxilo no tuvo una influencia significativa. El hidrocoloide utilizado en el presente estudio, se le conoce como de alto metoxilo (Crockett et al. 2011), ya que tenía entre un 28% a 30% de metoxilo sustituido (Sigma-Aldrich, 2013, online). La proporción de la matriz proteína-almidón pregelatinizado-almidón nativo de la formulación 15/85, que fue revelada en la Tabla 6 de las características térmicas de las harinas, favoreció la función del hidrocoloide para conseguir un mayor volumen específico del pan.

Otra observación que también es interesante resaltar, es que las masas con mayor consistencia farinográfica, 30/70 y 45/55 con 4% HPMC, dieron panes con menor volumen específico que las masas con 15/85, que mostraron menor resistencia al mezclado. Esta tendencia es opuesta a la observada en otros sistemas sin gluten con una cantidad alta de agua (Sciarini et al. 2010a, b), donde un aumento en la resistencia del batido/masa dio lugar a panes con un aumento del volumen específico. Este efecto se lo atribuyeron a que se aumenta la capacidad para retener los gases formados durante la fermentación. En el presente estudio, también se utilizó una cantidad grande de agua (190%, base harina). Entonces, es evidente que el sistema HGC/HA a ciertos valores de consistencia farinográfica tuvo más dificultad para expandir durante la fermentación y la cocción.

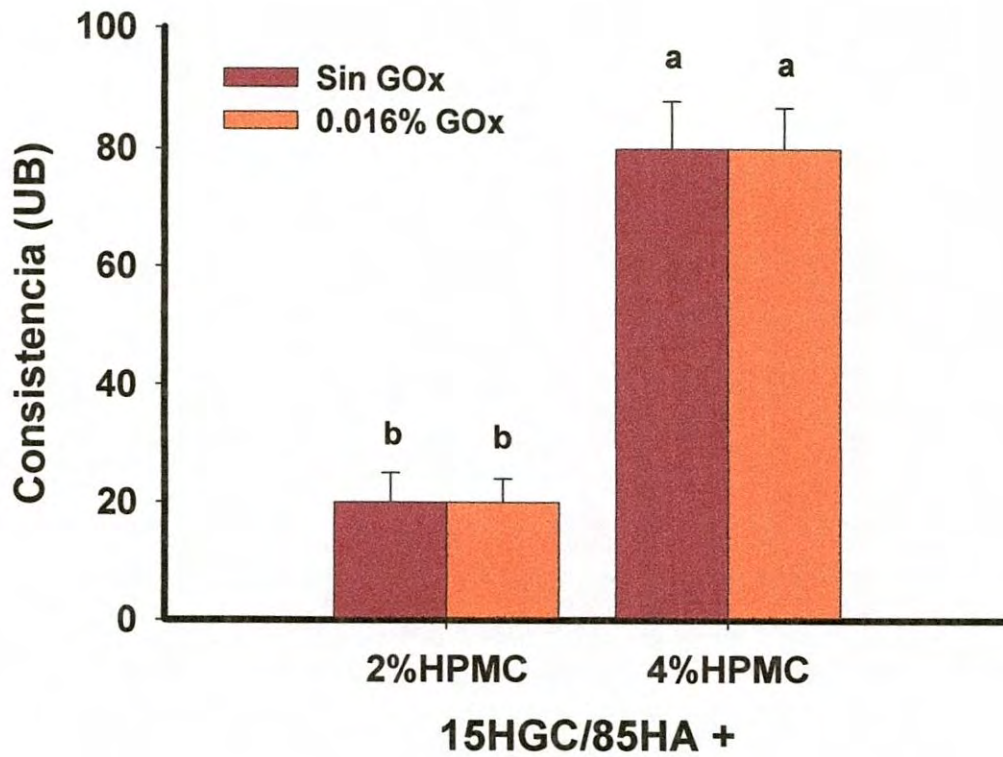
Los resultados indujeron a elegir la harina 15/85 con los dos niveles de HPMC para evaluar el efecto de la enzima glucosa-oxidasa sobre su funcionalidad.

### **Efecto de la Enzima Glucosa-Oxidasa (GOx) en la Formulación sin Gluten con Hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC)**

#### Efecto de la GOx sobre la consistencia farinográfica de la masa

La consistencia de la masa se determinó en presencia y ausencia de GOx en la formulación sin gluten con dos niveles de HPMC, con el fin de evaluar el efecto de la enzima sobre la funcionalidad del hidrocoloide. En la Figura 11, se observa que la consistencia de la masa no presentó cambios significativos con la presencia de la GOx. La consistencia más alta fue 80 UB que se registró con 4% de HPMC. Como se comentó antes, al aumentar los niveles del HPMC, se aumenta la capacidad de unir grandes cantidades de agua y por lo tanto se incrementa la resistencia durante la mezcla.

En las masas HGC/HA/HPMC, el efecto sinérgico esperado en la consistencia de la masa, no se detectó en el farinógrafo. La glucosa-oxidasa (EC 1.1.3.4) cataliza la conversión de la glucosa y el oxígeno en gluconolactona (que se convierte espontáneamente en ácido glucónico) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Vroemen, 2003), siendo éste el que promueve el entrecruzamiento oxidativo entre las proteínas de los cereales, tales como las que forman el gluten del trigo o las glutelinas del arroz (Goesaert et al., 2008; Gujral y Rosell, 2004b; Rosell et al 2003). Otros estudios han informado que el efecto principal, es en las fracciones albúminas y globulinas (Vemulapalli y Hosene, 1998; Rasiah et al 2005) y también, que el exceso de este oxidante disminuye la viscosidad de la fracción



**Figura 12.** Efecto de la enzima glucosa-oxidasa (GOx) sobre la consistencia farinográfica de la masa formulada con 15HGC/85HA y dos niveles de hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC)

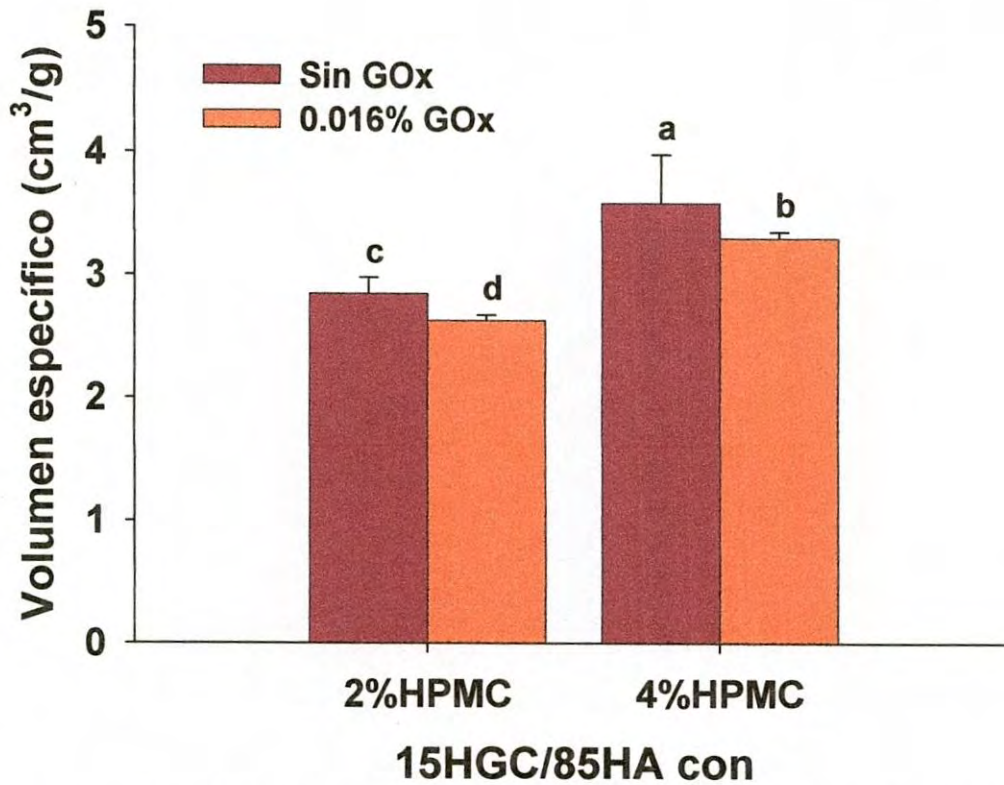


soluble en agua (Pescador-Piedra et al 2010). Por lo anterior se puede decir, que el nivel de GOx utilizado en las dos formulaciones produjo la cantidad suficiente de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para que el registro de la consistencia de la masa en el farinógrafo no cambiara con el nivel de HPMC.

Con la adición de GOX, es factible el entrecruzamiento oxidativo de las proteínas de la matriz de la harina 15/85 en el proceso de panificación. Si bien en la harina de arroz, el contenido de aminoácidos azufrados es bajo, se ha demostrado por electroforesis capilar de zona libre y por la disminución en el contenido de grupos tiol y amino, que las proteínas se modifican con la adición de GOx (Gujral y Rosell, 2004b). En comparación con el contenido de proteínas de los otros cereales, en el arroz hay más cantidad de glutelinas y baja de prolaminas, lo que determina su alto contenido en lisina (Rosell y Marco, 2008). En cambio, en el garbanzo, las globulinas representan la fracción más alta de la proteína total y las prolaminas la más baja (Boye et al., 2010) y en el grano cocido a ebullición, la concentración de aminoácidos azufrados es de 2.5 g/16 g de nitrógeno (El-Adawy, 2002).

#### Efecto de la GOx sobre el volumen específico del pan

La adición de GOx disminuyó significativamente el volumen específico del pan (Figura 13). El volumen específico alcanzado en la concentración más alta de HPMC fue mayor de 3,0 cm<sup>3</sup> / g, con o sin GOX, que es más alto que el obtenido en otros estudios con 4% de HPMC, en formulaciones con harina de arroz (Gujral y Rosell, 2004b). Sin embargo, estos investigadores observaron que en presencia de 2% de HPMC y 0,01% GOx el volumen específico del pan fue mayor que la de pan hecho con sólo 4% de HPMC.



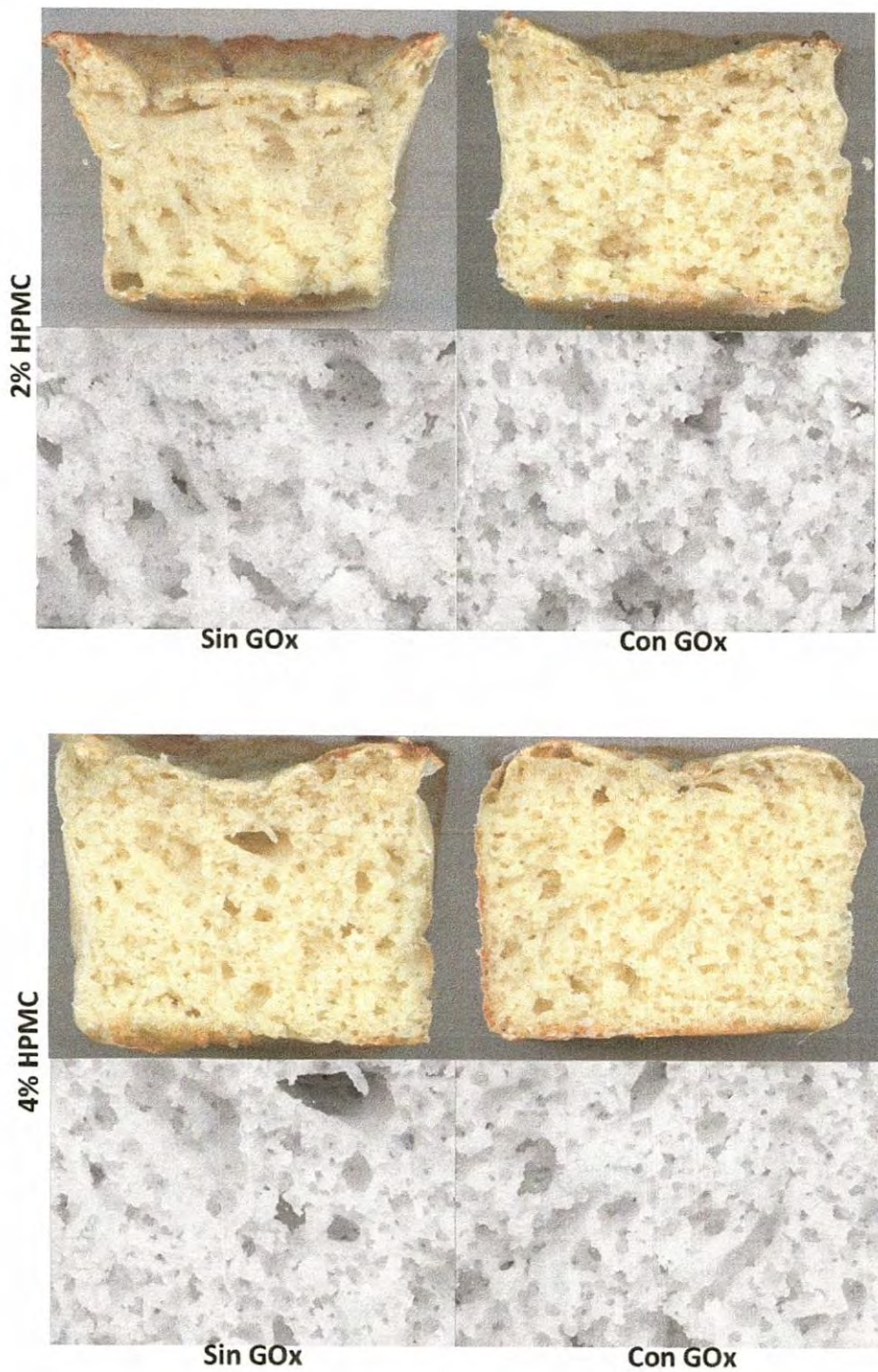
**Figura 13.** Efecto de la enzima glucosa-oxidasa (GOx) sobre el volumen específico del pan formulado con 15HGC/85HA y dos niveles de hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC)

De igual forma que se observó en la Figura 11, en la Figura 13 se confirma que el HPMC pudo retener el CO<sub>2</sub> producido en la fermentación y fue capaz de proporcionar la estructura que dio como resultado un producto horneado con un volumen específico semejante al de un pan de trigo. Este efecto mejorador del hidrocoloide se afectó con el nivel de GOx utilizado, es decir, que la oxidación de la glucosa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno, modificó la matriz que mantiene la estructura de las burbujas de la masa, durante la fermentación y la cocción, ocasionando una disminución del volumen específico.

Con la finalidad de observar el efecto en el aspecto del grano de la miga, se obtuvieron las imágenes digitales de la rebanada central que se presentan en la Figura 14. Se puede observar que en la miga de todos los tratamientos, el tamaño de las celdas de gas y su distribución no son uniformes, por lo que tuvo un grano de la miga típico de los panes sin gluten, que presentan una estructura densa con paredes de las celdas gruesas (Sciarini et al., 2012). Un efecto mejorador del aspecto del pan que se puede atribuir a la GOx, es la disminución de la depresión de la parte superior central, pero, sin la enzima la fracción de área de aire fue mayor, lo que confirma que el hidrocoloide confirió elasticidad y la capacidad de retener el gas, mejorando el volumen específico. Con GOx, la estructura de la miga fue menos aireada, lo que repercutió en una disminución del volumen específico.

Estos resultados indican que la formulación que dio un pan con mayor volumen específico fue con la harina 15/85 y con los ingredientes agua, 190%, levadura, 3%, sal, 2%, azúcar, 6%, y HPMC, 4%, expresados en porcentaje base harina.





**Figura 14.** Imágenes digitales del aspecto general y ampliada de la rebanada central de los panes formulados con la harina 15/85, HPMC, sin y con glucosa-oxidasa (GOx)

El contenido de gluten del pan seleccionado fue  $< 5$  ppm, por lo que es un producto exento de gluten (CODEX, 2008). Las características internas y externas del pan se describen en la siguiente sección.

## **Etapas II. Descripción de las Características Externas e Internas del Pan sin Gluten Formulados con 15/85 (HGC/HA) y 4% de HPMC**

Además de los parámetros estándares de calidad del pan, tales como el volumen específico y la textura física de la miga, también se determinaron la actividad de agua y el color de la corteza y de la miga. En la Tabla 7 se presentan los valores promedio de tres repeticiones independientes, así como también algunos datos referidos en publicaciones científicas. Como el pan es un producto aireado y su textura depende en gran medida del tamaño y la distribución de las celdas de gas, se determinaron las características del grano de la miga, usando un análisis de la imagen. La textura sensorial también se evaluó por un panel entrenado.

### **Volumen Específico del Pan**

Se sabe que el volumen específico de la hogaza influye fuertemente en la elección del consumidor y desde el punto de vista económico, es deseable una proporción alta de volumen por unidad de peso (Cauvain, 2007). Las masas semilíquidas o batidos sin gluten, debido a la falta de la matriz proteica cohesiva, son poco elásticas y extensibles y producen panes con volúmenes bajos. El volumen específico de los panes de harina blanca de trigo sin coadyuvantes,



**Tabla 7.** Características externas e internas del pan sin gluten formulado con HGC/HA + 4% HPMC y de otras formulaciones con hidrocoloide, disponibles en publicaciones científicas

Parámetro	Producto de este estudio	Miñarro et al., 2012	Mariotti et al., 2013	Hager et al., 2012	Purhagen et al., 2012	Lazaridou et al., 2007	
<b>Harina base de la formulación</b>	Arroz y garbanzo cocido	Maíz y garbanzo	Arroz y trigo sarraceno	Comercial de Arroz	Mezcla comercial y cebada pre-gelatinizada	Arroz y almidón de maíz	
<b>Volumen específico (ml/g)</b>	3.59 ± 0.05	3.26 ± 0.09	2.54 ± 0.12	1.80 ± 0.05	4.3 ± NP	2.12 ± 0.04	
<b>Dureza (N)</b>	2.69 ± 0.013	0.466 ± 0.012	0.524 ± 0.088	18.79 ± 1.90	0.9 ± 0.1	7.5 ± NP	
<b>Color</b>							
		<b>Corteza</b>	<b>Miga</b>				
	L	51.36 ± 1.12	49.86 ± 3.66	73.52 ± 5.44*	NP	NP	69.01 ± 0.74*
	a	-0.92 ± 1.18	-1.56 ± 0.76	NP	NP	NP	-0.74 ± 0.13*
	b	+15.13 ± 3.01	+8.33 ± 0.96	NP	NP	NP	12.17 ± 0.37*
	<b>a<sub>w</sub></b>	0.89 ± 0.02	+0.96 ± 0.01	0.98 ± 0.001*	0.987 ± 0.003*	NP	0.98 ± NP*

\*Valores sólo de la miga. NP, valores no publicados



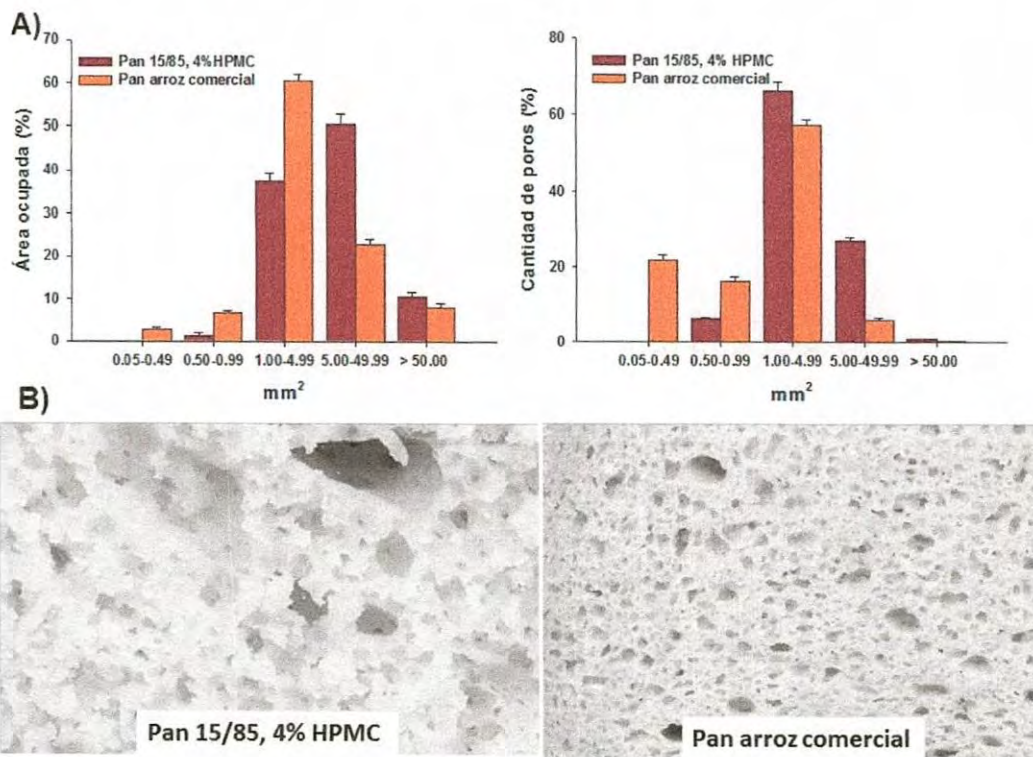
generalmente es mayor que 2.6 ml/g y el de harina integral de trigo, mayor que 1.7 ml/g (Seyer y Gelinas, 2009). El pan sin gluten de este estudio tuvo un volumen específico de aproximadamente 3.6 ml/g, influenciado por el nivel y el tipo de hidrocoloide utilizado en la formulación.

La red del gel termoreversible del HPMC de alto metoxilo (Crockett et al., 2011), estabilizó la gelatinización del almidón y la estructura prevista de la miga durante la cocción. Después de dos horas de haber salido del horno, durante el enfriamiento, el gel revirtió a una estructura más débil ocasionando la depresión de la cúpula de la hogaza (Figura 14), conservando una alta proporción de volumen por unidad de peso, muy cercana a la observada en pan de garbanzo (Miñarro et al., 2011, Tabla 7).

### **Estructura de la Miga**

En el pan, la textura está establecida por la estructura de la miga, que es una combinación de la forma, tamaño y distribución de los poros, así como de su porosidad global, que a su vez tiene un impacto significativo en la percepción del consumidor (Scanlon y Zghal, 2001). El grano de la miga de este estudio, se evaluó utilizando un análisis de la imagen de la rebanada de pan y calculando el porcentaje del área total y del número de poros.

La evaluación objetiva del porcentaje del área ocupada por los poros y del porcentaje de la cantidad de poros de cada una de las cinco clases de áreas, se presentan en la Figura 15 A; y la apariencia de la miga en imagen ampliada en la Figura 15 B. Los poros presentes en la miga del pan 15/85 con 4% de HPMC, abarcaron mayormente el rango de dimensiones de las clases 3 y 4, que ocuparon el 88% del área total de la rebanada, con la presencia de cavidades



**Figura 15.** A) Área de los poros como porcentaje del área total de poros y cantidad de poros como porcentaje de la cantidad total de poros. 0.05-0.49 mm<sup>2</sup> = clase 1, 0.50-0.99 mm<sup>2</sup> = clase 2, 1.00-4.99 mm<sup>2</sup> = clase 3, 5.00-49.99 mm<sup>2</sup> = clase 4, > 50 mm<sup>2</sup> = clase 5. B) Imagen ampliada del centro de la rebanada del pan sin gluten



más grandes y más asimétricas, en comparación con la distribución más fina y más homogénea de los poros del producto comercial (Figura 15 B). Estuvieron presentes en mayor cantidad los poros de la clase 3 (1.00-4.99 mm<sup>2</sup>), que representaron el 66% en el pan de garbanzo, mientras que los poros más pequeños (clases 1 y 2) representaron el 6% (Figura 15 A). No hubo poros de la clase 1 y el área que ocuparon los poros de la clase 2 fue el 1.2 % del área total, en cambio, los poros más grandes (> 50 mm<sup>2</sup>) ocuparon un área del 10%, aunque la cantidad fue menor de 1%.

La porosidad ( $\epsilon_s$ ) se obtuvo dividiendo el área total que ocupaban los poros por el área de la rebanada. El valor que se obtuvo fue de 13.76%, que al compararlo con el del pan de arroz comercial (18.08%), indica que la zona ocupada por las celdas de gas es menor en la miga del pan 15/85 con 4% de HPMC.

A nivel macroscópico, la miga del pan es un sistema de dos fases, gaseosa y sólida, donde el gas está disperso al azar en una matriz, cuyo espesor de las paredes varía en un rango entre 20 y 200 mm (Scanlon y Zghal, 2001).

A nivel microscópico, las paredes de los poros no son homogéneas, pero están constituidas de gránulos de almidón gelatinizado que están entrelazados por una mezcla compleja de moléculas agregadas de proteínas (Cauvain y Young, 2000).

En otros estudios se ha descrito la influencia que tienen los ingredientes sobre la estructura de la miga de panes sin gluten. Así, la porosidad aumentó con la cantidad de agua, demostrándose que este ingrediente es fundamental para la expansión del pan durante la cocción (Tsatsaragkou et al. 2012). En otro estudio, la adición de hidroxipropil-metil-celulosa causó una disminución de la porosidad, un área de los poros más pequeña, y un aumento del volumen específico (Mezaize et al 2009).



También se ha señalado que no sólo la porosidad, sino también la distribución del tamaño uniforme de las células de gas son importantes para la calidad del pan (Lazaridou et al 2007). Para la formulación 15/85 con 4% de HPMC y 190% de agua (base harina), la observación de la apariencia de la miga y la cuantificación de los poros indicó que tiene cantidades muy bajas de poros grandes, pero con paredes muy gruesas (no medidas), lo que afectó adversamente la uniformidad de la estructura de la miga, y, que determinó a las características externas de la calidad del pan.

### **Dureza de la Miga**

La textura es otra característica importante de calidad en el pan, y se prefiere que la miga sea suave y flexible. La textura se midió por compresión de una rebanada central de la hogaza recién horneada (después de dos horas), donde la fuerza máxima para penetrar una distancia equivalente al 30% del espesor indicó la dureza de la miga. El valor de la dureza de la miga del pan con 15/85 y 4% de HPMC fue de 2.7 N, casi 5.7 y 5.1 veces más alto que el obtenido en pan de harina de garbanzo y de maíz (Miñarro et al., 2011) y de harina de arroz con trigo sarraceno (Mariotti et al., 2013), respectivamente, aunque estas formulaciones tuvieron como ingredientes adicionales, otras fuentes de almidón (tapioca, papa, etc) y de proteína (láctea), así como de grasa y emulsionantes. En los panes de harina de arroz comercial elaborados con los ingredientes base de panificación, se han registrado valores de dureza de hasta 18 N, y en los de harina de trigo comercial, 8.5 N (Hager et al., 2012).

La influencia del hidrocoloide y del agua de la formulación de esta tesis, pudo ser la responsable del valor de la dureza de la miga. En numerosos estudios se

reconoce que la capacidad alta de retención de agua del HPMC reduce la dureza de la miga del pan, tanto de trigo como sin gluten (Arendt et al., 2008). Adicionalmente, Crockett et al. (2011) observaron que la dureza de la miga de panes sin gluten se redujo en las formulaciones que contenían HPMC con alto metoxilo. Por otro lado, la dureza se afecta principalmente por el contenido de agua y en la formulación de este estudio fue de 190% (base harina), mayor que el utilizado en la elaboración de pan de trigo (60-70%, base harina), pero más alto al que se usa en formulaciones en el que la base es harina de arroz o almidones de otras fuentes (120-170%) (Purhagen et al., 2012; Arendt et al. 2009; Lazaridou et al., 2007).

Se puede decir, que la harina de garbanzo cocido presente en la harina compuesta, también influyó en el valor de la dureza del pan, debido a la presencia de almidón pre-gelatinizado o también conocido como almidón resistente tipo tres; que de acuerdo a la definición científicamente aceptada, es el almidón que se ha modificado debido a que el alimento ha recibido un tratamiento térmico (Yadav et al., 2010). Purhagen et al. (2012), comprobaron que los panes elaborados con harinas pre-gelatinizadas tuvieron una miga menos blanda, y que el grado de dureza dependió de la fuente de la harina y de la cantidad de agua de la formulación. Este efecto lo atribuyeron a la cantidad y al orden molecular de la amilopectina retrogradada, que fue distinto entre las harinas.

### **Actividad de Agua ( $a_w$ )**

En los sistemas cuya base es almidón, la actividad de agua es un parámetro importante de la calidad del pan, porque está relacionado con el proceso de reforzamiento de la estructura de la miga y de la corteza (Miñarro et al., 2012). En



el pan recién horneado suceden procesos concurrentes que en sus etapas iniciales están dominados por los componentes del almidón, específicamente por la amilosa. Dos de ellos son, la re-distribución de la humedad y la re-cristalización del almidón gelatinizado, que sensorialmente se perciben como una pérdida de "la suavidad y la humedad" (Slade et al., 1991). Como se comentó antes, los efectos del hidrocoloide de retener el agua y el de la cantidad alta de agua en la masa semilíquida (190%, base harina), de la formulación de este estudio, contribuyeron a valores bajos de la dureza de la miga, así también, se manifestaron en los valores de la actividad de agua de la miga y de la corteza, que fueron menores a los panes sin gluten consultados en otras investigaciones (Tabla 7). La matriz de componentes del pan de este estudio, disminuyó la disponibilidad del agua, que posteriormente, durante el almacenamiento del pan, pudiera lentificar la deshidratación de la miga y favorecer la disminución de la velocidad de su endurecimiento (He y Hosney, 1990). El endurecimiento rápido de los panes con base harina de arroz y otros almidones es una característica que desfavorece la calidad de los panes sin gluten (Arendt et al. 2008). La presencia de almidón pre-gelatinizado en la harina 15/85, por el tratamiento térmico del garbanzo (Tabla 6), también pudo haber contribuido a bajar el valor de la  $a_w$ , ya que en otros estudios se ha visto que con harinas pre-gelatinizadas, se aumenta la capacidad de mantener el agua en panes sin gluten (Purhagen, et al., 2012).

### **Color de la Corteza y la Miga**

El color de la corteza y la miga de los panes se evaluó en un lector de color que lo expreso en las escalas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . Los valores de 0 a 100 de la escala  $L^*$  representan negro y blanco, respectivamente. Los valores positivos de  $a^*$  son de



se muestran en la Tabla 8. Las puntuaciones sensoriales que obtuvo la miga del pan 15/85 con HPMC, en general, fueron más altas que la del pan de arroz comercial.

La cohesión de la miga del pan con garbanzo y HPMC, fue dos veces mayor que la del pan de arroz comercial, es decir, el pan obtenido en este estudio, formó un bolo durante la masticación, mientras que el pan de arroz comercial se desintegró con mayor facilidad. En el pan se prefiere una cohesión alta, ya que durante la masticación forma un bolo en lugar de desintegrarse, en cambio una cohesión baja se relaciona con un aumento de la susceptibilidad a la fractura o al desmoronamiento al rebanarse (Onyango et al 2011).

En cuanto a la adherencia al paladar, los dientes y la lengua, el pan con garbanzo y HPMC obtuvo una puntuación tres veces más alta que el pan sin gluten comercial. Los panes sin gluten se prefieren que sean poco adhesivos (Laureati et al. 2012).

La elasticidad táctil se asocia con la frescura del pan, por lo tanto, al pan fresco de calidad se le relacionan valores altos de elasticidad (Matos y Rosell, 2012). También los valores bajos de elasticidad coinciden con la tendencia del pan a desmoronarse cuando se corta (McCarthy et al., 2005). El pan con garbanzo fue calificado con un valor promedio dos veces más alto (7.58) que el pan de arroz comercial (3.45).

Los jueces puntuaron la dureza del pan con un valor promedio dos veces mayor (6.88) que al pan de arroz comercial (3.78). Esta percepción sensorial del pan 15/85 no se pudo relacionar con la dureza instrumental obtenida

**Tabla 8. Resultados del análisis descriptivo de la evaluación sensorial\***

Juez	Atributos del pan de arroz comercial					Atributos del pan de arroz:garbanzo				
	D	E	C	A	A	D	E	C	A	
<b>1</b>	3.50 ± 0.01	9.02 ± 0.30	3.81 ± 1.67	2.16 ± 1.24	7.00 ± 0.42	8.50 ± 0.44	5.68 ± 0.34	8.69 ± 0.38		
<b>2</b>	4.23 ± 3.42	1.19 ± 0.21	1.45 ± 0.32	4.08 ± 0.53	7.57 ± 0.73	8.21 ± 0.33	4.88 ± 0.66	9.14 ± 0.60		
<b>3</b>	2.64 ± 0.97	4.15 ± 3.49	1.82 ± 1.25	2.76 ± 2.60	6.03 ± 0.42	5.9 ± 0.18	5.19 ± 0.07	8.64 ± 0.93		
<b>4</b>	2.25 ± 1.03	2.27 ± 0.59	1.64 ± 1.13	2.77 ± 0.21	5.98 ± 0.70	7.22 ± 0.58	5.52 ± 0.67	9.03 ± 0.16		
<b>5</b>	4.33 ± 0.80	4.78 ± 0.97	3.69 ± 0.35	4.54 ± 0.95	6.27 ± 0.49	6.79 ± 0.24	5.09 ± 0.46	9.30 ± 0.42		
<b>6</b>	4.64 ± 2.22	4.89 ± 2.32	2.96 ± 0.85	2.28 ± 0.67	7.44 ± 0.80	7.57 ± 0.18	4.62 ± 0.12	8.44 ± 1.20		
<b>7</b>	5.08 ± 0.29	1.16 ± 0.74	1.36 ± 0.55	1.45 ± 0.82	7.70 ± 0.33	7.57 ± 0.27	4.89 ± 0.26	8.75 ± 1.36		
<b>8</b>	3.00 ± 0.84	3.09 ± 2.31	2.51 ± 2.87	3.52 ± 0.81	7.51 ± 0.49	8.74 ± 0.33	5.14 ± 0.34	8.93 ± 0.46		
<b>9</b>	4.49 ± 1.54	2.17 ± 1.26	2.07 ± 1.26	2.59 ± 1.04	6.73 ± 0.36	7.55 ± 0.18	5.15 ± 0.58	8.67 ± 0.51		
<b>10</b>	3.63 ± 0.38	1.73 ± 1.13	1.83 ± 0.42	1.42 ± 0.36	6.56 ± 0.17	7.72 ± 0.25	5.19 ± 0.53	8.91 ± 0.60		
<b>PROM</b>	3.78	3.45	2.31	2.76	6.88	7.58	5.13	8.85		
<b>DESVEST</b>	0.88	2.28	0.85	0.98	0.63	0.79	0.29	0.25		

D= dureza, E= elasticidad, C= cohesión, A= adhesividad; \*escala en cm



en la máquina Instron, ya que este estudio no se diseñó para correlacionar los resultados sensoriales con los obtenidos en el texturómetro. Sin embargo, es pertinente mencionar el resultado del único estudio publicado a la fecha, de correlación entre los parámetros texturales de análisis instrumentales y sensoriales de panes sin gluten, publicado por Matos y Rosell (2012). Estos autores obtuvieron coeficientes de correlación muy bajos, que representaron correlaciones lineales muy bajas, pero identificaron mediante el análisis de componentes principales, que los parámetros sensoriales de textura y de hidratación podrían ser adecuados para caracterizar a los panes sin gluten.

De acuerdo con los resultados anteriores, se puede decir que el pan 15/85 elaborado con la formulación básica de un pan de trigo, pero con 190% de agua (base harina) y con 4 % de HPMC, tuvo un volumen específico de 3.6 mL/g y una dureza de la miga de 2.7 N.

También, que la claridad del color no difirió significativamente entre la corteza y la miga, que el tono amarillento sobresalió en la corteza, y que el tono rojo no fue detectado. La actividad de agua fue más baja en la corteza que en la miga y que la porosidad de ésta, fue cercana al 14%, con una mayor cantidad de poros con áreas en el rango de 1.00-4.99 mm<sup>2</sup>.

Las características aquí descritas, cubren y amplían las obtenidas en otros estudios para este tipo de panes.



## CONCLUSIONES

El contenido de proteína, de almidón nativo y pregelatinizado en la harina 15/85 fue el adecuado para que la estructura de la miga que se formó durante el horneado tuviera mayor capacidad de retener el gas que las otras formulaciones, obteniendo un pan con mayor volumen específico. El HPMC mejoró la apariencia y la estructura de la miga del pan, indicando que contribuyó a aumentar la coalescencia entre los componentes del batido. Esta unión favoreció a que la retención del gas formado durante la fermentación de la masa fuera más efectiva y al aumento del volumen específico del pan a un valor cercano al de un pan de trigo. El grado de influencia en la calidad del pan producido fue dependiente del nivel de adición del hidrocoloide, por lo que la mejor formulación correspondió a una composición de 100% de harina compuesta 15/85, 190% de agua, 3% de levadura, 2% de sal, 6% de azúcar y 4% de HPMC. El nivel de glucosa-oxidasa estudiado, se descartó de la formulación al no impartir sinergia con el HPMC. Con sólo HPMC como coadyuvante el pan presentó algunas características internas y externas de calidad que coincidieron con las obtenidas en otros estudios para panes sin gluten.

## REFERENCIAS

- A.A.C.C. Approved Methods for Analysis. (2001). 10<sup>th</sup> edition. American Association of Cereal Chemistry. St. Paul MN. USA
- Abdel-Aal, E.-S. M. (2009). Functionally of starches and hydrocolloids. Capítulo 11 en: Gluten free food science and technology. Editado por: Eimear Gallagher. Primera Edición. Editorial Wiley-Blackwell. 200-225
- Aguilera, Y., Esteban, R. M., Benitez, V., Molla, E., & Martin-Cabrejas, M. A. (2009). Starch, functional properties, and microstructural characteristics in chickpea and lentil as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(22): 10, 682–10, 688
- Ahlborn, G. J., Pike, O. A., Hendrix, S. B., Hess, W. H., & Huber, C. S. (2005). Sensory mechanical and microscopic evaluation of staling in low-protein and gluten-free breads. *Cereal Chemistry*. 82: 328–335
- Amboon, W., Tulyathan, V. & Tattiyakul, J. (2010). Effect of hydroxypropylmethylcellulose on rheological properties, coating pickup, and oil content of rice flour-based batters. *Food Bioprocess Technology*. DOI: 10.1007/s11947-010-0327-3
- Amerine, M. A., Pangborn, R. M. & Roessler, E. B. (1965). Principles of Sensory Evaluation of Food. Academic Press. London.
- Angioloni, A. & Collar, C. (2009). Bread crumb quality assessment: a plural physical approach. *Journal European Food Research and Technology*. 229: 21-30
- AOAC (2013). AOAC Research Institute. Certificate No. 120601 RIDASCREEN® Gliadin. En: <http://www.AOAC.ORG/TESTKITS/TESTKITS.HTML>
- Arendt, E. K., Morrissey, A., Moore, M. M. & Dal Bello, F. D. (2008). Gluten-free breads. Capítulo 13 en: Gluten free technology of functional cereal products and beverages. Editado por: Hammaker, B. R. New York: CRC Press. 289–319



- Arendt E. K., Renzetti, S. & Dal Bello F. (2009). Dough microstructure and textural aspects of gluten-free yeast bread and biscuits. Capítulo 8 en: Gluten free food science and technology. Editado por: Gallagher, E. Primera Edición. Blackwell Publishing Ltd. Nueva Delhi, India. 107-129
- Auvergne, R., Morel, M.-H., Menut, P., Giani, O., Guilbert, S., & Robin J.-J. (2008). Reactivity of wheat gluten protein during mechanical mixing: radical and nucleophilic reactions for the addition of molecules on sulfur. *Biomacromolecules*. 9: 664–671
- Barampama, Z. & Simard, R. E. (1995). Effect of soaking, cooking and fermentation on composition, in vitro starch digestibility and nutritive value of common beans. *Plant Food Human Nutrition*. 48: 349-365
- BeMiller, J. N. (2008). Hydrocolloids. Capítulo 9. Gluten free cereal products and beverages. Editado por: Arendt, E. K. & Dal Bello, F. Primera Edición. Editorial: Academic Press-Elsevier. 203-216
- Bhat, K. & Bhattacharya, S. (2001). Deep fat frying characteristics of chickpea flour suspensions. *International Journal of Food Science and Technology*. 36: 499-507
- Bloksma, A. W. (1990). Dough structure, dough rheology, and baking quality. *Cereal Foods World*. 35: 237–243
- Bloksma, A. H. & Bushuk, W. (1988). Rheology and chemistry of dough en: *Wheat Chemistry and Technology*. Tercera edición. Editado por: Pomeranz, Y. American Association of Cereal Chemists, St Paul, MN. 131–217
- Bob's Red Mill (2013). En: <http://www.bobsredmill.com>. Consultado el 13 de Junio de 2013.
- Boye, J., Zare, F. & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*. 43: 414-431
- Bushuk, W. (1985) Flour proteins: Structure and functionality in dough and bread. *Cereal Foods World*. 30: 447–51



- Cabrera-Chávez, F. & Calderón de la Barca, A. M. (2008). Letter to Editor. *Journal of Science*. 48: 878
- Cabrera-Chávez, F., Rouzaud-Sáñez, O., Sotelo-Cruz, N. & Calderón de la Barca, A. M. (2009). Alternativa de panificación segura para los intolerantes al gluten de trigo. *Revista Industria Alimentaria*. Julio/Agosto. 10–16
- Cabrera-Chávez, F., Rouzaud-Sáñez, O., Sotelo-Cruz, N. & Calderón de la Barca, A. M. (2008). Transglutaminase treatment of wheat and maize prolamins of bread increases the serum IgA reactivity of celiac disease patients. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 56(4): 1387-1391
- Cabrera-Chávez F. Rouzaud-Sáñez O., Sotelo-Cruz N., & Calderón de la Barca A.M. (2009). Bovine milk caseins and transglutaminase-treated cereal prolamins are differentially recognized by IgA of celiac disease patients according to their age. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57 (9): 3754-3759
- Carcea-Bencini, M. M. (1986). Functional properties of drum-dried chickpea (*Cicer arietinum* L.) flours. *Journal of Food Science*. 51: 1518–1521, 1526
- Carson, L. & Sun, X. (2001). Creep-recovery of bread and correlation to sensory measurements of textural attributes. *Cereal Chemistry*. 78(1): 101-104
- Catassi, C. & Fasano, A. (2008). Celiac Disease. Capítulo 1 en: *Gluten free cereal products and beverages*. Editado por: Arendt, E. K. & Dal Bello, F. Primera Edición. Editorial: Academic Press-Elsevier. 1-28
- Catsimpoilas, N., & Meyer, E. (1970). Gelation phenomena of soybean globulins. I. Protein–protein interactions. *Cereal Chemistry*. 47: 559–570
- Cauvain, S. P. (2007). Bread the product. Capítulo 1 en: *Technology of breadmaking*. Segunda Edición. Editado por: Stanley P. Cauvain & Linda S. Young. Editorial Springer Berlin Heidelberg New York. 1-20
- Cauvain, S. P. & Young, L. S. (2000). *Bakery Food Manufacture and Quality: Water Control and Effects*. Oxford: Blackwell Science.

- Christianson, D. D., Gardner, H. W., Warner, K., Boundy, B. K., & Inglett, G. E. (1974). Xanthan gum in protein-fortified starch bread. *Food Technology*. 28: 23–29
- Clemente, A., Vioque, J., Sánchez-Vioque, R., Pedroche, J., Bautista, J. & Millán, F. (2000). Factors affecting the in vitro protein digestibility of chickpea albumins. *Journal of Science Food and Agriculture*. 80: 79-84
- Ciclitira, P. J. & Ellis, J. H. (2009). Classification of proteins in cereal grains: What is toxic and how is it measured in foods?. Capítulo 3 en: *Gluten free food science and technology*. Editado por: Gallagher, E. Primera Edición. Editorial: Wiley-Blackwell. 28-41
- CODEX (2008). Codex Alimentarius. Codex Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten. Revised 2008. CODEX Stan 118-1979. Revisado el 16 de septiembre de 2013. Disponible en: [http://www.codexalimentarius.net/download/standards/291/cxs\\_118e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/291/cxs_118e.pdf)
- Cornell, J.A. (2002). *Experiments with Mixtures: Designs, Models, and the Analysis of Mixture Data*. John Wiley & Sons. New York, U.S.A.
- Cornford, S.J. (1969) Volume and crumb firmness measurements in bread and cake. FMBRA Report No. 25, May, CCFRA, Chipping Campden, UK
- Crockett, R., Ie, P., & Vodovotz Y. (2011). How do xanthan and hydroxypropyl-methyl-cellulose individually affect the physicochemical properties in a model gluten-free dough?. *Journal of Food Science*. 76 (3): E274-E282
- Cureton, P. & Fasano, A. (2009). The increasing incidence of celiac disease and the range of gluten-free products in the marketplace. Capítulo 1 en: *Gluten free food science and technology*. Editado por: Gallagher, E. Primera edición. Editorial: Wiley-Blackwell. 1-15
- Damodaran, S. (1996). Amino acids, peptides, and proteins. En: Fennema, O. R. 3era Edición. Editorial Food Chemistry. New York: Marcel Dekker. 321–429
- Dobraszczyk, B.J., Grant, M., Campbell, Gan, Z. (2001). Bread: A unique food. In: D.A.V. Dendy, B.J. Dobraszczyk. *Cereals and cereal products: chemistry and technology*. Gaithersburg, ML: Aspen Publications. 182-232

- Eliasson, A. -C. (1983). Differential scanning calorimetry studies on wheat starch-gluten mixtures. Effect of gluten on the gelatinization of wheat starch. *Journal of Cereal Science*. 1: 199–205
- Eliasson, A.-C. & Larsson, K. (1993). *Cereals in Breadmaking: A molecular colloidal approach*. New York: Marcel Dekker
- El-Adawy, T. (2002). Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. *Plant Foods for Human Nutrition*. 57: 83-97
- FAO, (2004). El arroz y la nutrición Humana. Año internacional del arroz 2004 el arroz es vida. En: <http://www.fao.org/rice2004/es/f-sheet/hoja3.pdf>. Consultado el 12 de junio de 2013
- Figura, L. O. & Teixeira, A. A. (2007). Water Activity. Capítulo 1 en: *Food Physics. Physical properties –measurement and applications*. Editorial Springer Berlin Heidelberg New York. 1-39
- Fitzpatrick, K. (2007). Gluten-free: Increasing opportunities with increasing awareness. *Cereal Foods World*. 52: 150-151
- Gallagher, E., Gormley, T. R., & Arendt, E. K. (2004). Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science and Technology*. 15: 143–152
- Gan, Z., Ellis, P.R., & Schofield, J.D. (1995). Mini review gas cell stabilization and gas retention in wheat bread dough. *Journal of Cereal Science*. 21: 215-230.
- Goesaert, H., Brijs K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K. & Delcour, J. A. (2005). Wheat flour constituents: how they impact bread quality and how to impact their functionality. *Trends in Food Science and Technology*. 16: 12–30
- Goesaert H., Courtin, C.M., y Delcour J.A. (2008). Use of enzymes in the production of cereal-based functional foods and food ingredients. Capítulo 11 en: *Gluten-free cereal products and beverages*. Editado por: Arendt, E. K. & Dal Bello, F. Editorial: Academic Press-Elsevier. 237-256



- Gujaska, E. & Khan K. (1990). Effect of temperature on properties of extrudates from high starch fractions of navy, pinto and chickpea beans. *Journal of Food Science*. 55: 466–469
- Gujral, H. S., Guardiola, I., Carbonell, J. V. & Rosell, C. M. (2003). Effect of cyclodextrinase on dough rheology and bread quality from rice flour. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 51: 3814-3818
- Gujral, H. S. & Rosell, C. M. (2004a). Functionality of rice flour modified with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science*. 39: 225-230
- Gujral, H. S. & Rosell, C. M. (2004b). Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Research International*. 37: 75-81
- Hager, A. S. & Arendt, E. K. (2013). Influence of hydroxypropyl-methyl-cellulose (HPMC), xanthan gum and their combination on loaf specific volume, crumb hardness and crumb grain characteristics of gluten-free breads based on rice, maize, teff and buckwheat. *Food Hydrocolloids*. 32: 195-203
- Hager, A. S., Wolter, A., Czerny, M., Bez, J., Zannini, E., Arendt, E. K., Czerny, M. (2012). Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. *Journal of European Food Research and Technology*. 235: 333–344
- Haque, A., & Morris, E. R. (1994). Combined use of ispaghula and HPMC to replace or augment gluten in breadmaking. *Food Research International*. 27(4): 379-393
- Hayman, D., Hosney, R. C. & Faubion, J. M. (1998<sup>a</sup>). Bread crumb grain development during baking. *Cereal Chemistry*. 75: 577-580.
- He, H., & Hosney, R. C. (1990). Changes in Bread Firmness and Moisture During Long-Term Storage. *Cereal Chemistry*. 67(6): 603-605
- Hoefler, A. C. (2004). *Hydrocolloids*. Eagan Press Handbook Series. AACC Inc. St. Paul MN. USA. 1-6
- Hosney, R. C. (1985). The mixing phenomenon. *Cereal Foods World*. 30: 453–7

- Hoseney, R. C. & Faubion, J. M. (1981). A mechanism for oxidative gelation of wheat flour water-soluble pentosans. *Cereal Chemistry*. 58: 421-424
- Hoseney, R. C. & Rogers, D. E. (1990). The formation and properties of wheat flour doughs. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29: 73-93
- Hug-Iten, S., Conde-Petit, B., & Echer, F. (2001). Structural properties of starch in bread and bread model systems—influence of an antistaling  $\alpha$ -amylase. *Cereal Chemistry*. 78, 421-428
- Ikura, K., Kometani, T., Sasaki, R. & Chiba, H. (1980). Crosslinking of soybean 7S and 11S proteins by transglutaminase. *Agricultural and Biological Chemistry*. 44: 2979-2984
- Iqbal, A., Khalil, I. A., Ateeq, N., & Khan, M. S. (2006). Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry*. 97: 331-335
- Kang, M. Y., Choi, Y. H. & Choi, H. C. (1997). Effects of gums, fats and glutens adding on processing and quality of milled rice bread. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 29: 700-704
- Klamczynska B., Czuchajowska Z. & Baik B-K. (2001). Composition, soaking, cooking properties and thermal characteristics of starch of chickpeas, wrinkled peas and smooth peas. *International Journal of Food Science and Technology*. 36: 563-572
- Kinsella, J. (1979). Functional properties of soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 56(3): 242-258
- Kolodziejska, I., Kaczorowski K., Piotrowska, B. & Sadowska, M. (2004). Modification of the properties of gelatin from skins of Baltic cod (*Gadus morhua*) with transglutaminase. *Food Chemistry* 86: 203-209
- Kuehl, R. O. (2001). *Diseño de Experimentos*. Segunda Edición. Editorial Thomson Learning
- Kulp, K., Hepburn F. N. & Lehmann, T. A. (1974). Preparation of bread without gluten. *Bakers Digest*. 48: 34-37, 58



- Larré, D., Chiarello, M., Dudek, S., Chenu, M. & Gueguen, J. (1993). Action of transglutaminase on the constitutive polypeptides of pea legumin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 41: 1816-1820
- Larsson, H. and Eliasson, A.-C. (1997). Influence of the starch granule surface on the rheological behaviour of wheat flour dough. *Journal of Texture Studies*. 28: 487–501
- Laureati, M., Giussani, B., Pagliarini, E. (2012). Sensory and hedonic perception of gluten-free bread: Comparison between celiac and non-celiac subjects. *Food Research International*. 46: 326–333
- Lazaridou, A. & Biliaderis, C. G. (2009). Gluten-free doughs: Rheological properties, testing procedures methods and potential problems. Capítulo 5 en: *Gluten free food science and technology*. Editado por: Gallagher, E. Primera Edición. Editorial: Wiley-Blackwell. U.S.A. 52-82
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc N. & Biliaderis, C. G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*. 79: 1033–1047
- Marco, C. & Rosell, C. (2008a). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *Journal of European Food Research and Technology*. 227: 1205–1213. DOI: 10.1007/s00217-008-0838-6
- Marco, C. & Rosell, C. (2008b). Effect of different protein isolates and transglutaminase on rice flour properties. *Journal of Food Engineering*. 84: 132–139. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2007.05.003
- Marconi, E., Ruggeri, S., Cappelloni, M., Leonardi, D. & Carnovale, E. (2000). Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum L.*) and common beans (*Phaseolus vulgaris L.*) following microwave cooking. *Agriculture Food Chemistry*. 48: 5986-5994
- Mariotti, M. & Alamprese, C. (2012). About the use of different sweeteners in baked goods. Influence on the Mechanical and Rheological Properties of the Doughs. *LWT - Food Science and Technology*. 48: 9-15
- Matos M.E. & Rosell M.C. (2012). Relationship between instrumental parameters and sensory characteristics in gluten-free breads. *Journal of European Food Research and Technology*. 235: 107–117



- McCarthy, D. F., Gallagher, E., Gormley, T. R., Schober, T. J., & Arendt, E. K. (2005). Application of response surface methodology in the development of gluten-free bread. *Journal of Cereal Chemistry*. 82: 609–615
- Mendoza N. (2005). Coeliac disease: and overview of the diagnosis, treatment and management. *British Nutrition Bulletin*. 30: 231-236
- Mezaize, S., Chevallier, S., Le Bail, A., & De Lamballerie, M. (2009). Optimization of gluten-free formulations for French-style breads. *Journal of Food Science*. 74(3): E140-E146
- Miao, M.; Zhang, T.; Jiang, B. (2009). Characterizations of kabuli and desi chickpea starches cultivated in China. *Journal of Food Chemistry*, 113 (4): 1025-1032
- Milán-Carrillo, J., Reyes-Moreno, C., Camacho-Hernández, I. L. & Rouzaud-Sández, O. (2002). Optimization of extrusion process to transform hardened chickpeas (*Cicer arietinum L.*) into a useful product. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82: 1718-1728
- Mintel (2013). En: [www.mintel.com/press-centre/food-and-drink/](http://www.mintel.com/press-centre/food-and-drink/). Consultado el 17 de octubre de 2013
- Miñarro, B., Albanell, E., Aguilar, N., Guamis, B., Capellas, M. (2012). Effect of legume flours on baking characteristics of gluten-free bread. *Journal of Cereal Science*. 56: 476-481
- Moore, M. M., Schober, T. J., Dockery, P., and Arendt, E. K. (2004). Textural comparison of gluten-free and wheat based doughs, batters and breads. *Cereal Chemistry*. 81: 567–575
- Moore, M. M., Heinbockel, M., Dockery, P., Ulmer, H. M., & Arendt, E. K. (2006). Network formation in gluten-free bread with the application of transglutaminase. *Cereal Chemistry*. 83: 28–36
- Mukhopadhyay, R. (2007). Tracking down traces of gluten in food. *Journal of Agriculture Chemistry*. July 1

- Nishita, K. D., Roberts, R. L. & Bean, M. (1976). Development of yeast-leavened rice-bread formula. *Cereal Chemistry*. 53(5): 626-635
- Ojeda, C. A., Tolaba, M. P. & Suárez, C. (2000). Modeling starch gelatinization kinetics of milled rice flour. *Cereal Chemistry*. 77(2): 145–147
- Onyango, C., Mutungi, C., Unbehend, G. & Lindhauer, M. G. (2010). Batter rheology and bread texture of sorghum-based gluten-free formulations modified with native or pregelatinised Cassava Starch and  $\alpha$ -amylase. *International Journal of Food Science and Technology*. 45: 1228–1235
- Onyango C, Mutungi C, Unbehend G, Lindhauer MG (2011). Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch. *LWT Food Science and Technology*. 44:681–686
- Paredes-López, O., Ordorica-Falomir, C. & Olivares-Márquez, M. R. (1991). Chickpea protein isolates: physicochemical, functional and nutritional characteristics. *Journal of Food Science*. 56: 726–729
- Peña, A. S. y Rodrigo, L. *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca*. En Rodrigo, L. y Peña, A. S., editores. *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca*. Barcelona, España: OmniaScience; 2013. p. 25-43.
- Pescador-Piedra, J. C., Farrera-Rebollo, R. R., & Calderón-Domínguez G. (2010). Effect of glucose oxidase and mixing time on soluble and insoluble wheat flour protein fractions: Changes on SH groups and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consumption. *Food Science and Biotechnology*. 19(6): 1485-1491
- Purhagen, J. K., Sjöö, M. E., Eliasson, A. C. (2012). The anti-staling effect of pre-gelatinized flour and emulsifier in gluten-free bread. *Journal of European Food Research and Technology*. 235: 265–276
- Quílez, J., Ruiz, J. A. & Romero, M. P. (2006). Relationships between sensory flavor evaluation and volatile and nonvolatile compounds in commercial wheat bread type baguette. *Journal of Food Science*. 71(6): 423-427
- Ranhorta, G. S., Loewe, R. J., & Puyat, L. V. (1975). Preparation and fortification of soy-fortified gluten-free bread. *Journal of Food Science*. 40: 62–64



- Rasiah, I. A., Sutton, K. H., Low, F. L., Lin, H. M., Gerrard, J. A. (2005). Crosslinking of wheat dough proteins by glucose oxidase and the resulting effects on bread and croissants. *Food Chemistry*. 85: 325-332
- Rautaray, S. K., Ghosh, B. C. & Mitra, B. N. (2003). Effect of fly ash, organic wastes and chemical fertilizers on yield, nutrient uptake, heavy metal content and residual fertility in a rice–mustard cropping sequence under acid lateritic soils. *Bioresource Technology*. 90: 275–283
- Ravi, R., & Bhattacharya, S. (2006). The time-dependent rheological characteristics of a chickpea flour dispersion as a function of temperature and shear rate. *International Journal of Food Science and Technology*. 41: 751–756
- Renzetti, S. & Arendt, E.K. (2009). Effect of protease treatment on the baking quality of brown rice bread: from textural and rheological properties to biochemistry and microstructure. *Journal of Cereal Science*. 50: 22–28
- Renzetti, S., Dal Bello, F., & Arendt, E. K. (2008). Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science*. 48(1): 33–45
- Ribottan, P. D., Ausar, F., Morbillo, M. H., Prez, G. Y., Beltramo, D. M., & Leon, A. E. (2004). Production of gluten-free bread using soybean flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84: 1969–1974
- Rincón, F., Martínez B. & Ibáñez, M. V. (1998). Proximate composition and antinutritive substances in chickpea (*Cicer arietinum L.*) as affected by the biotype factor. *Journal of Science Food Agriculture*. 78: 382-388
- Ronda, F., Pérez-Quirce, S., Angioloni, A., Collar, C. (2013). Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behaviour of gluten-free formulated rice doughs: a fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids*. 32: 252-262
- Rouzaud-Sáñez, O. (2012). Usos de la Calorimetría Diferencial de Barrido en el Análisis de Alimentos. Capítulo 10 en *Nuevas Tendencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Tópicos Selectos*. Primera Edición. Editorial Trillas, S.A. de C.V. México. Páginas: 237-282



- Rosell, C. M. (2009). Enzymatic manipulation of gluten free breads. Capítulo 6 en: Gluten free food science and technology. Editado por: Gallagher, E. Primera Edición. Editorial: Wiley-Blackwell. U.S.A.
- Rosell, C. M., & Marco, C. (2008). Rice. Capítulo 4 en: Gluten-free cereal products and beverages. Editado por: Arendt, E. K. & Dal Bello, F. Primera Edición. Editorial: Academic Press-Elsevier. 81-100
- Rosell, C. M. & Foegeding, A. (2007). Interaction of hydroxypropyl-methylcellulose with gluten proteins: small deformation properties during thermal treatment. *Food Hydrocolloid*. 21: 1092–100
- Rosell, C. M., Rojas, J. A. & Benedito de Barber, C. (2001). Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloid*. 15(1): 75–81
- Rosell C. M., Wang J., Aja, S., Bean, S. & Lookhart, G. (2003). Wheat flour proteins as affected by transglutaminase and glucose oxidase. *Cereal Chemistry*. 80: 52-55
- Roy, F., Boye, J. I., Simpson, B. K. (2010). Bioactive proteins and peptides in pulse crops: pea, chickpea and lentil. *Food Research International*. 43: 432-442
- Sabanis, D., & Tzia, C. (2011a). Effect of hydrocolloids on selected properties of gluten-free dough and bread. *Food Science and Technology International*. 17(4): 279-291
- Sabanis, D., & Tzia, C. (2011b). Selected structural characteristics of HPMC containing gluten-free bread: a response surface methodology study for optimizing quality. *International Journal of Food Properties*. 14(2): 417-431
- Sapirstein, H. D. (1999). The imaging and measurement of bubbles in bread. Capítulo 25 en : Bubbles in Food. Editado por: Grant M. Cambell, Colin Webb, Severino S. Pandiella y Keshavan Niranján. American Association of Cereal Chemists. St. Paul MN, USA
- Sarkar, N., & Walker, L. C. (1995). Hydration dehydration properties of methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose. *Carbohydrate Polymers*. 27(3): 177-185.

- Scanlon, M. & Zghal, M. (2001). Bread properties and crumb structure. *Food Research International* 34 (10): 841–864
- Schober, T. J. (2009). Manufacture of gluten-free specialty breads and confectionery products. Capítulo 9 en: *Gluten-free food science and technology*. Editado por: Gallagher, E. Blackwell Publishing Ltd. 130–180
- Schoenlechner, R., Siebenhandl, S., & Berghofer E. (2008). Pseudocereals. Capítulo 7 en: *Gluten-free products and beverages* Editado por: Arendt E. K. & Dal Bello, F. Primera Edición. Editorial: Academic Press-Elsevier. 149-176
- Sciarini, L.S., Ribotta, P.D., León, A.E., Pérez, G.T., (2010a). Effect of hydrocolloids on gluten-free batter properties and bread quality. *International Journal of Food Science and Technology*. 45 (11): 2306–2312
- Sciarini, L.S., Ribotta, P.D., León, A.E., Pérez, G.T., (2010b). Influence of gluten-free flours and their mixtures on batter properties and bread quality. *Food and Bioprocess Technology*. 3 (4): 577–585
- Seyer ME, Gelinas P (2009). Bran characteristics and wheat performance in whole wheat bread. *Int Journal of Food Science Technol*. 44(4): 688–693
- Singh, N., Sandhu, K. S., & Kaur, M. (2004). Characterization of Starches Separated from Indian Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars. *Journal of Food Engineering*. 63: 441–449
- Singh, J. & Whelan, K. (2011). Limited availability and higher cost of gluten-free foods. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 24: 479e486.
- Siu, N., Ma, C. & Mine, Y. (2002). Physicochemical and structural properties of oat globulin polymers formed by a microbial transglutaminase. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50: 2660-2665
- Sivaramakrishnan, H. P., Senge, B. & Chattopadhyay, P. K. (2004). Rheological Properties of Rice Dough for Making Rice Bread. *Journal of Food Engineering*. 62: 37–45



- Skendi, A., Biliaderis, C. G., Papageorgiou, M. & Izydorczyk, M. S. (2010). Effects of Two Barley  $\beta$ -glucan Isolates on Wheat Flour Dough and Bread Properties. *Food Chemistry*. 119: 1159-1167
- Slade L., Levine H., y Reid D.S. (1991). Beyond water activity: Recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 30(2-3): 115—360
- Sluimer, P. (2005). Principles of Breadmaking, Functionality of Raw Materials and Process Steps. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, U.S.A. ISBN: 1-891127-45-4
- Stauffer, C. E. (2007). Principles of dough formation. En: Technology of breadmaking. Editores: Cauvain, S. P. & Young L. S. NY: Springer Science+Business Media. LLC. 229-328
- Thavarajah, D. & Thavarajah, P. (2012). Evaluation of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Micronutrient Composition: Biofortification Opportunities to Combat Global Micronutrient Malnutrition. *Food Research International*. 49: 99–104
- Tiu, C. & Boger, D. V. (1974). Complete Rheological Characterization of Time-dependent Food Products. *Journal of Texture Studies*. 5:329–338
- Tömsközi, S., Lásztity, R., Haraszi, R., & Baticz, O. (2001). Isolation and study of the functional properties of pea proteins. *Nahrung/Food*. 45: 399–401.
- Tsatsaragkou, K., Yiannopoulos S, Kontogiorgi, A., Poulli, E., Krokida, M., Mandala I. (2012). Mathematical approach of structural and textural properties of gluten free bread enriched with carob flour. *Journal of Cereal Science*. 56: 603-609
- Vemulapalli V., Hoseney R.C. (1998). Glucose oxidase effect on gluten and water solubles. *Cereal Chemistry*. 75: 859-862
- Vemulapalli, V., Miller, K. A. & Hoseney, R. C. (1998). Glucose oxidase in breadmaking systems. *Cereal Chemistry*. 75: 439-442



- Vroemen, A. J. (2003). Glucose oxidase. Capítulo 13 en: Handbook of food enzymology. Editores: Whitaker, Voragen, & Wong. Editorial Marcel Dekker, Inc. N. Y., USA
- Wieser, H. & Koehler, P. (2008). The Biochemical Basis of Celiac Disease – Review. *Cereal Chemistry*. 85(1): 1-13
- Yadav, B. S., Sharma, A. & Yadav, R. B. (2010). Effect of storage on resistant starch content and in vitro starch digestibility of some pressure-cooked cereals and legumes commonly used in India. *International Journal of Food Science and Technology*. 45: 2449–2455
- Ylimaki, G., Hawrysh, Z. J., Hardin, R. T. & Thomson, A. B. R. (1988). Application of Response Surface Methodology to the Development of Rise Flour Yeast Breads Objective Measurements. *Journal of Food Science*. 53: 1800-1805