



"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 de los Alimentos

Especialidad en Almacenamiento y Procesamiento de Granos

Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre las propiedades fisicoquímicas, reológicas, térmicas y estructurales de la masa y calidad del pan

TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS

Presenta:

Jesús Enrique Gerardo Rodríguez

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

Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre las propiedades fisicoquímicas, reológicas, térmicas y estructurales de la masa y calidad del pan

M.C. Jesús Enrique Gerardo Rodríguez

Dr. Benjamín Ramírez Wong

Director de la tesis

Dra. Patricia Isabel Torres Chávez

Miembro del comité de tesis

Dra. Ana Irene Ledesma Osuna

Miembro del comité de tesis

Dra. Elizabeth Carvajal Millán

Miembro del comité de tesis

Dr. Jaime López Cervantes

Miembro del comité de tesis

DERECHOS DE AUTOR

El presente trabajo de tesis se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del grado de **Doctor en Ciencias de los Alimentos** 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 de Programa del Posgrado.

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

Atentamente

M.C. Jesús Enrique Gerardo Rodríguez

Dr. Francisco Rodríguez Félix
Coordinador del Programa de Posgrado

Hermosillo, Sonora

Diciembre del 2018

AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento a la UNIVERSIDAD DE SONORA y al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA) que han hecho posibles mis estudios y me han dado la formación necesaria para triunfar profesionalmente.

Gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por hacer posible mi estancia en el posgrado por medio del apoyo económico y del sustento de los proyectos de investigación; un ejemplo de las instituciones que México necesita para promover la educación y prosperar.

Agradecimiento a MUNSA por proporcionar la materia prima para la elaboración del experimental de tesis.

A mi director de tesis Dr. Benjamín Ramírez Wong y al comité de tesis integrado por la Dra. Patricia Isabel Torres Chávez, Dra. Ana Irene Ledesma Osuna, Dra. Elizabeth Carvajal Millán y Dr. Jaime López Cervantes que con sus aportes y conocimiento han hecho posible que logre concluir con éxito mi trabajo de tesis.

A mis compañeros del departamento que con sus valiosos consejos y aportaciones hicieron posible que finalizara con éxito mi trabajo experimental.

DEDICATORIA

Dedicado a mi familia, especialmente a mi hermano y a mis padres que me han apoyado no sólo económica sino emocionalmente en todas mis decisiones personales y profesionales. A ellos les debo lo que soy y lo que pueda llegar a ser en mi vida.

A mis compañeros y amigos del DIPA quienes han estado conmigo en los momentos difíciles y me han hecho disfrutar mi estancia en la universidad.

Dedicado para mis amigos de toda la vida los cuales crecimos juntos han estado en momentos buenos y malos que he pasado en mi vida.

A mis maestros del DIPA, especialmente al Dr. Benjamín Ramírez Wong quienes me han conducido por el camino del conocimiento y han hecho grandes aportes para que pueda concluir con éxito mi tesis de doctorado.

RESUMEN

El pan es uno de los alimentos de mayor consumo en el mundo, por lo que se buscan alternativas para obtener pan con mayor vida de anaquel y con características organolépticas agradables al consumidor; el proceso de pan pre-horneado y almacenado en congelación es una opción. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, reológicas, térmicas y estructurales de la masa y la calidad del pan. Se obtuvo harina de trigo de la variedad Kronstad y se le determinó contenido de humedad, ceniza, proteína, gluten, pH y propiedades reológicas. Se elaboró pan con 0, 3 o 6 min de pre-horneado. El pan pre-horneado se congeló a velocidad lenta ($-0.15^{\circ}\text{C}/\text{min}$) o velocidad rápida ($-1.45^{\circ}\text{C}/\text{min}$) y se almacenó a temperatura de congelación de -20°C hasta 56 días. Cada 14 días se mostró y se liofilizó pan pre-horneado para diferentes determinaciones. Algunos panes pre-horneados se descongelaron y otros se hornearon en su totalidad para obtener pan; al pan pre-horneado se le determinó solubilidad relativa de gluteninas y gliadinas, contenido de tioles libres, contenido de almidón resistente, propiedades viscoelásticas, perfil de viscosidad, propiedades térmicas y difracción de rayos X; al pan se le determinó volumen específico, firmeza y humedad. Se utilizó un diseño de experimentos factorial de $3 \times 2 \times 5$. Los factores fueron: tiempo de pre-horneado (0, 3 o 6 min), velocidad de congelación lenta ($-0.15^{\circ}\text{C}/\text{min}$) o rápida ($-1.45^{\circ}\text{C}/\text{min}$), y tiempo de almacenamiento (0, 14, 28, 42 o 56 días). A los datos obtenidos de todas las se les hizo un análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de confiabilidad del 95%. Los factores que afectaron significativamente ($P < 0.05$) en esta investigación fueron tiempo de pre-horneado (TP), velocidad de congelación (VC), tiempo de almacenamiento (TA) y las interacciones TP*TA y VC*TA. En todos los tiempos de almacenamiento la PPS fue mayor con 0 min de pre-horneado. A los 3 y 6 min de pre-horneado la proteína polimérica soluble disminuyó. La proteína insoluble aumentó su concentración a los 3 y 6 min de pre-horneado debido a la desnaturalización causada por la temperatura de pre-horneado. Existe una tendencia de disminución de la cantidad de tioles libres

al aumentar el tiempo de almacenamiento en congelación, por lo que a 0 días de almacenamiento se presenta mayor cantidad de los mismos. Para cualquier tiempo de almacenamiento, el tiempo de pre-horneado incrementa los módulos de elasticidad (G') y de viscosidad (G'') y disminuyó el pico de gelatinización con la prueba viscoelástica de barrido de temperatura. En la mayoría de los casos, con el tiempo de almacenamiento se incrementó la elasticidad de la masa y el pan pre-horneado. El tiempo de pre-horneado disminuyó $\tan \delta$ incrementando la elasticidad en la masa y el pan pre-horneado. Existe una tendencia de disminución de ΔH_g cuando se incrementa el tiempo de almacenamiento. Para cualquier tiempo de almacenamiento, a los 3 y 6 min de tiempo de pre-horneado disminuyó la entalpía de gelatinización. A 3 y 6 min de pre-horneado la cantidad de almidón resistente fue mayor que con 0 min. En la prueba de difracción de rayos X, a tiempo 0 de pre-horneado se presentó una mayor área en la señal y menor intensidad relativa, lo cual indica mayor grado de cristalinidad. La intensidad de la señal se intensificó conforme aumentaba el tiempo de pre-horneado a 3 y 6 min. El volumen específico del pan más alto fue obtenido a 6 min de pre-horneado. La velocidad de congelación lenta dio como resultado pan con mayor volumen específico comparado con la congelación rápida. A tiempos de almacenamiento en congelación prolongados el volumen específico del pan disminuyó posiblemente debido a la formación de cristales, recristalización y redistribución de la humedad.

ABSTRACT

Bread is one of the most consumed foods in the world, for that reason alternatives are sought to obtain bread with longer shelf life and with good organoleptic characteristics to the consumer: the process of part-baking bread and freezing storage is an option. The aim of this work was to determine the effect of part-baking time, freezing rate and storage time on the physicochemical, rheological, thermal and structural characteristics of the dough and bread quality. Kronstad wheat flour was obtained and moisture content, ash content, protein content, gluten content, pH and rheological properties were determined. Part-baked bread was baked for 0, 3 or 6 min. Next, It was frozen at slow freezing rate (-0.15°C/min) or fast freezing rate (-1.45°C/min) and stored at temperature of -20°C until 56 days. Every 14 days samples of part-baked bread were freeze-dried for different evaluations. Another part-baked bread samples were thawed and completely baked to obtain bread. In part-baked bread was determined relative solubility of glutenins and gliadins and content of thiols, resistant starch content, viscoelastic properties, thermal properties, perfil of viscosity, X-ray diffraction; In bread was determined specific volume, firmness and moisture content. A factorial experiments design of 3x2x5 was used. The factors were: part-baked time (0, 3 or 6 min), slow freezing rate (-0.15°C/min) or fast freezing rate (-1.45°C/min); and storage time (0, 14, 28, 42 or 56 days). The data obtained were analyzed with an analysis of variance (ANOVA) with 95% of confidentiality. The factors that most significantly affected ($P < 0.05$) were part-baked time (TP), freezing rate (VC), storage time (TA) and TP*TA and VC*TA interactions. In all storage times the soluble polimeric protein (PPS) was higher with 0 min of part-baking. At 3 and 6 min of part-baked, PPS decreases. The insoluble protein increased their concentration at 3 and 6 min of part-baking due to the insolubility caused by part-baking. Exist a tendency to decrease the amount of thiols by increasing the freezing storage time, so that at 0 days of storage there were more thiols content. The part-baking time increases G' and G'' and decreases the gelatinization peak for all storage times. In most cases, the storage time generates

the increase of elasticity in dough and part-baked bread. The pre-baked time decreases $\text{Tan } \delta$ by increasing the elasticity in the dough and the pre-baked bread. There is a tendency of decrease of ΔH_g when the storage time increases. Pre-baking time at 3 and 6 min decreases the gelatinization peak at all storage times. In X-ray diffraction analysis, at time 0 of part-baking, there was a greater area in the signal and lower relative intensity, which indicates a higher degree of crystallinity. The intensity of the signal intensified as the part-baking time increased to 3 and 6 min. The highest specific volume of bread was obtained at 6 min of part-baking. Slow freezing rate resulted in bread with higher specific volume compared to fast freezing rate. At prolonged freezing storage times the bread volume decreased due to crystal formation, recrystallization and water redistribution.

CONTENIDO

	Página
DERECHOS DE AUTOR	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIAS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	viii
CONTENIDO	x
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE TABLAS	xvi
NOMENCLATURA	xviii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
Importancia del Pan.....	5
Industria de la Panificación.....	5
Pan de Masa Congelada y Pan Pre-Horneado.....	7
Ingredientes.....	9
Harina.....	9
Agua.....	9
Sal.....	9
Levadura.....	10
Grasa.....	10
Otros Ingredientes (aditivos).....	10
Elaboración del Pan.....	11
Incorporación de los Ingredientes.....	11
Amasado.....	11
Boleado y Formado.....	12
Fermentación.....	12
Horneado.....	13
Congelación, Almacenamiento y Descongelación.....	13
Horneado Final.....	15
Principales Componentes del Pan.....	15
Agua Libre y Agua Ligada.....	15
Almidón.....	16
Amilosa.....	16
Amilopectina.....	16
Gluten.....	17
Gliadinas.....	17
Gluteninas.....	18
Congelación de la Masa.....	18
Velocidad de Congelación.....	19
Congelación lenta.....	19
Congelación rápida.....	20

CONTENIDO (Cont...)

	Página
Efecto del Contenido de Agua en la Masa Congelada.....	20
Cambios Físicoquímicos en Congelación de la Masa.....	21
Efectos en el Gluten de Masa Congelada y Pan Pre-horneado.....	22
Efectos en el Almidón en Masa Congelada y Pan Pre-horneado.....	22
Efectos del Almacenamiento en Congelación del Pan.....	23
Aditivos para Masa Congelada y Pan Pre-horneado.....	24
Evaluación de la Calidad del Pan Pre-Horneado.....	25
Evaluaciones Viscoelásticas.....	25
Generalidades.....	25
Viscoelasticidad en panificación.....	26
Viscoelasticidad en el amasado.....	27
Viscoelasticidad en la fermentación.....	28
Viscoelasticidad en masa congelada.....	29
Viscoelasticidad en pan pre-horneado.....	33
Volumen del Pan.....	34
Textura del Pan.....	35
Envejecimiento del Pan.....	36
HIPÓTESIS	39
OBJETIVOS	40
General.....	40
Específicos.....	40
MATERIALES Y MÉTODOS	41
Materia Prima.....	42
Proceso de Elaboración de Pan Pre-horneado.....	42
Formulación del Pan.....	42
Preparación de la Masa.....	43
Pre-horneado, Congelación y Almacenamiento.....	43
Descongelación de la Masa y el Pan Pre-horneado.....	44
Horneado del Pan.....	44
Evaluaciones Físicoquímicas.....	44
Proteína Soluble.....	44
Proteína Insoluble.....	45
Contenido de Tioles Libres.....	45
Almidón Resistente.....	45
Evaluaciones Reológicas.....	46
Prueba de Barrido de Frecuencia.....	46
Prueba de Barrido de Temperatura.....	46
Perfil de Viscosidad.....	46
Evaluaciones Térmicas.....	47
Calorimetría de Barrido Diferencial.....	47

CONTENIDO (Cont...)

	Página
Evaluaciones Estructurales.....	47
Difracción de Rayos X.....	47
Evaluación de la Calidad del Pan.....	48
Volumen Específico.....	48
Humedad.....	48
Firmeza.....	48
Diseño del Experimento y Análisis Estadístico.....	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
Evaluaciones Fisicoquímicas.....	50
Proteína Soluble.....	50
Proteína Insoluble.....	57
Contenido de Tioles Libres.....	62
Almidón Resistente.....	65
Evaluaciones Viscoelásticas.....	71
Prueba de Barrido de Frecuencia.....	71
Prueba de Barrido de Temperatura.....	78
Perfil de Viscosidad.....	84
Pico de viscosidad.....	84
Break down.....	88
Set back.....	89
Evaluaciones Térmicas.....	90
Calorimetría de Barrido Diferencial.....	90
Evaluaciones Estructurales.....	95
Difracción de Rayos X.....	95
Evaluaciones de la Calidad del Pan.....	98
Volumen Específico.....	98
Contenido de Humedad.....	104
Firmeza.....	107
Correlaciones entre las Diferentes Evaluaciones.....	112
CONCLUSIONES.....	117
REFERENCIAS.....	118
ANEXO 1. Capitulo de Libro Publicado.....	134
ANEXO 2. Artículo Publicado.....	153
ANEXO 3. Artículo Enviado.....	164

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Procesos de pan elaborados a partir de masa congelada y pan pre-horneado	8
2	Diagrama general de la investigación.....	41
3	Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad de la proteína polimérica soluble (PPS) del pan pre-horneado.....	53
4	Efecto del tiempo de pre-horneado y la velocidad de congelación sobre la solubilidad de la proteína polimérica soluble (PPS) en pan pre-horneado.....	55
5	Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad de la proteína monomérica soluble (PMS) del pan pre-horneado....	56
6	Efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad de la proteína monomérica soluble (PMS) del pan pre-horneado....	58
7	Efecto de tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la proteína polimérica insoluble (PPI) del pan pre-horneado.....	60
8	Efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la proteína polimérica insoluble (PPI) del pan pre-horneado.....	61
9	Efecto de tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre los tioles libres de las proteínas del pan pre-horneado.....	64
10	Efecto de tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre los tioles libres de las proteínas del pan pre-horneado.....	66

LISTA DE FIGURAS (Cont...)

FIGURA		Página
11	Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre el almidón resistente del pan pre-horneado.....	69
12	Efecto de la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento sobre el almidón resistente del pan pre-horneado.....	70
13	Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre G' como una función de frecuencia en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.....	73
14	Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre G'' como una función de frecuencia en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.....	75
15	Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre $\tan \delta$ como una función de frecuencia en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.....	77
16	Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre G' como una función de temperatura en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.....	79
17	Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre G'' como una función de temperatura en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.....	81
18	Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre $\tan \delta$ como una función de temperatura en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.....	83
19	Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el perfil de viscosidad del pan pre-horneado.....	87

LISTA DE FIGURAS (Cont...)

FIGURA		Página
20	Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre la entalpía de gelatinización (ΔH_g) del pan pre-horneado.....	92
21	Efecto de la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento sobre la entalpía de gelatinización (ΔH_g) del pan pre-horneado.....	94
22	Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento a los 0, 28 y 56 días sobre la cristalinidad del almidón del pan pre-horneado.....	97
23	Efecto de A) tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento; B) velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el volumen específico del pan.....	101
24	Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre el volumen específico del pan a las 2, 24 y 48 h.....	103
25	Efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el volumen específico del pan a las 2, 24 y 48 h.....	105
26	Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre la firmeza del pan a las 2, 24 y 48 h.....	110
27	Efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre la firmeza del pan a las 2, 24 y 48 h.....	111

LISTA DE TABLAS

TABLA		Página
1	Propiedades fisicoquímicas y reológicas de la harina obtenida de trigo de la variedad Kronstad.....	51
2	Análisis de varianza, valor de F, del efecto del tiempo de pre-horneado, la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad relativa de la proteína polimérica soluble del pan pre-horneado.....	52
3	Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre los tioles libres de las proteínas del pan pre-horneado.....	63
4	Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre el almidón resistente del pan pre-horneado.....	67
5	Análisis de varianza, valor de F, del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre G' y G'', obtenidos en barrido de frecuencia (F) y temperatura (T).....	72
6	Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre los parámetros del perfil de viscosidad del pan pre-horneado.....	85
7	Valores de los parámetros de perfil de viscosidad del pan pre-horneado a diferentes tiempos de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento.....	86
8	Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre las propiedades térmicas del pan pre-horneado.....	91
9	Porcentaje de cristalinidad del pan pre-horneado a diferentes tiempos de pre-horneado, velocidades de congelación y tiempos de almacenamiento.....	96

LISTA DE TABLAS (Cont...)

TABLA		Página
10	Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre el volumen específico, firmeza y humedad del pan.....	99
11	Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre el contenido de humedad (%) del pan almacenado a las 2, 24 y 48 h.	106
12	Efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el contenido de humedad (%) del pan almacenado a las 2, 24 y 48 h.....	108
13	Valores de los coeficientes de correlación (r) entre las propiedades viscoelásticas, perfil de viscosidad y entalpía de gelatinización del almidón del pan pre-horneado.....	113
14	Valores de los coeficientes de correlación (r) entre los parámetros viscoelásticos del pan pre-horneado y la calidad del pan.....	113
15	Valores de los coeficientes de correlación (r) entre las proteínas y la calidad del pan.....	113

NOMENCLATURA

Abreviatura/ Símbolo	Descripción	Unidad
A_w	Actividad de agua	%
AR	Almidón resistente	%
BD	Break down	Cp
FIRM	Firmeza	gf ⁻¹
G'	Módulo elástico	Pa
G''	Módulo viscoso	Pa
GLI	Gliadinas	-
GLU-HMW	Gluteninas de alto peso molecular	-
GLU-LMW	Gluteninas de bajo peso molecular	-
HUM	Humedad	%
L	Extensibilidad	mm
P	Tenacidad	mm
PPI	Proteína polimérica insoluble	%
PPS	Proteína polimérica soluble	%
PRH	Tiempo de pre-horneado	min
SB	Set back	Cp
SH	Tioles libres	mol SH/g de proteína
TAM	Tiempo de almacenamiento	días
VC	Velocidad de congelación	°C/min
VE	Volumen específico	cm ³ /g ⁻¹
VL	Velocidad de congelación lenta	°C/min
V_{max}	Viscosidad máxima	Cp
VR	Velocidad de congelación rápida	°C/min
W	Fuerza	J
ΔH_g	Entalpía de gelatinización	cal/g

INTRODUCCIÓN

El proceso de pan pre-horneado es un método muy común en panificación. La industria de panificación ahorra dinero y obtienen beneficios en términos de logística y tiempo. Sin embargo, hay una reducción de volumen de pan y calidad debido a al proceso de congelación y almacenamiento (Rosell *et al.*, 2001). En el proceso de elaboración de pan deben ser consideradas la temperatura de almacenamiento, el contenido de agua, y otras condiciones del proceso (Rouille *et al.*, 2000). Todos esos factores afectan el comportamiento reológico, los cuales involucran el almidón, las proteínas y el agua debido a que afectan la gelatinización del almidón, reducción y desnaturalización de las proteínas y redistribución del agua, fenómeno que cambia la proporción viscosa y elástica de la masa y el pan pre-horneado.

La matriz gluten-almidón también es dañada por la redistribución del agua porque esta no regresa a su lugar original y se pierde cuando la masa es descongelada. La levadura también es afectada por la congelación debido a la formación de gradientes de presión que deshidrata la levadura (Barcenás *et al.*, 2004). Los cristales de hielo crecen durante el almacenamiento en congelación, pero el balance de agua permanece constante. Gant *et al.* (1990) observaron rupturas en la membrana de las celdas de gas atribuidas al daño mecánico en la red de gluten causado por la formación de cristales. Uno de los factores que más afecta la red de gluten y la levadura es la velocidad de congelación. Cuando se utiliza velocidad de congelación lenta (menos de 1°C/min), se forman grandes cristales de hielo y rompen la estructura de la red de gluten, disminuyendo la capacidad de retención de CO₂ (Cauvain y Young, 2008). Por otro lado, con la velocidad de congelación rápida (más de 1°C/min) la formación de cristales se queda en etapa de nucleación y daña menos las proteínas del gluten. Esos factores de deterioración son reflejados en pérdida de calidad de la masa, incremento de la firmeza así como cambios indeseables en las proteínas (Casey y Foy, 1995). Se han estudiado diferentes maneras de limitar el daño de los efectos de la congelación del pan pre-horneado se

han propuesto varios métodos como la modificación de los parámetros de elaboración, cambios en la formulación de la masa y el uso de aditivos (Ribotta *et al.*, 2004; Rouille *et al.*, 2000).

La evaluación de las propiedades reológicas es una herramienta muy útil para observar los cambios de los alimentos a nivel molecular. Los cambios químicos están relacionados a los cambios en el comportamiento reológico (Huang *et al.*, 2008). En panificación, la extensibilidad, elasticidad, masticabilidad, textura y viscoelasticidad son parámetros reológicos que son directamente reflejados en el volumen específico del pan. En el proceso de elaboración de pan pre-horneado, la temperatura de horneado, la congelación y las condiciones de almacenamiento afectan los componentes de la masa (almidón, proteínas y agua). El pre-horneado causa baja calidad del pan y las pruebas reológicas hacen posible detectar tales problemas.

Adicionalmente, las pruebas de movimiento dinámico oscilatorio son usadas para detectar la región viscoelástica lineal para determinar el daño de la estructura de la masa. Esta prueba se usó por diferentes investigadores de masa congelada y pan pre-horneado (Edwards *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2003; Boom, 2006; Zheng *et al.*, 2000; Correa *et al.*, 2010; Dobraszcyk *et al.*, 2003). El método aplica pequeños esfuerzos de manera oscilatoria ocasionando una deformación a la muestra. Algunos estudios mostraron que la viscoelasticidad está directamente relacionada con los polímeros del gluten. Las gluteninas son responsables de la elasticidad y extensibilidad, mientras que las gliadinas de la viscosidad. (Lee *et al.*, 2003). La naturaleza de algunos procesos, tales como la congelación de la masa o el pan pre-horneado, involucra el rompimiento de enlaces disulfuro formados entre subunidades de glutenina de alto peso molecular (HMW-GLU, por sus siglas en inglés) debido a la congelación y las condiciones de almacenamiento (Barcenas *et al.* 2003; Giannou *et al.*, 2005; Ribotta *et al.*, 2004; Yi y Kerr, 2009). Esto causa la disminución de la capacidad del gluten de retener CO₂, resultando en la formación de una miga densa y menos volumen del pan.

En panificación el almidón es importante porque actúa como soporte en la estructura de la red del gluten. Esos componentes se entrecruzan y forman la miga (Jekle *et al.*, 2016). Las mediciones reológicas en la masa muestran que el almidón no solo actúa como soporte, sino que interactúa con el gluten y es responsable en parte del comportamiento viscoelástico de la masa (Miller y Hosney, 1999).

Una de las principales ventajas del almidón es su capacidad para retener humedad debido a los grupos hidroxilo. Esta humedad da lugar a la formación de la masa y el desarrollo del gluten. Además, el almidón sirve como una fuente de energía para las levaduras, las cuales, a través de las enzimas amilasas y amiloglicosidasas hidrolizan las cadenas hasta formar glucosa que se utiliza como sustrato por las levaduras para producir dióxido de carbono y etanol. El almidón es sensible a los cambios de temperatura presentes en el proceso de horneado, desarrollando fenómenos característicos como la gelatinización y la retrogradación (Jekle y Becker, 2012). La gelatinización del almidón es necesaria para la elaboración de pan, mientras que la retrogradación es señal de pérdida de calidad (envejecimiento del pan). En panificación se usan aditivos para retener la humedad y retardar la retrogradación del almidón (Barcenás *et al.*, 2004).

La adición de los ingredientes como sal, grasa, la levadura y otros aditivos afectan la viscoelasticidad de la masa y son necesarios para la elaboración de pan (Anon *et al.*, 2004). Algunos estudios demostraron que cada ingrediente tiene un efecto sobre la masa (Selomulyo y Zhou, 2007). Por ejemplo, la sal compite por la humedad presente en la masa y le da cohesividad, mientras que la grasa dificulta la distribución del agua debido a su naturaleza hidrofóbica, provocando que el flujo de agua hacia el exterior de la miga sea más lento. Otros aditivos antienviejamiento usualmente retienen la humedad y retardan la retrogradación del almidón (Barcenás *et al.*, 2004). El almidón incrementa la absorción de agua y, como consecuencia, la parte viscosa es mayor. Además, estudios reológicos pueden dar información sobre la gelatinización y los cambios viscoelásticos con diferentes tratamientos. Algunos autores que estudiaron los cambios de los componentes del pan elaborado mediante

el proceso de pre-horneado son Barcenás *et al.* (2004); D. Novotni *et al.* (2011); Lopes-Almeida *et al.* (2013) y otros. Rosell y Santos (2010) demostraron que la adición de 10% de almidón resistente o una mezcla de fibra de avena e inulina disminuía el volumen específico e incrementaba la firmeza de la miga del pan y esas características se deterioraban más durante el almacenamiento en congelación. En otros estudios llevados a cabo por Ronda *et al.* (2014), la recristalización de la amilopectina fue promovida por la inulina, retrasando el flujo de la humedad del centro de la miga hacia la corteza. Esos efectos resultan en el incremento de la firmeza y pérdida de cohesividad.

Algunos autores (Deepak, *et al.*, (2016); Toktam, *et al.*, (2017); Coda, *et al.*, (2017); Saeede *et al.*, (2017)), estudiaron la calidad del pan con el propósito de incrementar el volumen y reducir la firmeza y pérdida de la humedad debido a la retrogradación o envejecimiento del pan. Sin embargo, son necesarios más estudios para obtener pan pre-horneado y congelado con mejor calidad. El objetivo de este estudio es determinar el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre los cambios en las propiedades fisicoquímicas de las proteínas del gluten, en la reología de la masa, propiedades térmicas, propiedades estructurales y calidad del pan. De esta forma, se pretende mejorar el proceso de elaboración del pan pre-horneado y almacenado en congelación para la obtención de un pan comparable con el pan fresco. Por lo anterior es necesario estudiar los cambios en las proteínas y en el almidón en las diferentes etapas del proceso de elaboración de pan pre-horneado haciendo uso de diferentes tiempos de pre-horneado (0, 3 o 6), velocidades de congelación (lenta o rápida) y aumentar el tiempo de almacenamiento procurando menor pérdida de calidad en el producto final

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Importancia del Pan

El pan es un alimento elaborado a partir de harina de trigo, es consumido desde hace mucho tiempo y sigue siendo muy apreciado en la actualidad. Este producto se obtiene a partir de la fermentación de la masa por las levaduras, las cuales producen dióxido de carbono (CO₂) a partir de los carbohidratos obtenidos de la harina y el posterior horneado de la masa, dando como resultado un producto con un atractivo color café, corteza crujiente, aroma agradable y una miga con textura suave y elástica (Giannou *et al.*, 2003). Los Egipcios fueron los pioneros quienes hicieron popular el arte de la panificación a través del mundo (Mondal y Datta, 2007).

El ingrediente principal del pan es la harina de trigo refinada, la cual es la más común. También se elaboran panes de harina de trigo integral y existen otras opciones como el pan de centeno, arroz, entre otros. Sin embargo, una particularidad de la harina de trigo cuando se le adiciona agua, es la capacidad de formar el gluten (debido al contenido de gliadinas y gluteninas que representan el 80% de las proteínas del gluten) que retiene el CO₂ producido por la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y por lo que el pan adquiere volumen. El almidón en panificación tiene la función de absorber el agua y formar una matriz gluten-almidón, propiedad necesaria para la formación del pan.

Industria de la Panificación

En la industria de la panificación es necesario mejorar los procesos comerciales para obtener pan con mayor calidad que pueda ser consumido fresco por un tiempo más prolongado (Gray y Bemiller, 2003). Mejorando la forma de elaborar el pan es posible reducir costos, expandir el mercado y extender la vida de anaquel

(Selomulyo y Zhou, 2007). Para lograrlo, es muy útil el uso de nuevas tecnologías, por ejemplo con el método de congelación de la masa, empaques de atmósferas controladas (MAP) y el método de pre-horneado del pan. El pre-horneado del pan consiste en un paso de horneado corto sin que desarrolle las características de un pan listo para consumir, pero adquiriendo una estructura lo suficientemente rígida para ser almacenado (Hamdami *et al.*, 2004) con la ventaja de poder consumirse posteriormente. Una vez que la pieza será consumida, sólo requiere un proceso de horneado final, permitiendo así: ahorrar dinero y esfuerzo en el punto de venta, ampliar el área de distribución del producto, menor mano de obra, mejorar la logística, disminuir costos por pérdida de producto por merma y resultar beneficioso para el consumidor. Sin embargo, algunas características de calidad se reducen por este proceso (Giannou *et al.*, 2005).

Cuando el pan pre-horneado se almacena ya sea en refrigeración, atmósferas controladas o mediante congelación, el producto sufre daños que reduce la aceptabilidad del consumidor. Es necesario considerar dos aspectos importantes cuando se aplica refrigeración: después del horneado, el producto es enfriado y empaquetado y este puede contaminarse por microorganismos capaces de desarrollarse a temperaturas de refrigeración; y, a pesar de eso, un gran número de microorganismos es inactivado durante el horneado. En el centro de la miga, algunos pueden sobrevivir debido a que la temperatura no es tan alta como en la corteza (Lainez *et al.*, 2008). Bajo condiciones estrictas de atmósferas controladas el pan es bien protegido contra microorganismos aeróbicos (Deschuyffeleer *et al.*, 2011).

Cuando se utiliza el proceso de congelación la red de gluten formada encargada de retener el CO₂ producido por las levaduras se daña por los cristales de hielo. El daño incrementa con el tiempo de almacenamiento en congelación, por lo tanto, disminuye su habilidad de retener CO₂ y se forma pan con menor volumen (Ribotta, *et al.*, 2003). La industria de la panificación se beneficia de varios estudios en los que se adicionan aditivos que mejoran la maquinabilidad de la masa como pentosanós (Martinez-Anaya y Jimenez, 1997), mejoradores de volumen y textura como

emulsificantes (Twillman y White, 1988), hidrocoloides (Armero y Collar, 1996) y enzimas (Martinez-Anaya *et al.*, 1999), todo lo anterior para obtener un pan que se asemeje a uno fresco con mayor volumen y una miga menos firme.

Pan de Masa Congelada y Pan Pre-horneado

Debido a la importancia del consumo del pan a nivel mundial, en las últimas décadas intensificaron los estudios para mejorar el proceso de elaboración. Es por ello que hoy en día los métodos de conservación de productos semi-terminados son exitosos y usados por la industria de la panificación. Dos de los procesos más estudiados y empleados por los productores de pan son la congelación de la masa y la congelación del pan pre-horneado para su posterior almacenamiento. El proceso de masa congelada fue objeto de estudio durante las últimas décadas. Cuenta con los beneficios de ampliar el área de distribución del producto, menos mano de obra, mejora logística y disminuye costos por pérdida de producto por merma (Giannou *et al.*, 2005). Sin embargo, los productos de este proceso presentan pérdidas de calidad como disminución del volumen del pan y aumento de firmeza. Lo anterior como resultado de la muerte de levaduras lo que disminuye la cantidad de CO₂ para producir volumen del pan aunado al debilitamiento de la red del gluten debido al rompimiento de los enlaces disulfuro del gluten por incremento de los cristales de hielo con la congelación (Anon *et al.*, 2004; Giannou *et al.*, 2005). Por otro lado, la opción del pan pre-horneado ofrece las mismas ventajas e incluso la obtención del producto final es más rápido debido a que el paso restante es hornearlo. Esto lo convierte en una opción más atractiva para la industria y las desventajas son menores que en masa congelada ya que no hay disminución de viabilidad celular por muerte de las levaduras debido a que la etapa de fermentación ya se llevó a cabo antes de la congelación y el almacenamiento. En la Figura 1 se muestran ambos procesos de elaboración del pan.

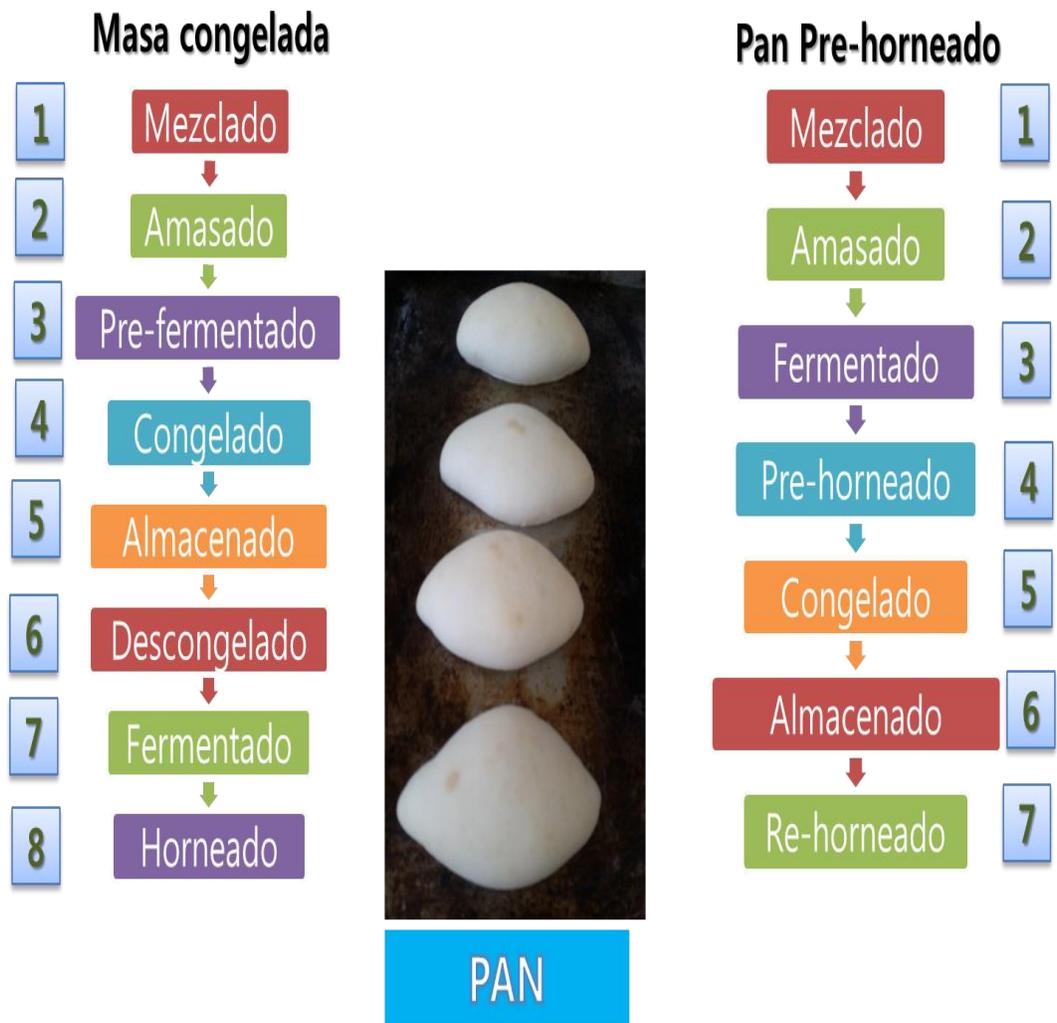


Figura 1. Procesos de pan elaborados a partir de masa congelada y pan pre-horneado.

Ingredientes

Harina

Es el producto obtenido de la molienda seca del trigo, utilizándose principalmente la fracción conocida como endospermo (Dubois y Juhué, 2000). En la elaboración del pan comúnmente se utiliza harina de trigo por ser la única con la capacidad de formar gluten debido a su contenido de proteínas gliadinas y gluteninas. Las primeras se pueden encontrar como monómeros y las segundas son polímeros de alto o de bajo peso molecular (Shewry y Halford, 2001). Otros componentes contenidos en la harina son almidón (el mayor componente), agua y un bajo contenido de lípidos.

Agua

Es uno de los componentes más importantes en la elaboración del pan. El contenido de agua y su distribución son responsables de las propiedades de textura y de la suavidad de la miga, de que la corteza sea crujiente y de la vida útil del pan (Wagner *et al.*, 2007). Su presencia juega un papel importante para la expansión de las burbujas y para la formación del gluten, dando así la capacidad de retención del CO₂ producido por las levaduras, las cuales también requieren del agua para la activación de su metabolismo. Además, el desarrollo de la masa con una adecuada hidratación contribuye a una buena elasticidad y extensibilidad (Cauvain y Young, 2008).

Sal

La presencia de la sal (cloruro de sodio) no solamente contribuye al sabor del pan, sino que también cumple un papel importante en la regulación de la fermentación, en la calidad de la masa al darle consistencia y a su capacidad de retener agua e

indisponerla (Miller y Hosenev, 1999). De esa manera evita que se pierda en el proceso de elaboración del pan. Además, un contenido menor de agua libre alarga la vida de anaquel del producto debido a que disminuye la presencia de microorganismos (Cauvain y Young, 2008).

Levadura

La levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) realiza el proceso de fermentación transformando el azúcar presente en dióxido de carbono (proporciona volumen al pan) y etanol, quienes evitan el incremento de calor dentro de la miga y por lo tanto, la pérdida de humedad (Mondal y Datta, 2007). Es posible utilizar levadura en diferentes presentaciones según sea conveniente, ya sea levadura deshidratada o levadura húmeda.

Grasa

La presencia de grasa vegetal mejora la maquinabilidad de la masa y de acuerdo a Mousia *et al.* (2008), controla la migración de CO₂ de la matriz de gluten, disminuyendo la pérdida del gas. Además, contribuye a la textura del pan dando suavidad, disminuye la pérdida de humedad y por lo tanto, evita el aumento de firmeza con el envejecimiento (Hasenhuettl, 2005).

Otros Ingredientes (aditivos)

La adición de otros ingredientes como hidrocoloides y crioprotectantes es común en la elaboración de pan pre-horneado ya que es necesario para producir pan que satisfaga las demandas del consumidor. El pan debe cumplir ciertos requisitos de calidad y poderse almacenar por un tiempo prolongado. El uso de aditivos para preservar la frescura del pan como las sales (propionato de sodio) previene la contaminación microbiológica. Para incrementar el volumen del pan y obtener una miga firme son utilizados emulsificantes, oxidantes (ácido ascórbico) ácido diacetil

tartárico (DATEM, por sus siglas en inglés) e hidrocoloides (goma guar, goma xantana). Esos aditivos trabajan controlando la movilidad del agua de la masa (Ribotta *et al.*, 2001). En la masa congelada y pan pre-horneado es necesario agregarlos para retener el agua y evitar la formación de cristales. La indisponibilidad del agua ayuda a mantener la calidad del pan gracias a que previene la pérdida de agua en la descongelación.

Elaboración del Pan

Incorporación de los Ingredientes

El primer paso para la elaboración de un pan es la incorporación de los ingredientes, los cuales consisten en 100% harina de trigo (tomada como base), 64% agua, 2% levadura, 1.5% sal y 2% grasa (los dos primeros afectan principalmente las características de textura de la miga del pan). Esta formulación puede variar según el tipo de pan deseado (Mondal y Datta, 2007). Es necesario primeramente homogeneizar los ingredientes (1 minuto de mezclado sin incorporación de agua).

Amasado

Una vez homogeneizados los ingredientes, es necesaria la formación de la masa incorporando la cantidad de agua correcta para desarrollarla y permitir que tenga la textura adecuada. El amasado se lleva a cabo durante los 3 minutos posteriores a la adición del agua (en amasadora). Este paso es importante para que exista una correcta formación de la masa desarrollando sus propiedades plásticas: cohesividad, elasticidad y extensibilidad (Cauvain y Young, 2008). Durante este proceso se forman pequeñas burbujas de gas (oxígeno y nitrógeno), que son posteriormente remplazadas por el dióxido de carbono producido por las levaduras (Mondal y Datta, 2007).

Boleado y Formado

Una vez desarrollada la masa se procede al boleado, en el cual se prepara para el proceso de formación de la pieza de pan. Se pesan las porciones requeridas en una balanza con el propósito de que todas las piezas sean iguales. El boleado se puede realizar de manera manual o utilizando divisoras (Serna-Saldívar, 1996). El formado puede variar según estilo y tipos de pan y es el paso donde se requiere la habilidad del panadero para que el producto final tenga las características del tipo de pan elaborado y es importante para la aceptación del consumidor. Un pan mal formado podría presentar pérdida de volumen y malformaciones visualmente desagradables (Mousia *et al.*, 2008).

Fermentación

Durante la fermentación la levadura incorporada a la fórmula actúa produciendo CO₂ utilizando los carbohidratos presentes como fuente de energía. El total de gas producido se difunde en la masa, lo que aumenta el tamaño de las celdas dando volumen a la masa, lo cual es deseado para la formación de una pieza de pan de buena calidad (John *et al.*, 2002). Las levaduras requieren de la presencia de oxígeno para activarse, el cual está presente en las celdas; una vez consumido dicho oxígeno comienza la fermentación anaeróbica en la que se produce principalmente CO₂ y etanol. El CO₂ es solubilizado primeramente en el agua presente en la masa, sin embargo, al saturarse el CO₂ es liberado a las celdas aumentando su tamaño y dando lugar a la expansión de la masa y disminución de la densidad (Poitrenaud, 2004; Romano *et al.*, 2007). Por lo regular, las piezas de masa suelen fermentarse en cámaras de fermentación por 1 hora a una humedad relativa controlada de 85% y una temperatura de 30°C lo que optimiza la actividad de la levadura. La cantidad de CO₂ retenido por el gluten corresponde a un 40% del total producido por las levaduras (Cauvain y Young, 2008).

Horneado

Una vez que transcurre el tiempo de fermentación de la masa, la pieza se corta para permitir una mejor cocción. Posteriormente, el horneado se lleva a cabo comúnmente a una temperatura de 250°C por 10 minutos para obtener un pan completamente cocido y con el volumen adecuado (Magaña-Barajas *et al.*, 2014). La formación de la corteza es uno de los factores limitantes que restringen la expansión de la masa (Wagner *et al.*, 2007). El transporte del agua del núcleo hacia la corteza en el horneado es un fenómeno que ocurre a través de los poros interconectados hacia la superficie bajo la influencia del gradiente de concentración de vapor de agua (Luyten *et al.*, 2004). Durante el proceso de horneado, el almidón contenido gelifica y ocurren reacciones de oscurecimiento no enzimático como la reacción de Maillard que consiste en la reacción entre un azúcar reductor y el grupo amino de las proteínas. Esta reacción forma una serie de compuestos responsables de la coloración de la corteza, así como compuestos volátiles que dan lugar al olor característico del pan. Otro responsable de la coloración del pan es la reacción de caramelización. El sabor del pan es resultado del horneado de la masa así como también a compuestos resultado de la reacción de Maillard, reacción de caramelización y gelatinización del almidón. Además, la presencia de azúcar en la formulación puede endulzar el sabor del pan. El producto del horneado también desarrolla una textura característica del tipo de pan elaborado resultado de la gelatinización del almidón y algunos de los ingredientes que contribuyen son la presencia de sal y la grasa (Brathen y Knutsen, 2005).

Congelación, Almacenamiento y Descongelación

El proceso de congelación es uno de los más utilizados en la industria para la preservación de alimentos debido a que retiene la frescura del producto reduciendo la actividad enzimática, actividad de agua (A_w) y reduce significativamente el desarrollo de microorganismos deteriorativos. En panificación, es ampliamente usado por la industria en la masa como una alternativa para la producción y

almacenamiento. Es recomendable que el pan pre-horneado sea enfriado antes de congelarse para evitar daño y pérdida de la calidad del producto. Bárcenas y Rosell, (2007) congelaron muestras hasta que el centro de la miga alcanzara -40°C y asegurar así que la pieza completa mantuviera la misma temperatura. Le-Bail *et al.* (2011) utilizaron temperaturas entre -20 y -30°C . El proceso de congelación del pan pre-horneado podría depender de la velocidad de congelación. La mayoría de los alimentos pueden ser congelados con mejores resultados con velocidad de congelación rápida ya que presenta menos deterioro. Estudios llevados a cabo por Silvas-Garcia *et al.* (2010) en masa congelada mostró mejores resultados utilizando velocidad de congelación lenta debido a la presencia de levaduras las cuales presentan menos daño. Sin embargo, en pan pre-horneado la etapa de fermentación ya fue llevada a cabo al congelarlo por lo que la velocidad de congelación rápida es la más adecuada. Sin embargo, es necesario llevar a cabo más investigaciones para confirmar dicho efecto. Cuando el pan es congelado el objetivo es almacenarlo para elaborarlo en un corto tiempo y sin pérdida de frescura. El pan pre-horneado debe ser almacenado bajo ciertos cuidados para mantener su integridad. Una vez que el pan pre-horneado es congelado debe ser protegido con un material aislante para prevenir la pérdida de humedad. Barcenás *et al.* (2003), utilizó películas de polietileno para prevenir la deterioración de las muestras y las almacenó a -18°C a diferentes intervalos. Usualmente, el pan pre-horneado, tanto comercial como para propósitos de investigación, se almacena una vez que el centro de la miga alcanza -20°C y podría variar según la velocidad de congelación. Esto es llevado a cabo utilizando un termopar. El almacenamiento se lleva a cabo a la misma temperatura (-20°C) por el tiempo necesario hasta la descongelación y consumo. El ciclo de congelación-descongelación produce efectos perjudiciales en la calidad del pan (Barcenás *et al.*, 2003). La descongelación se realiza previniendo la pérdida de humedad. Algunos investigadores realizaron la descongelación de manera lenta hasta 4°C (4 horas de refrigeración). Bárcenas *et al.* (2003) descongelaron muestras de pan a temperatura ambiente. Después de eso, el pan pre-horneado está listo para la etapa de re-horneado.

Horneado Final

La última etapa del proceso de pan pre-horneado es el horneado final el cual se lleva a cabo en el punto de venta. En esta etapa, la pieza es completamente horneada para ser consumida y la gelatinización parcial del almidón es finalizada. En esta etapa, el pan desarrolla características como color, sabor y volumen final. En pan pre-horneado y completamente horneado existe un flujo de humedad del centro hasta el exterior de la miga. Al final del horneado, la corteza tiene un bajo contenido de agua y una estructura firme y menos porosa (Zanoni *et al.*, 1993). Usualmente, el tiempo de horneado final varía dependiendo del tipo, tamaño del pan y las condiciones térmicas del horno. Esto debe ser experimentalmente determinado en cada caso (Fik y Surowka, 2002). Bárcenas *et al.* (2003) en su estudio hornearon totalmente el pan a 195°C por 14 min hasta completar un total de 20 min.

Principales Componentes del Pan

Agua Libre y Agua Ligada

El concepto de agua libre se refiere a aquella que se encuentra disponible en un sistema para ser utilizada en reacciones químicas y enzimáticas o por microorganismos, en este caso, en la masa cruda o el pan. Parte del agua libre se evapora en el proceso de horneado de la masa. El agua ligada, también llamada agua no congelable (-18°C) se encuentra ligada a las proteínas del gluten. Más del 90% del agua libre se congela a -20°C (Chen, 1985). La cantidad de agua adicionada a la harina para la elaboración de pan debe corresponder a la absorción requerida por la harina utilizada, medición que se logra haciendo uso de un farinógrafo (Oliver y Brock, 1997).

Almidón

La importancia del almidón se debe a que es la principal fuente de energía y es obtenido principalmente a partir de los cereales (Thomas y Atwell, 1999). En el pan elaborado con harina de trigo se encuentra en un alto porcentaje proporcionando cuerpo y textura. El almidón gelatinizado resulta en una estructura amorfa como consecuencia de las altas temperaturas del horneado (Primo-Martin *et al.*, 2006).

La composición molecular del almidón está formada por dos polímeros (amilosa y amilopectina) unidos mediante enlaces α 1-4 y α 1-6 y se encuentra en forma de gránulos. La forma de los gránulos depende de la especie botánica donde se encuentre. Una característica del almidón nativo es la presencia de “cruz de malta” y el fenómeno de birrefringencia (capacidad de refractar la luz polarizada). La mayoría de los almidones nativos son semi-cristalinos, es decir, tienen una cristalinidad del 15-45% (Zobel, 1973).

Amilosa

Polímero de glucosas unido mediante enlaces α 1-4. Su estructura es una cadena lineal formando espirales de 6 glucosas por vuelta y tiene un tamaño molecular de 1×10^6 Da, lo que lo hace 10 veces más alto que otros polímeros sintéticos convencionales (Li *et al.*, 2004). Su proporción depende del tipo de almidón, en trigo, corresponde aproximadamente al 25% y es más susceptible al fenómeno de retrogradación (Thomas y Atwell, 1999).

Amilopectina

Es el polímero que forma parte del almidón en mayor proporción. En trigo corresponde al 75% del total de almidón y se encuentra formado por uniones glucosídicas de D-glucosa mediante enlaces α 1-4 y α 1-6. Tiene un peso molecular de 1×10^8 Da, lo cual es mucho mayor que la amilosa. Su estructura es ramificada y

tiene un grado de polimerización de 15 en cadenas cortas y 45 en cadenas largas. Las cadenas ramificadas cortas de la amilopectina son el componente cristalino principal en el almidón granular (Liu *et al.*, 2006). Debido al impedimento estérico de su estructura y su alto peso molecular la movilidad de las cadenas ramificadas es muy reducida, por ello se disminuye cualquier tendencia a orientarse lo suficientemente cerca para permitir enlaces de hidrógeno de manera significativa (Li *et al.*, 2004). Este polímero presenta en menor medida el fenómeno de retrogradación (Thomas y Atwell, 1999).

Gluten

Cuando a la harina se le agrega agua y se le aplica una fuerza mecánica se forma el gluten debido a la hidratación de las proteínas, quienes tienen la capacidad de formar una red tridimensional viscoelástica estabilizada con enlaces covalentes disulfuro, enlaces de hidrógeno, iónicos e interacciones hidrofóbicas (Domenek *et al.*, 2003). Dicha red otorga la capacidad de retener dióxido de carbono, principio por el cual la masa adquiere volumen y da paso a la formación del pan. Las proteínas que componen el gluten son glutelinas (gluteninas) y prolaminas (gliadinas).

Gliadinas

Las gliadinas son proteínas del gluten que se encuentran presentes como una mezcla heterogénea de proteínas monoméricas con un amplio rango de peso molecular que va desde 3 hasta 8×10^4 Da y son responsables de la viscosidad de la masa (Carceller y Aussenac, 2001). Se clasifican en prolaminas ricas en azufre (γ -gliadinas y β -gliadinas) y pobres en azufre (ω -gliadinas). Las primeras tienen una proporción de 70-80% del total mientras que las ω -gliadinas tienen la característica de carecer de cisteína (Shewry y Halford, 2001).

Gluteninas

Las gluteninas son proteínas poliméricas del gluten que brindan la característica de elasticidad y extensibilidad a la masa las cuales pueden ser de alto peso molecular (HMW, por sus siglas en inglés) y de bajo peso molecular (LMW, por sus siglas en inglés) las cuales van desde 1×10^5 hasta 1×10^7 Da. Un pan de buena calidad presenta mayor contenido de gluteninas HMW debido a su alto contenido de cisteína, lo que permite la formación de enlaces disulfuro dando lugar a un gluten más estable (Shewry y Halford, 2001).

Congelación de la Masa

La congelación es uno de los procesos de preservación de alimentos más utilizados a nivel industrial debido a que conserva fresco el producto reduciendo su actividad enzimática, actividad de agua (A_w) y disminuye de manera importante el desarrollo de los microorganismos deteriorativos. El proceso de congelación de masas puede variar según la velocidad de congelación. La mayoría de los alimentos suele ser congelado con mejores resultados a velocidades rápidas ya que sus componentes se deterioran en menor medida. Estudios realizados por Silvas-García *et al.* (2010) en masa congelada mostraron mejores resultados a velocidad de congelación lenta debido a la presencia de levadura que se daña menos con este proceso de congelación.

Una vez que la masa es congelada debe ser protegida con algún material aislante para evitar entrada de humedad o que la muestra se reseque. Bárcenas *et al.* (2003), utilizaron películas de polietileno para evitar que la muestra se deteriore y poder así almacenarlo a -18°C a diferentes intervalos. Por lo general, la masa, tanto comercial como para fines de investigación, suele almacenarse una vez alcanzada la temperatura de -20°C en el núcleo de la pieza y este puede variar según la velocidad de congelación utilizada. Lo anterior se logra definir haciendo uso de un termopar.

La industria ya tiene estandarizado el tiempo adecuado del producto que elabora. El almacenamiento se lleva a cabo a esa misma temperatura por el tiempo necesario hasta el momento de su descongelación para su consumo.

Velocidad de Congelación

El proceso de congelación de alimentos es empleado ampliamente en diferentes tipos de productos debido a que permite mantenerlos almacenados por tiempos prolongados sin que estos presenten deterioro enzimático ni microbiológico (Yi y Kerr, 2009). Sin embargo, es posible que el alimento sufra cambios de textura y pérdida de calidad. En la masa esto se refleja en el producto como aumento de firmeza y disminución del volumen del pan (Kenny *et al.*, 1999). La magnitud de dichos daños depende del tipo de congelación.

Congelación lenta

Los congeladores comerciales comunes, ya sea por conducción o convección utilizan temperaturas alrededor de -20°C y son utilizados comercialmente para el almacenamiento de productos alimenticios. En el caso de la masa, una velocidad de congelación lenta ($-0.14^{\circ}\text{C}/\text{min}$) afecta la red del gluten debido a la formación de cristales grandes que rompen los enlaces disulfuro de las gluteninas, debilitando la masa, lo que lleva a pérdida de la capacidad de retención de gas y, por lo tanto, un volumen de pan más pequeño que el del pan fresco. Por otro lado, la actividad de las levaduras también se deteriora por efecto de la presión osmótica, lo cual causa la deshidratación de la célula y, por ende, una menor producción de CO_2 que conlleva a la producción de pan con menor volumen (Yi y Kerr, 2009). A pesar de estas desventajas, una velocidad de congelación lenta es menos perjudicial para la levadura y mantiene en mayor medida la actividad celular después de la descongelación que la velocidad de congelación rápida (Havet *et al.*, 2000).

Congelación rápida

Se considera velocidad rápida cuando la congelación disminuye 1°C por minuto o más. La pérdida de calidad mediante el uso de este proceso es menor ya que da lugar a la formación de cristales más pequeños que con velocidad lenta y, por lo tanto, el rompimiento mecánico de la red del gluten es menor (Phimolsiripol *et al.*, 2008). La congelación rápida permite disminuir el daño a la masa causado por la congelación, sin embargo, las levaduras son afectadas ya que la difusión del agua es disminuida, los cristales se forman dentro del núcleo, lo que lleva a la lisis de la célula. Lo anterior causa la liberación de glutatión, sustancia segregada por la misma célula cuando la membrana se rompe (Casey y Foy, 1995). El glutatión reduce los enlaces disulfuro y los convierte en grupos sulfhidrilo, lo cual debilita el gluten.

Efecto del Contenido de Agua en la Masa Congelada

La masa de harina de trigo cuenta con agua libre y agua ligada o no congelable. El agua libre es aquella que se congela por debajo de 0 °C y forma cristales de hielo. Por lo regular esta agua es responsable en gran parte de los daños estructurales que sufre el gluten por la formación de cristales y redistribución del agua que soporta la parte discontinua de la red de gluten causando disminución de la capacidad de retención de CO₂. Sin embargo, por debajo de -18°C el agua ligada a las proteínas y a los componentes de la masa pueden desligarse de su lugar de origen para aumentar posteriormente el tamaño de los cristales, agua que no regresa a su lugar y esto lleva a la conglomeración y pérdida de las proteínas de sus estructuras conformacionales que le otorgaban propiedades únicas que beneficiaban la calidad del producto. El almidón también se afecta ampliamente por este efecto debido a que la pérdida de humedad del mismo conlleva a un aumento de firmeza del pan en almacenamiento por efecto de una retrogradación más rápida (Kontogiorgos y Goff, 2007).

Cambios Fisicoquímicos en Congelación de la Masa

El objetivo de congelar la masa es almacenarla para posteriormente fermentarse y hornearse para obtener pan cuando se desee consumir. Lo anterior ofrece muchas ventajas mencionadas anteriormente, sin embargo, las desventajas se pueden observar en la disminución de la calidad y en una menor vida de anaquel. Esta pérdida de la calidad del pan está asociada a fenómenos que ocurren durante el almacenamiento a temperaturas bajo cero. Mientras la masa se encuentra congelada son frecuentes las fluctuaciones de temperatura, las cuales llevan a la formación de cristales de hielo más grandes que dañan en mayor medida la estructura de red del gluten formado por las proteínas, lo que la disminuye en tamaño y número los alveolos de la miga, produciéndose un pan más denso y apelmazado (Bárcenas y Rosell, 2006). Lo anterior da como resultado una miga más dura. La funcionalidad de las proteínas es afectada también de otras maneras, debido a que cuando se redistribuye el agua a temperatura de congelación aumentan las interacciones hidrofóbicas proteína-proteína y hace que estas precipiten. Además de eso, mientras mayor es el tiempo de almacenamiento mayor es la redistribución del agua, la cual no regresa a su lugar de origen y esta se pierde al momento de su descongelación (Bao y Wang, 2011). Todo esto lleva a un almidón menos hidratado el cual retrograda más fácilmente al haber menos agua que expulsar y, por lo tanto, un reordenamiento más rápido de los polímeros de amilosa y amilopectina, causando el endurecimiento de la miga y un flujo de la poca humedad restante hacia la parte externa de la pieza del pan, es decir la corteza. Lo anterior puede dar lugar al alojamiento de moho si el pan no es almacenado de manera adecuada.

La viscoelasticidad de la masa también es afectada por la congelación y el almacenamiento, debido a que como resultado del rompimiento de enlaces disulfuro de las gluteninas, disminuye la capacidad de elasticidad del producto y, por lo tanto, aumenta la viscosidad lo que se refleja en disminución de la calidad del producto final. En cuanto a las consecuencias de otros componentes del pan como los

arabinos (AX) con la congelación y almacenamiento, no existen muchos estudios sobre ello, pero se sugiere que disminuye la cantidad de AX extraíbles en agua y eso afecta la textura y calidad del pan (Rakszegi *et al.*, 2014).

Efectos en el Gluten en Masa Congelada y Pan Pre-horneado

El gluten es formado mezclando harina y agua. Con el trabajo mecánico producido mediante el mezclado se desarrolla un material elástico y extensible debido a las proteínas del gluten: gliadinas y gluteninas (Cauvain y Young, 2008). El gluten es necesario para la elaboración del pan ya que es responsable de formar una red para dar la estructura de la miga. En masa congelada y pan pre-horneado congelado las proteínas son dañadas por los cristales de hielo formados por congelación. Los cristales de hielo debilitan la red de gluten disminuyendo la capacidad de retención de CO₂ (Havet y Mankai, 2000). Además, debido a la formación de cristales de hielo existe una redistribución del agua que previamente estaba enlazada a las proteínas. Esta redistribución de agua incrementa los enlaces hidrofóbicos ocasionando que las proteínas del gluten pierdan su funcionalidad y conformación original (Lucas *et al.*, 2005). Esos y otros factores son responsables de la deterioración de la calidad del pan pre-horneado. El daño fue reportado generalmente en masa congelada, pero la pérdida de la calidad del pan pre-horneado es derivada de las mismas razones. Sin embargo, es necesario llevar a cabo más estudios en gluten y panificación.

Efectos en el Almidón en Masa Congelada y Pan Pre-horneado

El almidón del trigo es responsable, principalmente, por la absorción de agua de la harina para formar la masa necesaria para la elaboración de pan. Cuando la masa se forma y se pre-hornea para producir pan el almidón es gelatinizado parcialmente; el almidón se hincha al incrementar la absorción del agua por el efecto del incremento de temperatura. El almidón del trigo gelatiniza alrededor de los 60°C. Cuando el pan es congelado, el agua disponible para gelatinizar los gránulos de almidón es congelado en cristales de diferentes tamaños dependiendo de la

velocidad de congelación usada en el proceso. Ribotta *et al.* (2003) mostraron que el almacenamiento en congelación a -18°C por más de 150 días modifica las propiedades del almidón produciendo una mayor retrogradación. Este fenómeno también es responsable del aumento de la firmeza de la miga y de la disminución de la interacción almidón-proteína. El pan pre-horneado almacenado a temperaturas de -7°C a 4°C experimenta una máxima retrogradación del almidón (Vulicevic, *et al.*, 2004). Una vez que el producto está listo para el horneado final se descongela a temperatura ambiente, etapa en la cual la humedad sale del producto y el agua disponible se reduce. Debido a eso, la calidad del producto se reduce, lo que se refleja en una estructura de miga más densa con más firmeza y menor contenido de humedad, y más susceptible a una retrogradación rápida. Ghiasi *et al.* (1984) estudiaron el efecto del re-horneado (horneado completo) del pan por encima de 55°C y concluyeron que el proceso de retrogradación y firmeza del pan puede ser reversible.

Efectos del Almacenamiento en Congelación del Pan

Cuando la masa de harina de trigo es almacenada a temperatura de congelación, su deterioro aumenta (Xu *et al.*, 2008). Estudios realizados por Kontogiorgos y Goff, (2007) demostraron que existe un incremento del grado de pérdida funcional en la matriz del gluten en los primeros 20 días de almacenamiento. Este fenómeno es debido a que hay una mayor redistribución del agua a medida que el tiempo de almacenamiento es mayor, dando lugar a formación de cristales más grandes, lo que daña en mayor medida la red del gluten y disminuye su capacidad para retener el dióxido de carbono, así como daño a las proteínas, esto derivado de la redistribución del agua. Lo anterior ocasiona una disminución de la capacidad de retención del agua de las proteínas por lo que la pérdida del agua aumenta en la descongelación de la masa, lo que aumenta la firmeza, y disminuye la calidad del pan (Seguchi *et al.*, 2003). Otro factor a considerar es la temperatura a la cual va a almacenarse. Se ha demostrado que a temperatura mayor a -20°C se presentan fluctuaciones de temperatura lo que ocasiona la recristalización del agua (tendencia del hielo a

minimizar su energía libre, manifestándose como cambios de tamaño, forma) lo que ocasiona daños irreversibles a la red de gluten y a los gránulos de almidón (Zhang *et al.*, 2007).

Aditivos para Masa Congelada y Pan Pre-horneado

La industria de la panificación ha buscado alternativas para obtener mayor producto, con mejor calidad y a un menor costo. Uno de los problemas en la elaboración del pan es la limitada vida de anaquel debido a una pérdida de calidad, un bajo consumo y por lo tanto, pérdidas económicas. La conservación del pan en empaquetados bajo condiciones controladas, usando masa congelada y pan pre-horneado son algunas de las alternativas. Sin embargo, existen aditivos que mejoran los parámetros de calidad en el pan, lo cual reduce los efectos adversos del proceso de conservación, específicamente el pan pre-horneado congelado. Algunos de ellos actúan como gelificantes y forman emulsiones para estabilizar la estructura de la miga del pan. Algunos hidrocoloides dan estabilidad a los alimentos durante los ciclos de congelado-descongelado (Gurkin, 2002). La presencia de mejoradores de pan (alfa-amilasa, hidropilmetilcelulosa, k-carragenina, entre otros) minimizan los efectos adversos (incremento del rango de temperatura de retrogradación) de almacenamiento en congelación (Barcnas *et al.*, 2003). Una mezcla de aditivos conteniendo ácido ascórbico, alfa-amilasa, proteasas y hemicelulosa fue propuesto para extender la estabilidad del pan re-horneado (Ribotta y Le Bail 2007). Barcnas *et al.* (2004) encontraron que k-carragenina no fue un buen mejorador para el pan pre-horneado almacenado en congelación ya que tuvo un efecto adverso. Leon *et al.* (2000) describieron la habilidad de la carragenina para mejorar el volumen del pan debido a su interacción con las proteínas del gluten, pero k-carragenina forma geles rígidos que no son estables a los ciclos de congelación-descongelación (Gurkin, 2002; Ward y Andon, 2002).

La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) es un mejorador usado para incrementar el volumen del pan, mejorando la estructura de la miga y retardando el envejecimiento. (Guarda *et al.*, 2004). La habilidad del HPMC de actuar como un mejorador es atribuido a su estructura hidrofílica que permite la interacción con el agua (Schiraldi *et al.*, 1996). A pesar de eso, HPMC puede incrementar la actividad entre el agua y la fase no acuosa de la masa, favoreciendo la formación de emulsiones (Bell, 1990).

Evaluación de la Calidad del Pan Pre-horneado

Evaluaciones Viscoelásticas

Generalidades

La viscoelasticidad es un comportamiento de los materiales cuando son sometidos a un esfuerzo (relación sólido-líquido). Todos los alimentos tienen este comportamiento y su magnitud depende de los componentes que lo integran. Existen diferentes métodos utilizados para la obtención de los parámetros viscoelásticos y otras mediciones asociadas para determinar las características de un producto a partir de su comportamiento a la compresión.

En el método dinámico oscilatorio se aplica un esfuerzo o deformación paralelo sinusoidal (en tiempo) mediante platos que rotan de manera oscilatoria. El material viscoelástico responde a la deformación. El componente elástico representa el módulo de almacenamiento (G') y el componente viscoso se mide como módulo de pérdida (G''). La relación entre ambos módulos es igual al $\tan \delta$ o ángulo de fase (Dogan y Kokini, 2007). En una gráfica de esfuerzo/deformación de amplitud contra tiempo el ángulo de desfase determina la proporción viscosa o elástica. Mientras el ángulo sea más cercano a 90° se trata de un compuesto más viscoso, mientras más cercano a 0° será más elástico (Dogan y Kokini, 2007).

Viscoelasticidad en panificación

En el caso de la panificación, la viscoelasticidad es un comportamiento muy característico y su medición es utilizada para determinar si una harina es apta para la elaboración de ciertos productos. La obtención de una harina muy elástica se refleja en un pan de gran volumen debido a que este parámetro está relacionado con proteínas de buena calidad. La respuesta de deformación de la masa hasta la aplicación de un esfuerzo constante a menudo se trata de una respuesta viscosa. Por lo contrario, la masa como material viscoso muestra un alto nivel de elasticidad retardada con un largo tiempo de relajación (Lefebvre, 2006). Por otro lado, las mediciones dinámicas oscilatorias involucran pequeñas deformaciones para estudiar las estructuras y propiedades fundamentales de la masa de trigo (Song y Zheng, 2007). Algunos estudios reológicos fueron llevados a cabo por Dobraszczyk y Morgenstern (2003), esto para analizar propiedades viscoelásticas en masa por diferentes métodos, los cuales varían en tamaño de la muestra, geometría utilizada y tamaño de la deformación aplicada.

Previamente, Petrofsky y Hosney (1995) demostraron la existencia de interacciones entre el gluten y el almidón en la masa a 25°C. Por otro lado, Addo *et al.* (2001) sugiere que el almidón atrapado inicialmente dentro de gránulos se entrelaza entre la red de gluten y lo refuerza. Cuando una masa está sujeta a menos esfuerzo de corte en un estudio mediante oscilación dinámica muestra alta magnitud de los módulos debido a la presencia de proporciones altas de almidón en comparación con el gluten (Khatkar y Schofield, 2002). Análisis de viscoelasticidad llevados a cabo por Dreese y Hosney, (1990) en masa a bajas frecuencias mostraron que los valores de $\tan \delta$ se incrementaban con el aumento de la frecuencia. Un cambio similar en G' , G'' y $\tan \delta$ se observó en estudios realizados por otros autores con anterioridad. Se reportó que el módulo dinámico (G' y G'') se afecta por las proteínas de la harina y el contenido y calidad de proteínas, así como el contenido de agua en la masa. Estudios por Letang *et al.* (1999) registraron una disminución de G' y G'' cuando el contenido de agua se incrementa. Autio *et al.* (2001) reportaron valores

bajos de G' y G'' para harinas fuertes mientras que Janssen y Vereijken (1996) reportaron lo opuesto.

Viscoelasticidad en el amasado

Durante el mezclado de la harina con agua y otros ingredientes las propiedades viscoelásticas se desarrollan debido a la formación de matrices tridimensionales a través de interacciones proteína-proteína del gluten y proteína-carbohidrato del almidón (Addo *et al.*, 2001).

Cuando el proceso de mezclado e hidratación es insuficiente, el resultado es la formación de una estructura de una red proteínica discontinua con un número inadecuado de partículas de harina hidratadas (Kim *et al.*, 2008). La presencia de estas partículas rígidas de harina bajo mezclado y formación de masa da como resultado un gluten débil, responsable de la obtención de un comportamiento tipo sólido cuando se realizan análisis viscoelásticos con baja deformación. Lo anterior resulta en valores altos de G' y valores bajos de $\tan \delta$. Por otro lado, cuando la masa es formada con harina de trigo de variedades fuertes, estas muestran valores de viscoelasticidad más bajos que los observados en mezclados óptimos, pero más altos que una masa sobre mezclada. Esto indica que el sobre mezclado causa mayor daño en masas fuertes debido al alto rompimiento de la red de gluten dando como resultado valores de G' y G'' bajos (Sandeep *et al.*, 2013).

Los cambios que ocurren en los componentes de la masa y la formación de la red de gluten durante el procesamiento impactan en la calidad del producto final. Es por eso que muchos estudios en masa se realizan en relación al mezclado de una manera correcta (Dobraszczyk y Morgenstern, 2003). La deformación bi-axial extensional y la tensión de la masa muestran una relación significativa según estudios reportados por (Collar y Bollaín, 2004). Lo anterior ofrece información complementaria a la pequeña deformación realizadas mediante oscilación dinámica. Durante el procesamiento se expone a la masa a grandes deformaciones y esfuerzos de corte que caen del

dominio de la región lineal donde se mide la viscoelasticidad (Lefebvre, 2006). Aplicando grandes esfuerzos (Khatkar y Schofield, 2002) o deformaciones (Phan-Thien y Safari-Ardi (1998)) podría ser útil para predecir el potencial de panificación de la masa.

Viscoelasticidad en la fermentación

Durante la fermentación, la deformación extensional es un factor importante que afecta las propiedades reológicas y textura del pan. La extensión en la etapa de fermentación se estudia por diversos investigadores usando métodos empíricos, extensográficos (Tlapale-Valdivia *et al.*, 2010) y mixográficos (Sapirstein *et al.*, 2007). Estas técnicas también se utilizan para monitorear las propiedades reológicas durante el mezclado.

Existen varios estudios en propiedades reológicas de masa fermentada, de los cuales, algunos se llevaron a cabo por varios autores (Esselink *et al.*, 2003; Newberry *et al.*, 2002), en los que se dejó activa a la levadura durante las mediciones. Las propiedades reológicas de masa fermentada son difíciles de determinar debido a su naturaleza heterogénea y con cambios continuos en el sistema (Oliver y Brock, 1997; Wehrle y Arendt, 1998). Las mediciones oscilatorias se basan principalmente en el esfuerzo de deformación mientras que la deformación de la masa durante la fermentación es dominada por su flujo extensional (Dobraszczyka y Morgenstern, 2003). Esto sugiere el beneficio de usar el impulso viscoelástico en experimentos en masa.

Por otro lado, Wehrle y Arendt (1998) sugirieron que el comportamiento más viscoso durante la fermentación debería estar relacionado con la cantidad de burbujas de gas, las cuales interfieren con la red elástica de la masa. La misma tendencia se observó usando una técnica acústica (Skaf *et al.*, 2009). Es aparente que esos cambios reológicos están relacionados por la adición de levadura. Los productos panaderos que dependen de la levadura (producción de CO₂ y ácidos) podrían

afectar la acción de las enzimas y la solubilidad de las proteínas debido a los cambios en el pH así como a la geometría de la masa debido al crecimiento de las burbujas de aire. Como resultado, debería afectarse los enlaces involucrados en la red de gluten de la masa, alterando finalmente sus propiedades reológicas.

Se estudió el efecto de la levadura en la masa para elaborar pan en oscilación dinámica 24 horas después de su actividad (método esponja). Lee *et al.* (2004) investigaron los cambios en las propiedades reológicas de la masa durante la fermentación utilizando ultrasonido y pruebas extensionales donde G' y G'' y la viscosidad extensional de fermentación de la masa fueron analizadas. Los autores reportaron una pérdida del comportamiento elástico de las muestras de masa fermentada. Newberry *et al.* (2002) estudiaron métodos de inactivación de la levadura usando diferentes ciclos de congelación-descongelación. Concluyeron que la velocidad de congelación rápida seguido por dos etapas de descongelado dañaba menos a la levadura. La mayoría de los autores recomiendan la adición del doble de levadura en la elaboración de masa congelada (Phimolsiripol, 2009). Durante el congelado, la integridad de la membrana de la levadura está sujeta a alta presión osmótica. Por lo anterior, es necesaria una alta cantidad de fosfolípidos en la membrana para prevenir la ruptura (Codon *et al.*, 2003). Hohmann (1997) sugirió que la exposición a un estrés hiper osmótico da lugar a una deshidratación rápida de las células lo cual limita su producción de CO_2 , por lo cual es necesario incrementar su tiempo de fermentación.

Viscoelasticidad en masa congelada

La industria panadera explota las ventajas de la aplicación de tecnologías de congelación en alimentos y desarrolló un interés especial para conocer las necesidades de los clientes e incrementar la vida útil de sus productos (Giannou *et al.*, 2003). El mercado de la panificación lo ve como una oportunidad de ofrecer un valor agregado y esto se incrementó en las últimas décadas debido a las demandas

de los consumidores por conveniencia al obtener un producto de calidad (Bhattacharya *et al.*, 2003).

Algunas de las ventajas que ofrece la congelación es prolongar la vida útil y mejor organización en la elaboración del producto reduciendo horas de trabajo nocturnas. Sin embargo, debido a la utilización del proceso existen implicaciones de calidad, las cuales involucran deficiencias en comparación con los métodos tradicionales. Esas reducciones pueden atribuirse a la disminución de interacciones hidrofóbicas entre las proteínas, lo cual resulta en la precipitación debido a la redistribución del agua (Preston, 2001). Estos resultados sugieren que la conformación proteica beta plegada y alfa hélice son sensibles a la congelación por lo que son parcialmente desenvuelta bajo estas condiciones (Branlard *et al.*, 2011). Esto puede ser interpretado como la formación de un rango de nuevas hojas beta plegadas juntas con un desplazamiento a estructuras unidas mediante enlaces de hidrógeno menos fuertes (Georget *et al.* 2006) dando como resultado un aumento de la viscosidad (Dogan, 2002). Por lo tanto, la disminución de la calidad está muy relacionada con las proteínas por lo que al reducirse en cantidad se reduciría la elasticidad. Además de las proteínas, la calidad del pan en masa congelada está altamente influenciada por la formulación de la masa (Rouille *et al.*, 2000).

Una manera de medir los daños que sufren los componentes de la masa y entender la pérdida de su calidad es mediante el uso de pruebas reológicas. La medida de la viscoelasticidad está ampliamente ligada a la función de las proteínas y sus interacciones. Los cambios de viscoelasticidad que ocurren con la velocidad de congelación lenta, son explicados por la formación de cristales grandes causando daño la red de gluten (Meziani *et al.*, 2011). Por otro lado, la velocidad rápida permite que se formen cristales pequeños los cuales provocan menos consecuencias en la masa (Yi y Kerr, 2009). Los resultados de algunas investigaciones sugieren que G' , G'' y $\tan \delta$ de masa congelada a 1 Hz de frecuencia fueron afectadas por diferentes tratamientos de congelación, excepto por

nitrógeno líquido (Meziani *et al.*, 2012). Esto podría ser debido a que la red de gluten se debilita por los tratamientos de congelación tradicionales (Angioloni *et al.*, 2008).

Por otro lado, durante la congelación la levadura muere y libera agentes reductores como el glutatión la cual reduce los enlaces disulfuro que entrelazan la red del gluten (Collins y Haley, 1992). El glutatión debilita la masa al reducir los enlaces disulfuro de las proteínas del gluten, lo cual es un factor determinante en la viscoelasticidad del gluten. La masa congelada se obtiene mediante la adaptación de procesos mecanizados que desarrollan compañías internacionales para reducir los costos de producción y proveer productos estándares en cualquier momento (Rosell y Santos, 2010). La masa congelada a menudo está expuesta a la disminución de volumen específico al elaborar el pan. Este fenómeno es responsable de un incremento en el tiempo de fermentación en comparación con masa fresca (Anon *et al.*, 2004).

Debido a la sensibilidad de la red de gluten y de sus propiedades reológicas a la temperatura, la congelación influyen en las propiedades texturales de la masa (Gélinas *et al.*, 2004). Al descongelar la masa es posible realizar análisis oscilatorios que permiten ver el daño mediante el comportamiento de los módulos elástico y viscoso. Por lo general, una disminución del módulo elástico (G') indica el debilitamiento del gluten debido, probablemente debido al rompimiento de enlaces disulfuro de las cisteínas terminales encontradas en las gluteninas.

La disminución del volumen del pan elaborado con masa congelada está relacionada con el almacenamiento en congelación, lo cual reduce la capacidad fermentativa de la levadura y se pierde la integridad de la red de gluten. Este comportamiento afecta la maquinabilidad de la masa creando un problema en la cadena industrial (al reducir la vida útil del producto) debido a que la calidad de la masa se reduce (Selomulyo y Zhou, 2007). La resistencia del gluten al CO_2 disminuye con el rompimiento de sus enlaces, dando como resultado una retención pobre de gas y pérdida de volumen durante y después del horneado. Esto es resultado de la redistribución del agua en la matriz proteínica durante el congelado (Giannou y Tzia, 2007). Por otro lado,

Gormley *et al.* (2002) demostraron que las fluctuaciones de temperatura en el almacenamiento alteraban la congelación y disminuían la calidad de la masa debido a la recristalización. Además, el poder de gasificación depende del número de células de levaduras, estado fisiológico y la cantidad de azúcar fermentable (Teunissen *et al.*, 2002).

A través del trabajo de muchos autores (Inoue y Bushuk, 1992; Havet *et al.*, 2000; Giannou *et al.*, 2003) se consideró que los atributos de calidad del pan elaborado con masa congelada pueden mejorar con el uso de aditivos y más levadura en la formulación, disminuyendo los cambios en la estructura de la masa. La medición de la firmeza del pan se usa a menudo como una medición de la calidad de la miga; la cual fue determinada con éxito con un analizador de textura mediante un modo de doble compresión (Baik y Chinachoti, 2000; Carson y Sun, 2001). Los resultados obtenidos con este instrumento son limitados a correlaciones empíricas porque las pruebas no aportan datos reológicos fundamentales.

La medición de la firmeza y el volumen del pan son de los métodos más usados para la medición de la calidad del pan. Las pruebas viscoelásticas mediante deformaciones oscilatorias son poco útiles debido a la naturaleza altamente porosa de la miga, lo cual lleva a resultados variables (Rao y Quintero, 2005). Los análisis multivariados de datos analíticos del perfil reológico de las masas y panes (TPA, por sus siglas en inglés) han sido utilizados para evaluar las relaciones potenciales entre las propiedades funcionales de dichos productos (Maldo y Conti-Silva, 2014). Además, varios estudios revelan el efecto de la temperatura por encima de la transición vítrea (en el caso de masa congelada) lo cual acelera la retrogradación del almidón y por lo tanto la dureza del pan se incrementa (Charoenrein y Preechathamwong, 2010).

En todo el proceso de elaboración del pan, principalmente en la congelación de la masa o el pan pre-horneado y en el horneado final se dan modificaciones en el almidón que causan la redistribución del agua presente en la matriz de la masa y

despolimerización de las proteínas (Ribotta *et al.*, 2001). Lo anterior también afecta las propiedades reológicas debido a la retrogradación del almidón que sucede cuando el pan se enfría. Lo anterior provoca la pérdida más rápida de la humedad (sinéresis) y un reordenamiento de las cadenas de amilopectina haciendo que la miga se vuelva más firme y con menos volumen, defecto conocido como envejecimiento del pan (Abu-Ghoush *et al.*, 2008).

Viscoelasticidad en pan pre-horneado

Después de la etapa de fermentación, la siguiente etapa de elaboración de pan es el pre-horneado o el horneado total. La masa es expuesta a altas temperaturas y es donde suceden la mayoría de los cambios químicos que afectan la viscoelasticidad (Salvador *et al.*, 2006).

Al realizarse las mediciones mediante métodos oscilatorios, en masa pre-horneada, los valores de los módulos disminuyen, debido a que el calentamiento provoca la gelatinización del almidón y disminuyen todas las interacciones en el sistema (Dogan, 2002). Lo anterior podría ser debido a que la actividad de la enzima amilasa de la harina en el almidón dañado en etapas tempranas del horneado (bajas temperaturas) fue liberando el agua absorbida y reduciendo así la G' y G'' . Las temperaturas a la cual G' y G'' aumentan se relacionan con el incremento de la viscosidad debido al escape de la amilosa de los gránulos de almidón formando un gel (Addo *et al.*, 2001; Kasapis *et al.*, 2000).

Generalmente, durante la gelatinización, el agua penetra el gránulo de almidón y este se hincha. Al alcanzar cierta temperatura, el agua absorbida causa un fuerte efecto desestabilizando y dando lugar a la desorganización y disrupción de las zonas cristalinas o ramificaciones de amilopectina (Lai y Kokini, 1991). La gelatinización del almidón es posible observarse como una pérdida de birrefringencia, la cual toma lugar en un intervalo de temperatura de 10°C dependiendo del tipo de almidón (Salvador *et al.*, 2006).

El descenso del valor de G' indica el debilitamiento del gluten y podría atribuirse a una desnaturalización parcial de las proteínas (Addo et al., 2001). Un aumento de la temperatura de gelatinización causa un incremento en G' (Dogan, 2002). El comportamiento reológico del gluten muestra un comportamiento viscoso antes de los 60°C y a temperaturas mayores de horneado cambia hacia un comportamiento elástico (Salvador *et al.*, 2006). Esto indica que las proteínas del gluten responsables del comportamiento viscoso (gliadinas) probablemente estén entrelazándose con una estructura proteínica polimérica compleja (gluteninas) con el incremento de la temperatura (Singh y MacRitchie, 2011). López-Da-Silva *et al.* (2007) observaron un efecto similar en G' a temperaturas altas, que podría ser atribuido a interacciones de entrelazado inducidas en el gluten durante la formación de la red estructural. Se encontró que la fracción de glutenina en el gluten es más sensible al calentamiento que la fracción de gliadinas (Preston, 2001). Cuando la temperatura está por encima de 75°C, las gluteninas tienden a desenvolverse debido a la reacción de intercambio disulfuro-sulfhidrilo (Angioloni y Dalla Rosa, 2005).

Volumen del Pan

El volumen del pan es afectado por varios factores entre los que se encuentran la producción de dióxido de carbono de las levaduras, la calidad y cantidad de proteínas de la harina utilizada, el tiempo de fermentación, entre otros (Cauvain y Young, 2008). Cuando la harina es hidratada en el amasado, se forma el gluten que se compone por los polímeros gliadinas y gluteninas, quienes tienen la función de formar una red que retenga el gas (Lucas *et al.*, 2005). En masas congeladas, las proteínas encargadas de formar la red que retiene el CO₂ producido por las levaduras disminuyen su capacidad de retención de gas debido a una discontinuidad generada por la redistribución del agua así como por la reducción de dichos enlaces por el glutatión (Wolt y D'Appolonia, 1984). Este compuesto es liberado por la lisis de las levaduras derivado del daño producido a su membrana por el proceso de congelación. Como consecuencia, el pan elaborado con masa congelada presenta menor volumen de pan que aquel que fue elaborado con masa fresca. Havet *et al.*

(2000) estudiaron los efectos de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en masas congeladas, encontrando una reducción de 20% del volumen del pan con respecto al volumen del pan fresco.

Textura del pan

La textura del pan se puede dar por diferentes formas, que pueden ser alteradas, por el proceso de congelación de la masa. Los parámetros de textura pueden ser medidos en miga y corteza, realizando un análisis de perfil de textura (TPA, por sus siglas en inglés), técnica que simula los movimientos de una mordida (Fizman *et al.*, 2005). Los parámetros pueden ser detectados en una gráfica y pueden ser cuantificados. Estos parámetros son firmeza, fracturabilidad, masticabilidad, elasticidad, adhesividad, cohesividad, gomosidad y resiliencia (Bourne, 2002).

Uno de los parámetros más importantes para el pan es la firmeza (dureza), que está inversamente relacionada al volumen del pan (Yi *et al.*, 2009). En masas congeladas, la firmeza del pan aumenta con respecto al pan fresco, y este aumento está estrechamente ligado a la disminución de la elasticidad de la masa provocado por la disminución de enlaces disulfuro y la despolimerización de la glutenina, así como por la pérdida de agua de las proteínas y su desnaturalización, causado por la formación de cristales. El aumento de la firmeza se vuelve más evidente con el tiempo de almacenamiento de la masa a temperatura de congelación (Giannou y Tzia, 2007).

La adhesividad es otro de los parámetros texturales obtenidos con TPA y está relacionada con la fuerza requerida para separar un material de una superficie metálica. En el caso de la masa congelada, se afecta debido a la separación del agua de la red del gluten, particularmente por su redistribución en la recristalización. Esta humedad queda sobre la superficie permitiendo el incremento de la adhesividad (Yi y Kerr, 2009). Por otro lado, el parámetro textural denominado elasticidad en el TPA representa la extensión a la cual un alimento, en este caso el pan, que fue

expuesto a la compresión regresa a su estado original cuando el plato que ejerce presión se retira. La cohesividad es un parámetro textural directamente proporcional al grado de recuperación del pan después de la compresión, siendo esta del 85% cuando es sometida a una 50% de deformación (Keetels *et al.*, 1996).

La resiliencia es una medida de la recuperación a una deformación, en términos de velocidad y fuerza derivada. Dicho parámetro es directamente proporcional al grado de recuperación e inversamente proporcional a la deformación. En estudios realizados por Ponce-García (2014), se encontró una tendencia a la disminución de la resiliencia con el paso del tiempo de almacenamiento del pan a temperatura ambiente.

La gomosidad es un parámetro calculado a partir de la firmeza y cohesividad obtenidos anteriormente con el TPA. La gomosidad evalúa de cierta forma la firmeza del pan por lo que es directamente proporcional a la firmeza e inversamente proporcional a la cohesividad (Ponce-García, 2014).

La firmeza del pan se usa a menudo como una medición de la calidad de la miga. La firmeza se determina con éxito con un analizador de textura mediante un modo de doble compresión (Baik y Chinachoti, 2000; Carson y Sun, 2001). Los resultados obtenidos con este instrumento son limitados a correlaciones empíricas porque las pruebas no aportan datos reológicos fundamentales. La medición de la firmeza y el volumen del pan son de los métodos más usuales para medición de la calidad del pan.

Envejecimiento del Pan

La firmeza o dureza del pan de masa congelada aumenta con el almacenamiento (Berglund y Shelton, 2003; Phimolsiripol *et al.*, 2008). Esto se debe al fenómeno de retrogradación del almidón. Cuando el pan se hornea, el almidón gelatiniza y se desordena. Cuando éste retrogrado recupera cierto grado el orden de los polímeros

al perder humedad, lo cual se conoce como histéresis. El envejecimiento ocurre debido a la migración del agua hacia fuera del producto. La difusión de la humedad ocurre por las celdas que actúan como tubos capilares, siendo mayor en migas más aireadas (Cauvain y Young, 2008). La calidad del pan disminuye y, por lo tanto, también lo hace la aceptación por el consumidor. Cuando el pan es elaborado a partir de masa congelada, el envejecimiento es más temprano y la calidad se pierde más rápidamente (Havet *et al.*, 2000). Esto se debe a que la redistribución del agua afecta al almidón al igual que las proteínas (Gélinas *et al.*, 1995). Se probaron diversos métodos para disminuir los efectos de este fenómeno de envejecimiento; uno de ellos es el empleo de aditivos como emulsificantes (DATEM, ésteres de sacarosa) e hidrocoloides (goma xantana, goma guar, hidroxipropilmetilcelulosa, carragenina y trealosa) (Nemeth *et al.*, 1996).

HIPÓTESIS

El tiempo de pre-horneado y la velocidad de congelación en conjunto con el tiempo de almacenamiento afectaran las propiedades fisicoquímicas, reológicas, térmicas y estructurales de la masa y la calidad del pan.

OBJETIVOS

General

Evaluar el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre las propiedades fisicoquímicas, reológicas, térmicas y estructurales de la masa y la calidad del pan.

Específicos

1. Estudiar el efecto del tiempo de pre-horneado, la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre las propiedades fisicoquímicas de las proteínas y almidón del pan pre-horneado.
2. Evaluar el efecto del tiempo de pre-horneado, la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre las propiedades reológicas, térmicas y estructurales del pan pre-horneado.
3. Estudiar el efecto del tiempo de pre-horneado, la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre la calidad del pan.
4. Determinar mediante métodos texturales la vida de anaquel del pan obtenido por el proceso de pre-horneado.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la Figura 2 se muestra la descripción general de la presente investigación.

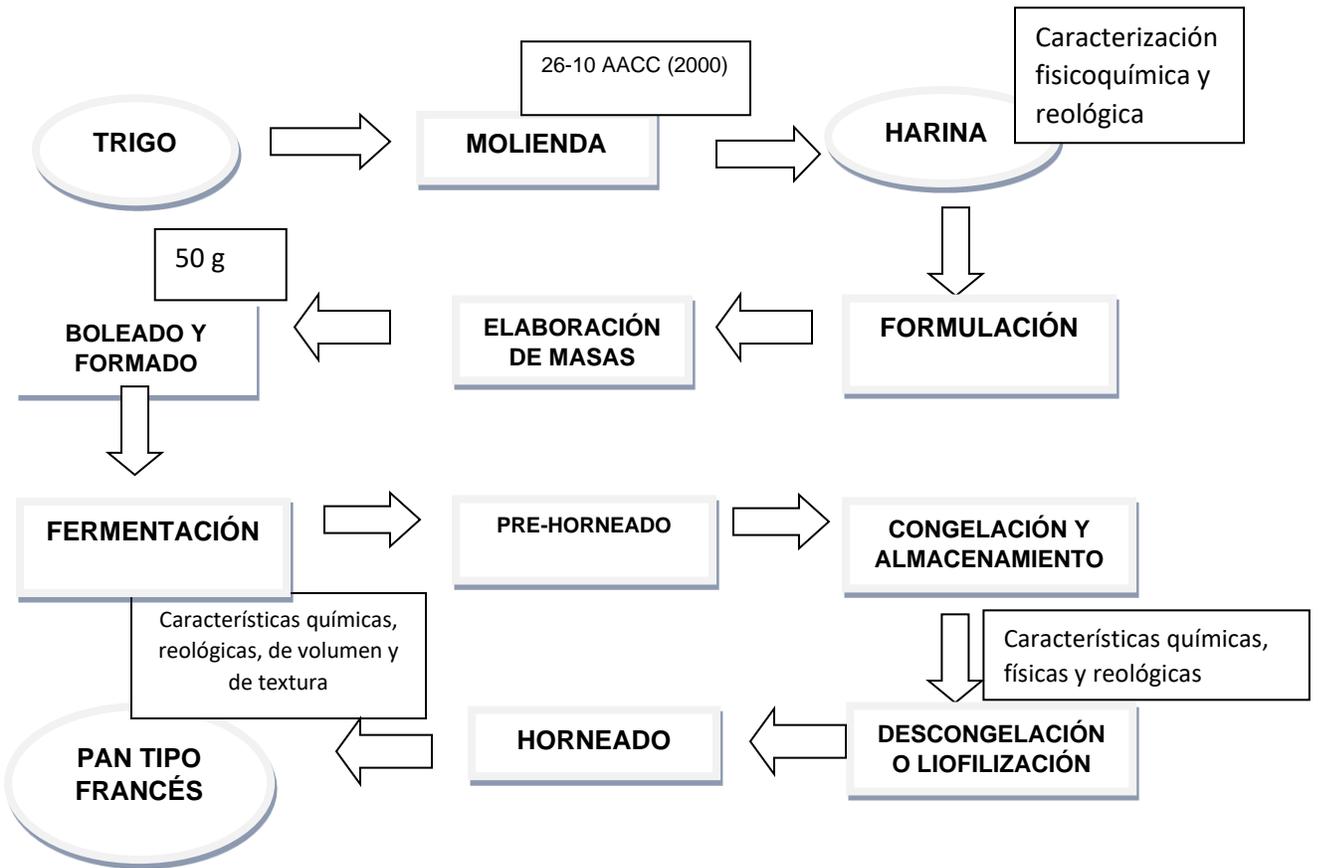


Figura 2. Diagrama general de la investigación.

Materia Prima

Para la obtención de la harina, se utilizó trigo panadero de la variedad Kronstad (F-2027), cosecha 2015 del Valle del Yaqui, Sonora, México. Para obtener harina, el trigo acondicionado al 15% se sometió a una molienda seca usando un molino (Brabender Quadrumat Jr. Mill Quadruplex; Brabender Instruments, South Hackensack, NJ, USA). Una vez obtenida, la harina refinada fue homogeneizada en una mezcladora (Mod. N50, Hobart. Troy, OH, USA). Otros ingredientes fueron levadura fresca (Azteca S.A. de C.V., Guadalajara, México), Manteca y sal comerciales, obtenidos en una tienda local de Hermosillo, Sonora, México.

La caracterización fisicoquímica de la harina de trigo se llevó a cabo mediante los siguientes métodos: contenido de humedad (método 44-40, AACC, 2000), contenido de proteína (método 46-13 AACC, 2000), contenido de ceniza (método 08-03, AACC, 2000). La caracterización reológica se hizo utilizando un farinógrafo (Brabender Instruments, modelo 810143, South Hackensack, NJ, USA) (método 54-21, AACC, 2000) y un alveógrafo (Chopin Instruments, Villeneuve-La-Garenne, France) (método 54-30, AACC, 2000). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Proceso de Elaboración de Pan Pre-horneado

Formulación del Pan

Para la elaboración de pan se utilizó la siguiente receta para pan francés: harina de trigo (100%, tomado como base para los otros ingredientes), grasa (5%), levadura fresca (3%), y sal (1.5%).

Preparación de la Masa

Los ingredientes se pesaron en una balanza (OHAUS 700/800 series, US) y homogeneizados por 1 min en una mezcladora (National MFG brand, Lincoln, NE, US). Enseguida se agregó agua cuya cantidad fue obtenida mediante un farinógrafo (Brabender Instruments, modelo 810143, South Hackensack, NJ, USA) y se amasó por 3 min restantes para dar un total de 4 min de amasado. La masa se dividió en porciones de 50 g y se dejó fermentar. La fermentación se llevó a cabo en una cámara de fermentación (National MFG brand, Lincoln, NE, US) a 30°C y una humedad relativa (HR) del 85% por 60 min. Además, se elaboró masa de harina y agua la cual se utilizó como comparación.

Pre-Horneado, Congelación y Almacenamiento

Las piezas de masa fermentada fueron pre-horneadas (se les denominó pan pre-horneado) en un horno (National MFG, Lincoln, NE, US) por 0, 3 o 6 min a 250°C. Posteriormente, el pan pre-horneado se reposó por 1 h para enfriarse hasta 25°C y subsecuentemente, el pan pre-horneado se puso en bolsas de plástico selladas herméticamente. Cada pieza de pan pre-horneado se congeló a -20°C utilizando el proceso de congelación lenta (-0.15°C/min) en un congelador (Frigidaire, modelo GLFC1526FW, Mississauga, Ont., Canada), o utilizando velocidad de congelación rápida (-1.45°C/min) en un ultra-congelador (Thermo Fisher Scientific LCC, modelo UXF40086A62, Asheville, NC USA). Enseguida, el pan pre-horneado y la masa de harina y agua previamente congeladas a diferentes velocidades se almacenaron por 56 días en un congelador horizontal a -20°C.

Para los análisis fisicoquímicos, térmicos, estructurales y la evaluación del perfil de viscosidad, el pan pre-horneado congelado se mostró cada 14 días y deshidratado en un liofilizador (FreeZone 4.5 Liter -50C Labconco, Kansas City, MO) hasta 0% de humedad.

Descongelación de la Masa y el Pan Pre-Horneado

Cada 14 días, muestras de pan pre-horneado se descongelaron y se colocaron en un refrigerador (Whirlpool brand, Modelo ETI8NKXANO3, Whirlpool Corporation, Benton Harbor, MI, USA) por 4 h hasta alcanzar 4°C. Posteriormente, el pan pre-horneado y la masa de harina y agua se reposaron en una cámara de fermentación (National MFG brand, Lincoln, NE, US) a una humedad relativa (HR) de 85% por 5 min hasta alcanzar 25°C. Esas muestras se utilizaron para la evaluación de la viscoelasticidad y la elaboración de pan.

Horneado del Pan

El pan pre-horneado se colocó en un horno (National MFG, Lincoln, NE, US) hasta completar 10 min de horneado a 250°C. El pan completamente horneado se reposó por 1 h hasta enfriarse a 25°C para realizar las evaluaciones de calidad del pan.

Evaluaciones Físicoquímicas

Proteína Soluble

Muestras de 350 mg de pan pre-horneado liofilizado se extrajeron dos veces con 1 ml de propanol al 50% y con agitación (Vortex Genie 2T, Scientific Industries, Inc., Bohemia, NY) y centrifugación por 5 min (Bean *et al.*, 1998). Cada extracción (sobrenadante) se colocó para determinar el grado de solubilidad relativa utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) de exclusión molecular con acetonitrilo al 50% como fase móvil y utilizando una columna (BioSep SEC s4000). La solubilidad relativa de la proteína corresponde al área bajo la señal (pico) según el tiempo de retención.

Proteína Insoluble

El precipitado obtenido de la extracción de la proteína soluble (proteína insoluble) se sometió a un lavado con propanol al 50% y secado para formar pellets. Subsecuentemente, éste se pulverizó para ser analizado el contenido de proteína utilizando el método de Dumas (46-30 de la AACC, 2000) con un determinador de nitrógeno (LECO brand modelo FP-528, Michigan, USA) y un factor de conversión de N x 5.7.

Contenido de Tioles Libres

Las muestras de pan pre-horneado liofilizado se analizaron para determinar el contenido de tioles de las proteínas mediante el método reportado por Tsen y Anderson (1963). La muestra se centrifugó en una solución de Isopropanol al 50%, Tris ácido clorhídrico (HCL) 80 mM y el reactivo de Ellman (5,5-dithio-bis-(2-ácido nitrobenzoico o DTNB). Se llevó a cabo una lectura en UV a 420 nm utilizando un espectrofotómetro (Agilent Technologies, Palo Alto, CA). Las muestras se analizaron por triplicado.

Almidón Resistente

El almidón resistente del pan pre-horneado liofilizado se determinó utilizando el kit Megazyme (K-RSTAR 02/17) con el método 32-40.01 AACC, (2002). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Evaluaciones Reológicas

Prueba de Barrido de Frecuencia

Una vez descongelados el pan pre-horneado y la masa de harina y agua se les evaluaron sus propiedades viscoelásticas con el método dinámico en el modo de barrido de frecuencia y barrido de temperatura. En el barrido de frecuencia, muestras de 3 g se colocaron en un reómetro y sometidas a pruebas de viscoelasticidad. Las condiciones utilizadas en el reómetro (Rheometrics Scientific, Model RSF III, Piscataway, NJ, USA) fueron las siguientes: platos paralelos de 25 mm de diámetro, separación de 2 mm, deformación de 0.1% (región lineal viscoelástica) y un rango de frecuencia de 0.1 a 100 rad/s. Las muestras se cubrieron con vaselina para evitar la resequedad. Los parámetros de viscoelasticidad determinados fueron módulo de elástico (G'), módulo viscoso (G'') y tangente delta ($\text{Tan } \delta$).

Prueba de Barrido de Temperatura

A muestras de pan pre-horneado y masa de harina y agua se les realizó un barrido de temperatura. Muestras de 3 g se colocaron en un reómetro. Las condiciones utilizadas en el reómetro fueron las siguientes: platos paralelos con un diámetro de 25 mm, separación entre platos de 2 mm, deformación de 0.1% y una frecuencia constante de 5 rad/s y un barrido de temperatura en el rango de 25 a 120°C. Los parámetros de viscoelasticidad determinados fueron; módulo elástico (G'), módulo viscoso (G'') y tangente delta ($\text{Tan } \delta$).

Perfil de Viscosidad

El análisis de perfil de viscosidad en pan pre-horneado liofilizado se realizó utilizando un analizador rápido de viscosidad (RVA-4, Newport Scientific Pvt. Ltd., Australia) de acuerdo al procedimiento reportado por Noda *et al.* (2004). Muestras de 3 g se les

agregaron 25 ml de agua destilada para obtener una suspensión al 8%. Cada solución fue mantenida a 50°C por 1 min, y se calentó a 95°C a 12.2°C/min manteniéndose por 2.5 min a 95°C. Después, la suspensión se enfrió a 11.8°C/min y se mantuvo a 50°C por 2 min. Los parámetros reportados fueron viscosidad el pico de viscosidad (PV), brea kdown (BV) y set back (SB).

Evaluaciones Térmicas

Calorimetría de Barrido Diferencial

El análisis térmico del pan pre-horneado liofilizado se llevó a cabo utilizando calorimetría de barrido diferencial (CBD) con un calorímetro (TA Instruments DSC Q-200, Crawley, UK), y de acuerdo con el procedimiento reportado por Silvas-García *et al.*, 2014. Muestras de 2 mg se colocaron en una celda de aluminio y se le agregó 10 μ L de agua destilada. Las celdas fueron selladas y mantenidas en equilibrio 1 h. Subsecuentemente, las muestras se sometieron a una rampa de temperatura de 10°C/min a 25°C y posteriormente a 90°C seguido por un enfriamiento a una velocidad de 5°C/min, de 90 a 25°C. Una celda vacía se usó como referencia en todas las determinaciones. Los termogramas obtenidos se analizaron usando un software (TA Universal Analysis software v. 5.5.24.), y los parámetros térmicos determinados fueron la temperatura de inicio (T_i), temperatura de pico (T_p) y entalpía de gelatinización (ΔH_g). Cada determinación se realizó por triplicado.

Evaluaciones Estructurales

Difracción de Rayos X

Para la determinación de la cristalinidad del almidón del pan pre-horneado liofilizado, las muestras de pan pre-horneado liofilizadas se pulverizaron. Para obtener los patrones de difracción de rayos X, se utilizó un difractómetro de rayos X (DMAX

2100 Rigaku, Tokio, Japón). Las condiciones utilizadas fueron 30 Kv y 16 mA con una radiación de Cu K α de $\lambda = 1.5405 \text{ \AA}$. Las muestras fueron analizadas de 5° a 50° en la escala 2 θ a temperatura ambiente. El grado de cristalización se determinó usando el software Diffract/AT from Socobin V1.2, y se expresó como porcentaje del área del pico de la señal entre el área total de difracción.

Evaluación de la Calidad del Pan

Volumen Específico

Las muestras de pan pre-horneado descongelado se hornearon en su totalidad hasta completar 10 minutos. El pan se reposó por una hora hasta alcanzar 25°C. El volumen específico se midió de acuerdo al método de desplazamiento de semillas usando un medidor de volumen (National MFG Co. PUP, Lincoln, NE, USA). El peso del pan se obtuvo usando una balanza (OHAUS 700/800 series, US). El volumen específico fue la proporción entre el volumen del pan y el peso del mismo (método 10-09 AACC, 2000).

Humedad

El contenido de humedad de la miga del pan se determinó con el método 44-15 de la AACC (2000) usando un horno secador (Blue M/Lindeberg modelo G01305A, Asheville, N.C. USA) a 105°C por 6 h. Se cortaron cubos de 2 g del centro de la miga para determinar el contenido de humedad. La humedad se evaluó en pan a temperatura ambiente a las 2, 24 y 48 h de almacenamiento.

Firmeza

La textura del pan fue medida utilizando el método de análisis de perfil de textura (TPA, por sus siglas en inglés). Para esto, se utilizó un analizador de textura (Stable

Micro System Texture Analyzer modelo TA.TX Plus, Surrey, England) y de acuerdo a una modificación del método 10-09 de la AACCC (2000). De cada pieza de pan se cortaron cubos de 2 cm por lado y se les evaluaron las propiedades texturales utilizando el TPA. El procedimiento consistió en darle una doble compresión a la miga hasta una deformación de 50%, velocidad de pre-prueba de 1 mm/s, velocidad de prueba de 3 mm/s y velocidad pos prueba de 10 mm/s. El parámetro de prueba seleccionado del TPA fue la firmeza. La evaluación se hizo en pan almacenado a temperatura de 25°C a las 2, 24 y 48 h de almacenamiento.

Diseño del Experimento y Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño de experimentos factorial de 2x3x5. Los factores y niveles para pan pre-horneado fueron los siguientes: tiempo de pre-horneado (0, 3 o 6 min), tiempo de almacenamiento (0, 14, 28, 42 o 56 días) y velocidad de congelación (lenta, -0.15°C/min o rápida, -1.45°C/min). A los datos obtenidos de cada determinación se les realizó un análisis de varianza (ANDEVA) con 95% de confiabilidad. Para el análisis estadístico de la prueba de viscoelasticidad mediante barrido de frecuencia fueron utilizados los datos de G' , G'' y $\tan \delta$ (región viscoelástica lineal) a la frecuencia de 5 rad/s, mientras que para el análisis de barrido de temperatura se utilizaron los datos de G' , G'' y $\tan \delta$ (máxima G' , G'' y $\tan \delta$) a 80°C. Además, se llevaron a cabo correlaciones simples de Pearson, considerándose significativas y muy significativas si $P < 0.05$ y $P < 0.01$ respectivamente. El ANDEVA se llevó a cabo usando el software estadístico "Statistic Analysis Software" (SAS, 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluaciones Físicoquímicas

En la Tabla 1 se presentan resultados de los análisis físicoquímicos y reológicos de la harina de trigo utilizada para la elaboración del pan. Los valores obtenidos del análisis de la harina cumplen con los requisitos necesarios para la elaboración de pan debido a que la cantidad de proteína está por encima del requerido para la formación del gluten. Los análisis farinográficos demostraron que la harina cuenta con la estabilidad necesaria para la formación del pan. En los análisis alveográficos la relación de tenacidad/elasticidad tienen una proporción adecuada para la formación del gluten y la fuerza se encuentra por encima del requerido (Zanoni y Peri, 1993).

Proteína soluble

La proteína soluble del gluten están conformada por gluteninas de bajo peso molecular (HMW-gluteninas) y gliadinas (GLI) y estas confieren elasticidad y viscosidad a la masa. La solubilidad relativa se estimó utilizando el área bajo la curva del cromatograma.

En la Tabla 2 se muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento del pan pre-horneado los cuales afectaron MUY significativamente ($P < 0.01$) la solubilidad relativa de la proteína polimérica soluble (PPS).

En la Figura 3 se observa el efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad de la proteína polimérica soluble del pan pre-horneado. Las PPS disminuyeron con el tiempo de pre-horneado para todos los tiempos de almacenamiento.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas y reológicas de la harina obtenida de trigo de la variedad Kronstad.

Determinación	Promedio
Contenido de humedad (%)	14.15 ± 0.08 ^a
Contenido de cenizas (%) ^b	0.96 ± 0.02
Contenido de proteína (%) ^b	12.50 ± 0.14
Estabilidad de la masa (min)	17.62 ± 0.53 ^a
Tiempo de desarrollo(min)	11.5 ± 0.7
Absorción de agua (%)	60
Tenacidad (P) (mm)	129 ± 3 ^a
Extensibilidad(L) (mm)	93.33 ± 5.86
Fuerza (W) (10 ⁻⁴ J)	442 ± 27
Relación de tenacidad/elasticidad (P/L)	1.38 ± 0.08

^aDesviación estándar.

^bBase seca.

Tabla 2. Análisis de varianza, valor de F, del efecto del tiempo de pre-horneado, la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad relativa de la proteína polimérica soluble del pan pre-horneado.

FV ^a	GL	F	
		PPS	PMS
Tiempo de almacenamiento masa (TA)	4	12.27 ^{**b}	45.23 ^{**}
Tiempo de pre-horneado (TP)	2	289.20 ^{**}	223.38 ^{**}
TA*VC	4	13.44 ^{**}	30.44 ^{**}
TA*TP	8	5.94 ^{**}	23.75 ^{**}
VC*TP	2	12.02 ^{**}	8.55 ^{**}
ERROR	60		
TOTAL	89		

^a FV, fuente de variación; GL, grados de libertad; PPS, proteína polimérica soluble; PMS, proteína monomérica soluble.

^{b**} Muy significativo (P<0.01).

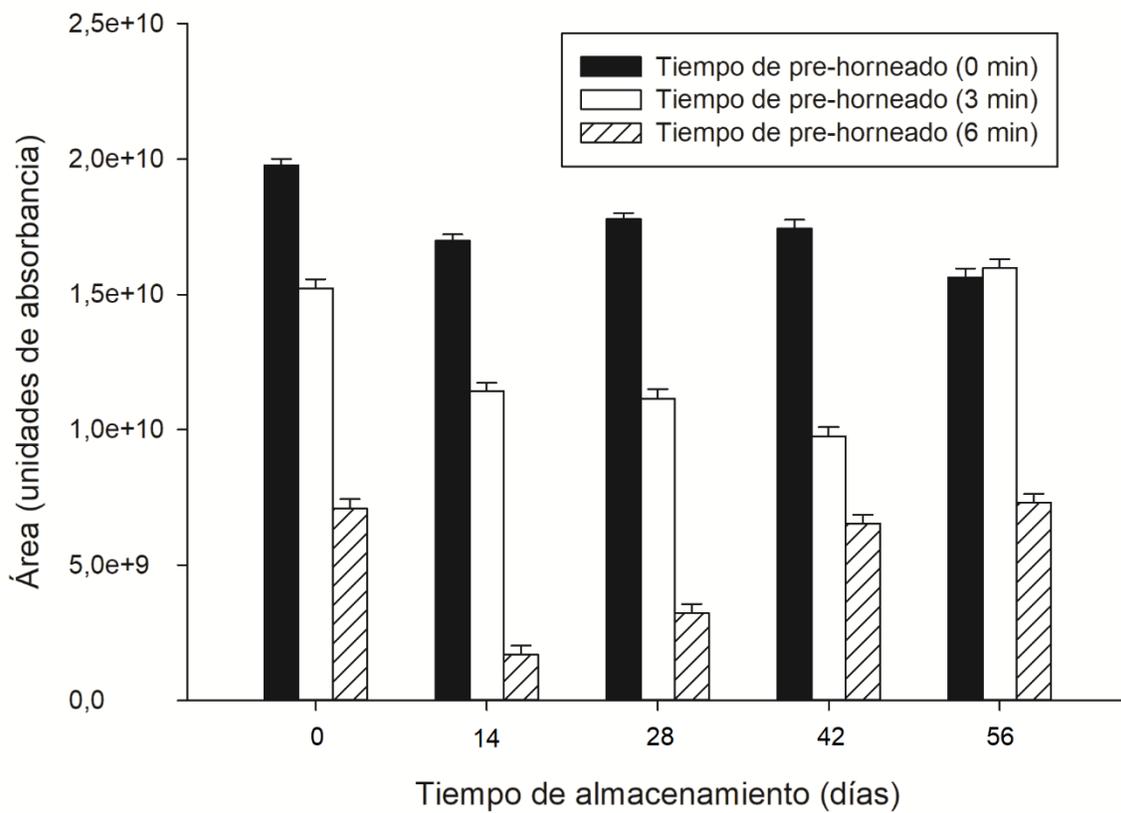


FIGURA 3. Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad de la proteína polimérica soluble (PPS) del pan pre-horneado.

Lo anterior puede deberse al efecto de calentamiento y desnaturalización de la proteína soluble de bajo peso molecular. Estos cambios pueden aumentar con el tiempo de almacenamiento y debilitar la red de gluten de la masa congelada evidenciado por los resultados de las pruebas de viscoelasticidad, disminución de la capacidad de fermentación y disminución del volumen del pan asociado con el uso de masa congelada (Magaña-Barajas *et al.*, 2014).

Con el tiempo de almacenamiento, el incremento en el tamaño de los cristales en las celdas de gas es resultado de la redistribución del agua y que finalmente causa la deshidratación de la masa (Esselink *et al.*, 2003) y aumenta el número y tamaño de los cristales. Este fenómeno es llamado re-cristalización (Baier-Schenk *et al.*, 2005).

En la Figura 4 se muestra el efecto del tiempo de pre-horneado y la velocidad de congelación sobre la solubilidad relativa de la proteína polimérica soluble (PPS) en pan pre-horneado. Al igual que en la Figura 3 hay una disminución de la solubilidad relativa por causa de la desnaturalización de las proteínas con el tiempo de pre-horneado. En el caso de la velocidad de congelación, la lenta presenta mayor grado de solubilidad relativa en 0 y 3 min de pre-horneado. Mientras menos daño sufre la glutenina la solubilidad relativa es mayor (Yi y Kerr, 2009). En este caso la velocidad de congelación lenta provocó menos daño debido a que con velocidad de congelación rápida existe liberación de glutatión para 0 min de pre-horneado (Nicolas *et al.*, 2003). Contrario a esto, para 6 min de pre-horneado se observa mayor solubilidad relativa de las proteínas utilizando velocidad de congelación rápida. Yi y Kerr, 2009 explica que con la masa sin fermentar o en ausencia de levadura se obtienen mejores resultados con velocidad de congelación rápida.

En la Figura 5 se observa el efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad relativa de la proteína monomérica soluble del pan pre-horneado. Mientras mayor es el tiempo de pre-horneado mayor es la pérdida de solubilidad.

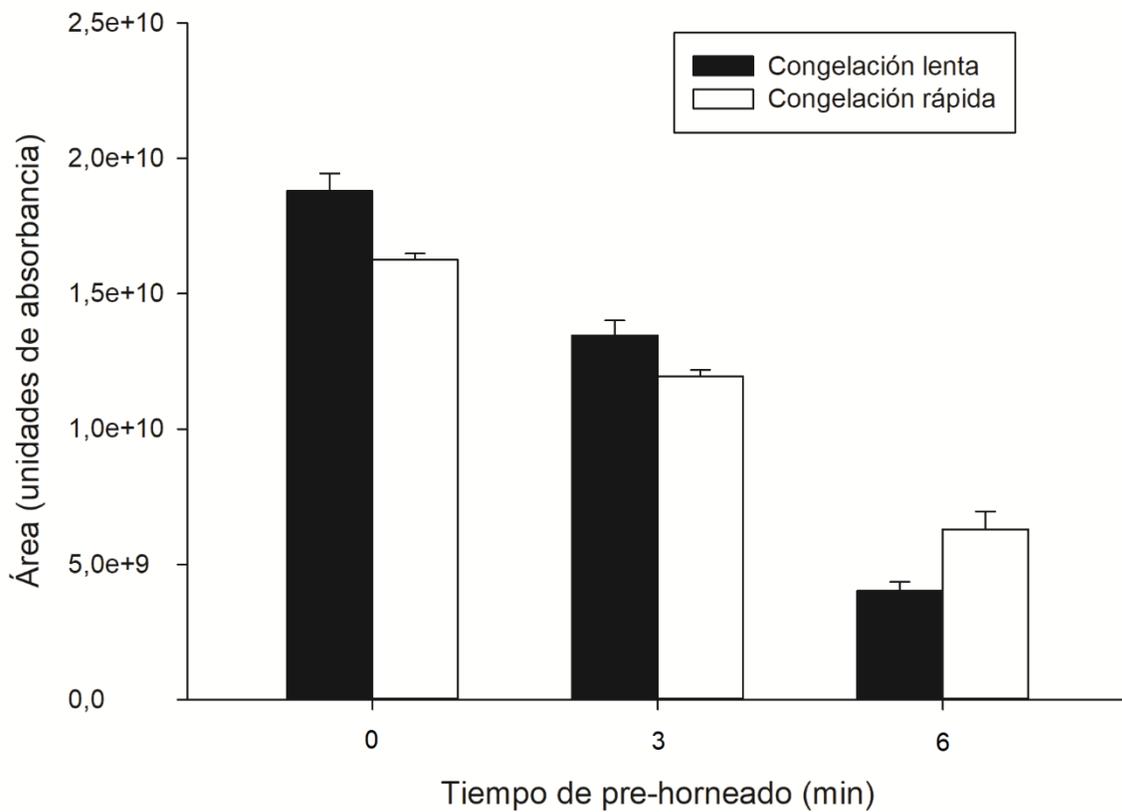


FIGURA 4. Efecto del tiempo de pre-horneado y la velocidad de congelación sobre la solubilidad de la proteína polimérica soluble (PPS) en pan pre-horneado.

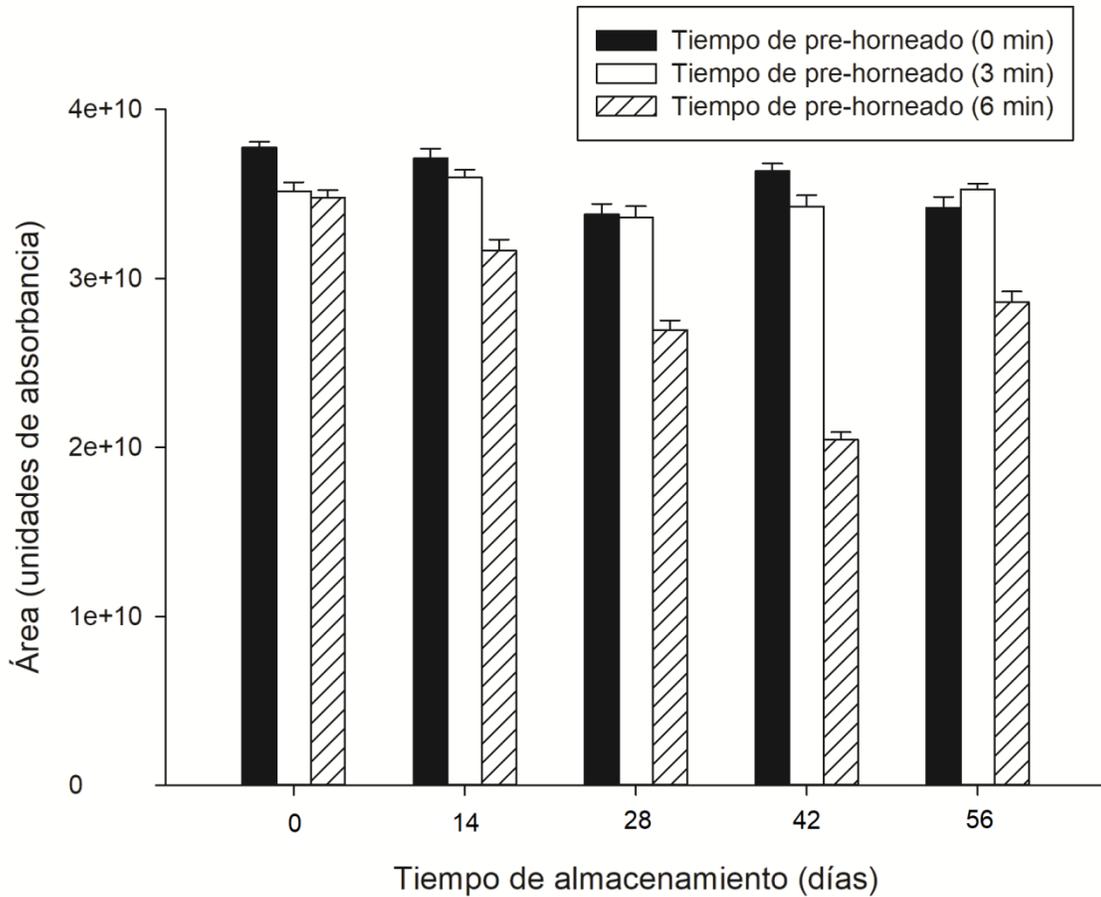


FIGURA 5. Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad de la proteína monomérica soluble (PMS) del pan pre-horneado.

Estudios realizados por Kontogiorgos (2011), afirman que las gliadinas precipitan formando interacciones hidrofóbicas con otras proteínas (incluso gluteninas), perdiendo su funcionalidad. Por otro lado, en los resultados del efecto en tiempo de almacenamiento en congelación se observa como con tiempo de 0 y 3 min de pre-horneado existe una estabilidad en la solubilidad relativa de la proteína y no es hasta los 6 min de pre-horneado donde se observa una disminución de solubilidad relativa con el paso del tiempo. Lo anterior podría indicar que en masa fresca las gliadinas no sufren mayores daños a comparación con el pan pre-horneado donde las proteínas ya están desnaturalizadas.

En la Figura 6, se muestra efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad relativa de la proteína monomérica soluble del pan pre-horneado. En la gráfica se observa como al utilizar la velocidad de congelación rápida aumenta la solubilidad relativa de las proteínas con el paso del tiempo. Mientras que con velocidad de congelación lenta se mantiene constante. Dado los resultados obtenidos la velocidad de congelación lenta parece mostrar más estabilidad con gluteninas por lo que podría ser la mejor opción en este caso. Según estudios llevados a cabo anteriormente (Kennedy, 2000; Ribotta *et al.*, 2001) la electroforesis generó evidencia del incremento de la solubilidad de la proteína en masa congelada que probablemente fue resultado de la degradación de la glutenina.

Proteína Insoluble

La proteína insoluble está conformada por gluteninas de alto peso molecular (HMW-gluteninas), confieren fuerza y elasticidad a la red de gluten.

En la Tabla 2 se muestra el análisis de varianza (ANOVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado los cuales afectaron significativamente ($P < 0.01$) la proteína polimérica insoluble (PPI) del pan pre-horneado.

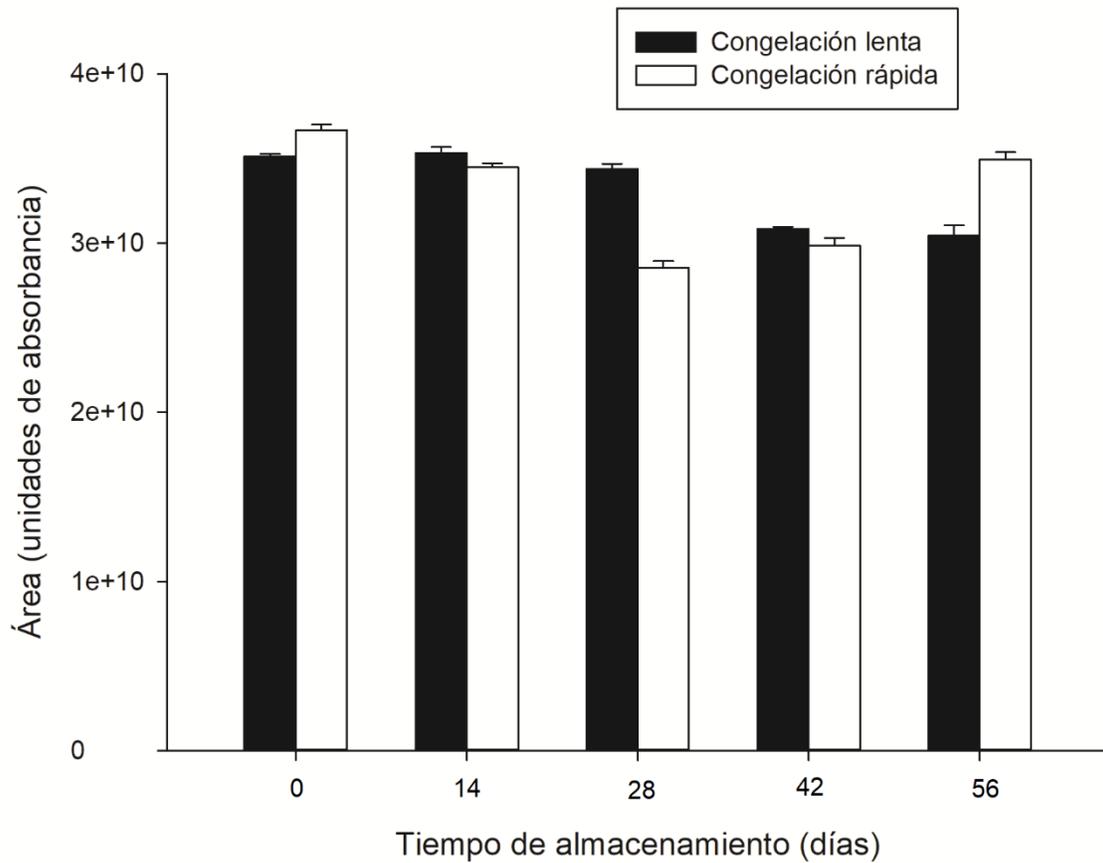


FIGURA 6. Efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la solubilidad de la proteína monomérica soluble (PMS) del pan pre-horneado.

En la Figura 7 se observa el efecto de tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la proteína polimérica insoluble del pan pre-horneado. A tiempo 0 de pre-horneado (masa) presenta alrededor del 6% de gluteninas sin que la haya sido expuesta a altas temperaturas. Por lo tanto, presenta proteínas sin desnaturalizar. Sin embargo, a tiempos 3 y 6 min de pre-horneado se observa un aumento de hasta 1.5% de concentración de las mismas, en vez de haber sido reducidas o desdobladas a la formación beta hoja plegada o alfa hélice y posteriormente desnaturalizarse formando un complejo insoluble (Branlard *et al.*, 2011). El mismo comportamiento se observa a todos los tiempos de almacenamiento. El fenómeno anterior podría deberse a que debido a la alta temperatura en la masa se formen complejos de proteína insoluble mediante interacciones hidrofóbicas por la desnaturalización de la proteína y evaporación de la humedad (Carvalho y Grosso, 2004). Lo anterior podría explicar el aumento del material proteínico que se volvió insoluble por las altas temperaturas aumentando su concentración a los 3 y 6 min de pre-horneado.

En la Figura 8 se observa el efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la proteína polimérica insoluble del pan pre-horneado. Según los resultados no existe una influencia de la velocidad de congelación utilizada, además, existe una constante de contenido de HMW-GLU con el paso del tiempo de almacenamiento, lo cual en estudios anteriores llevados a cabo por Baier-Schenk *et al.* (2005) se ha observado una reducción por efecto de la congelación y reacciones de óxido-reducción que se llevan a cabo.

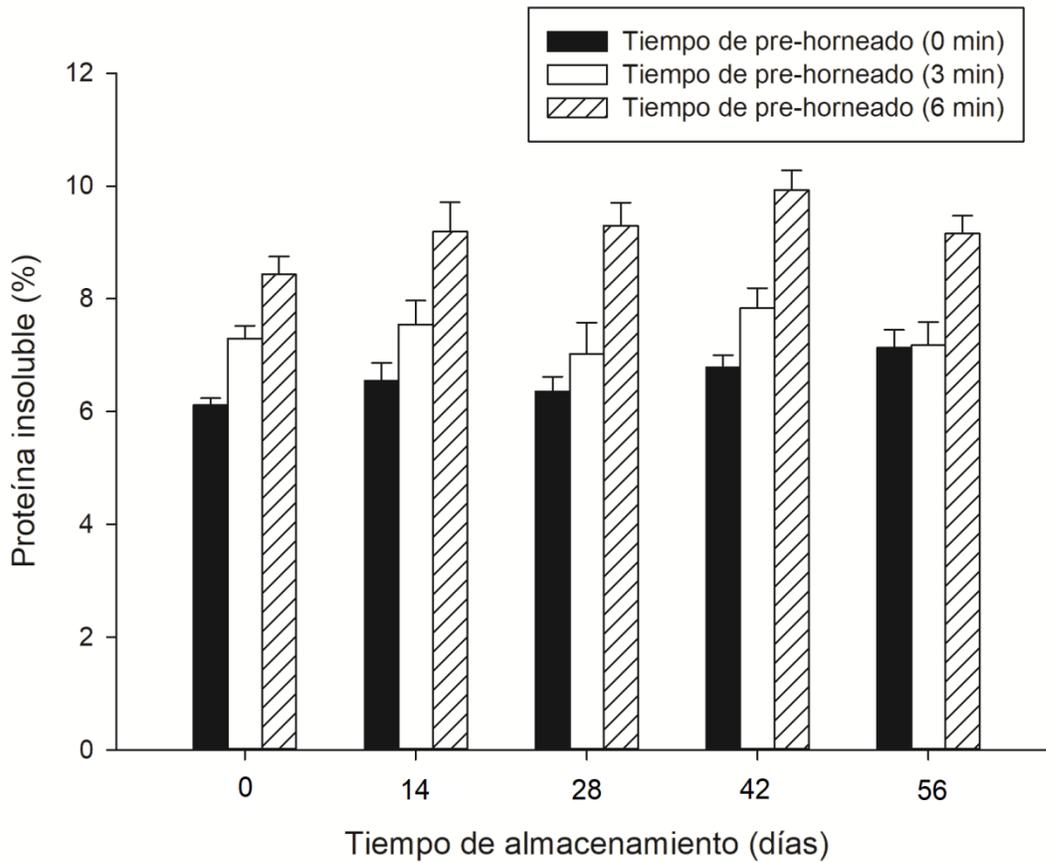


FIGURA 7. Efecto de tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la proteína polimérica insoluble (PPI) del pan pre-horneado.

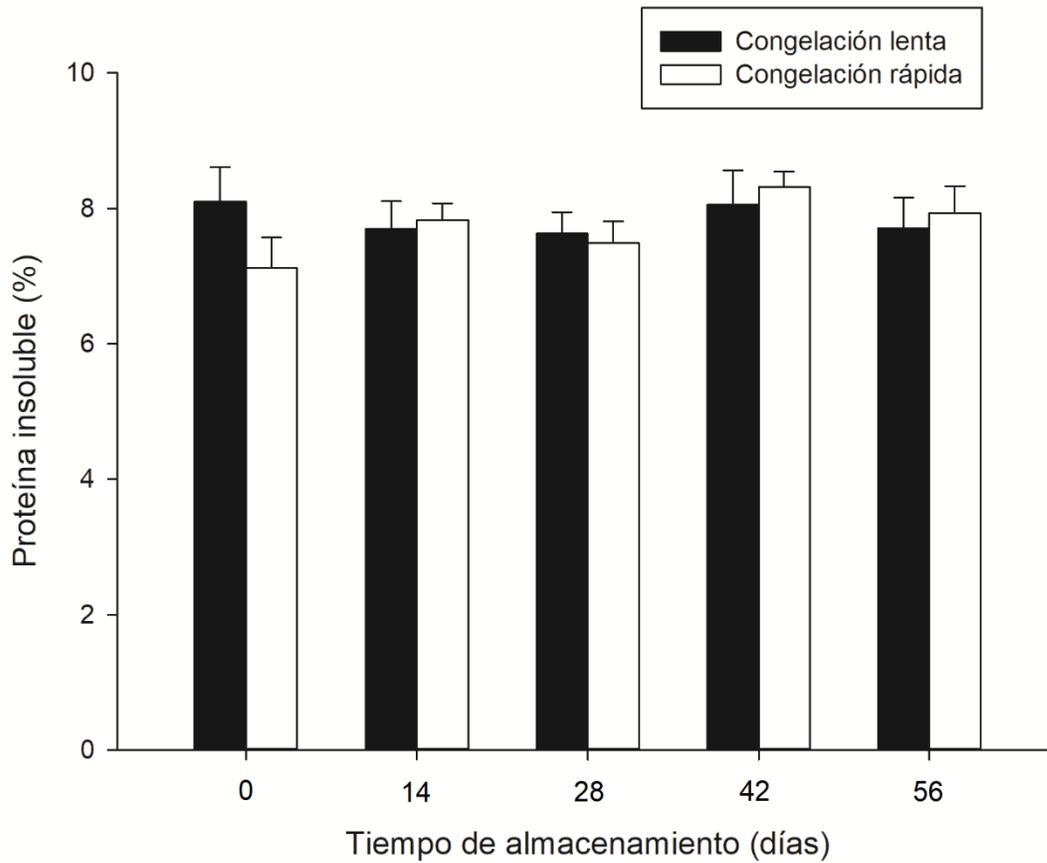


FIGURA 8. Efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre la proteína polimérica insoluble (PPI) del pan pre-horneado.

Contenido de Tioles Libres

Los tioles libres son grupos funcionales que se encuentran en las cisteínas de las proteínas y están encargadas de formar enlaces disulfuro inter o intramolecular para aumentar el peso molecular de las gluteninas.

La Tabla 3 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento del pan pre-horneado los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) la cantidad de tioles libres del pan pre-horneado.

En la Figura 9 se observa el efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre el contenido de tioles en las proteínas del pan pre-horneado. La cantidad de tioles libres disminuye con el tiempo de pre-horneado, siendo 3 min de pre-horneado donde resulto menos cantidad. Existe una tendencia de disminución la cantidad de tioles libres al aumentar el tiempo de almacenamiento en congelación, por lo que a 0 días de almacenamiento se presenta mayor cantidad. La estabilidad de la red de gluten depende del número de enlaces disulfuro a pesar de que el 2% de los aminoácidos de las proteínas consisten de grupos sulfhidrilo (Wieser, 2007). Estudios indican que al ser sometidas a altas temperaturas las proteínas desnaturalizan y pierden su funcionalidad, conglomerándose en complejos hidrofóbicos incapaces de volver a su estado original (Le Bail *et al.*, 2011). Condiciones de altas temperaturas ocasionan cambios de pH, desdoblamiento hacia formas más simples, precipitación y ruptura de los polímeros (Magaña-Baraja *et al.*, 2014). Las moléculas de glutatión son oxidadas a glutatión disulfuro en una reacción química la cual no tiene ningún efecto en la reología de la masa (Li *et al.*, 2004). Con el paso del tiempo de almacenamiento se forman cristales que dañan las proteínas y se presenta reducción de enlaces disulfuro lo que aumenta la cantidad de moles de tioles por gramo de proteína.

Tabla 3. Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre los tioles libres de las proteínas del pan pre-horneado.

FV ^a	GL	F
		SH
Tiempo de almacenamiento masa (TA)	4	7.64 ^{**c}
Tiempo de pre-horneado (TP)	1	22.61 ^{**}
Velocidad de congelación (VC)	2	9.64 ^{**}
TA*VC	4	5.79 ^{**}
TA*TP	8	2.66 ^{*b}
VC*TP	2	7.91 ^{**}
ERROR	60	
TOTAL	89	

^a FV, fuente de variación; GL, grados de libertad; SH, Tioles.

^{b**} Significativo (P<0.05).

^{c**} Muy significativo (P<0.01).

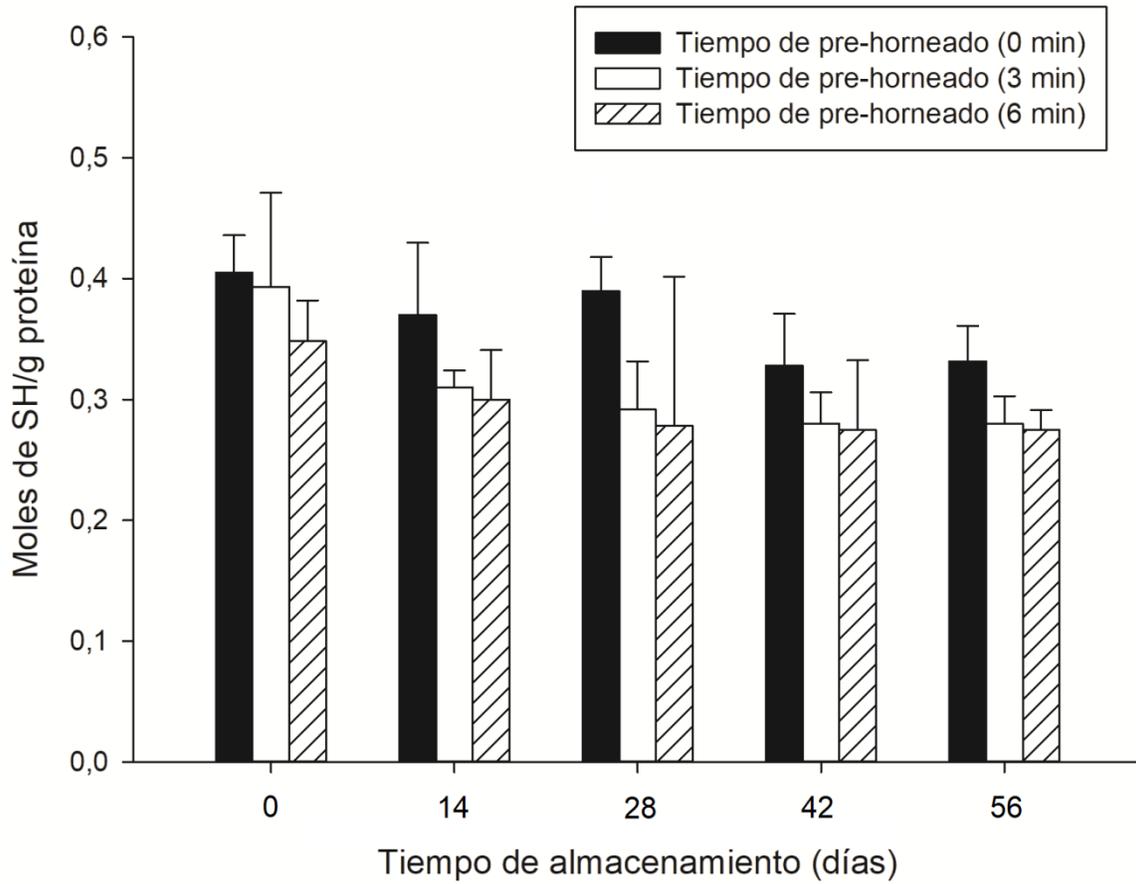


FIGURA 9. Efecto de tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre los tioles libres de las proteínas del pan pre-horneado.

Sin embargo, según la tendencia disminuye la cantidad de tioles libres debido a la redistribución de agua causado por la congelación, las proteínas son atraídas por fuerzas hidrofóbicas ocasionando complejos proteínicos dejando indisponibles los grupos sulfhidrilo para formar enlaces así como la formación de ácido cisteico debido a la oxidación de tioles libres (Joye *et al.*, 2009).

En la Figura 10 se observa el efecto de tiempo de pre-horneado y velocidad de congelación sobre los tioles de las proteínas del pan pre-horneado. Con velocidad de congelación rápida se obtuvieron los valores de mayor contenido de tioles libres.

Como se explicó en la Figura 9, el tiempo de pre-horneado disminuye el contenido de grupos sulfhidrilo debido posiblemente a la desnaturalización de las proteínas provocando que los SH queden indisponibles para formar enlaces (Yi y Kerr, 2009). Por otro lado, estudios realizados indican que con congelación rápida existe menos rompimiento de enlaces disulfuro, por lo tanto, menos cantidad de tioles libres, sin embargo, estos resultados mostraron mayor cantidad de tioles libres al utilizar velocidades de congelación rápida, esto podría deberse a que se forman cristales en etapa de nucleación los cuales provocan la lisis de las levaduras ocasionando la liberación de glutatión el cual reduce los enlaces disulfuro causando el aumento de tioles libres (Casey y Foy, 1995).

Almidón Resistente

El almidón resistente es característico de algunas especies botánicas o formadas por un proceso el cual las enzimas humanas son incapaces de hidrolizar.

La Tabla 4 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) el contenido de almidón resistente del pan pre-horneado.

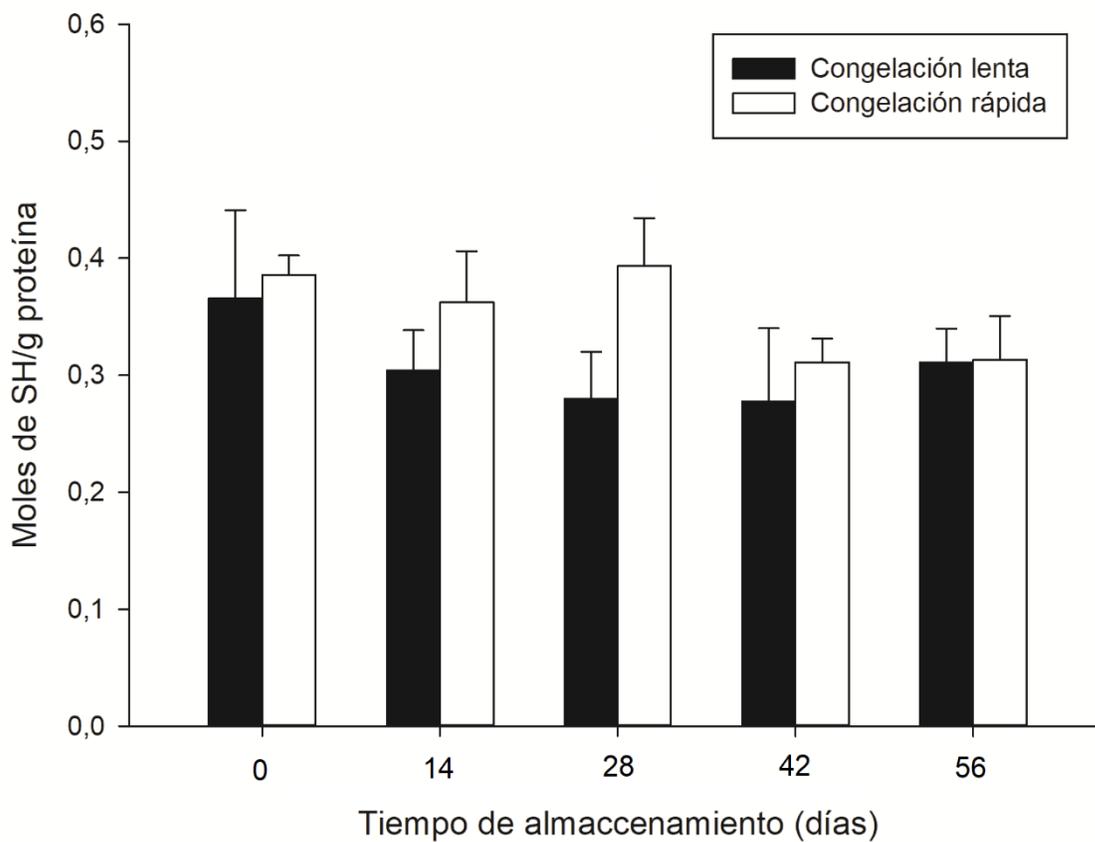


FIGURA 10. Efecto de tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre los tioles libres de las proteínas del pan pre-horneado.

Tabla 4. Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre el almidón resistente del pan pre-horneado.

FV ^a	GL	<i>F</i>
		AR
Tiempo de almacenamiento masa (TA)	4	49.36**
Tiempo de pre-horneado (TP)	1	4.01*
Velocidad de congelación (VC)	2	199.96**
TA*VC	4	10.22**
TA*TP	8	58.17**
VC*TP	2	3.21*
ERROR	31	
TOTAL	59	

^a FV, fuente de variación; GL, grados de libertad; AD, almidón dañado; AR, almidón resistente.

* Significativo (P<0.05).

** Muy significativo (P<0.01).

En la Figura 11 muestra el efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre el almidón resistente del pan pre-horneado. Los resultados del tiempo de pre-horneado muestran que a 0 min de pre-horneado existe mucha desviación estándar debido a que la masa fermentada es más inestable. La cantidad de almidón resistente aumenta con el tiempo de pre-horneado.

En la Figura 12 se observa el efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el almidón resistente del pan pre-horneado. En la gráfica no es posible determinar la velocidad de congelación más adecuada para el almidón resistente debido a la variación presente en los resultados en todos los tiempos de almacenamiento. Sin embargo, existe una disminución del almidón resistente con el tiempo de almacenamiento debido posiblemente por el efecto de la congelación y la distribución del agua. La amilosa recristaliza y no puede degradarse enzimáticamente por las enzimas digestivas humanas (Bosmans *et al.*, 2013). Este efecto puede observarse hasta los 56 días de almacenamiento.

Estudios previos demostraron que existe relación entre el contenido de almidón resistente y la cristalinidad total mediante estudios de difracción de rayos X. De esta forma se puede determinar que al menos una proporción del total de cristalinidad se debe a la formación de almidón resistente. En un estudio reciente llevado a cabo por Amaral *et al.* (2016), se investigaron las variables que afectan la formación de almidón resistente en el pan. Se encontró que el almidón resistente disminuía después de 3 días de almacenamiento y que la formación de almidón resistente se incrementó bajo condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente.

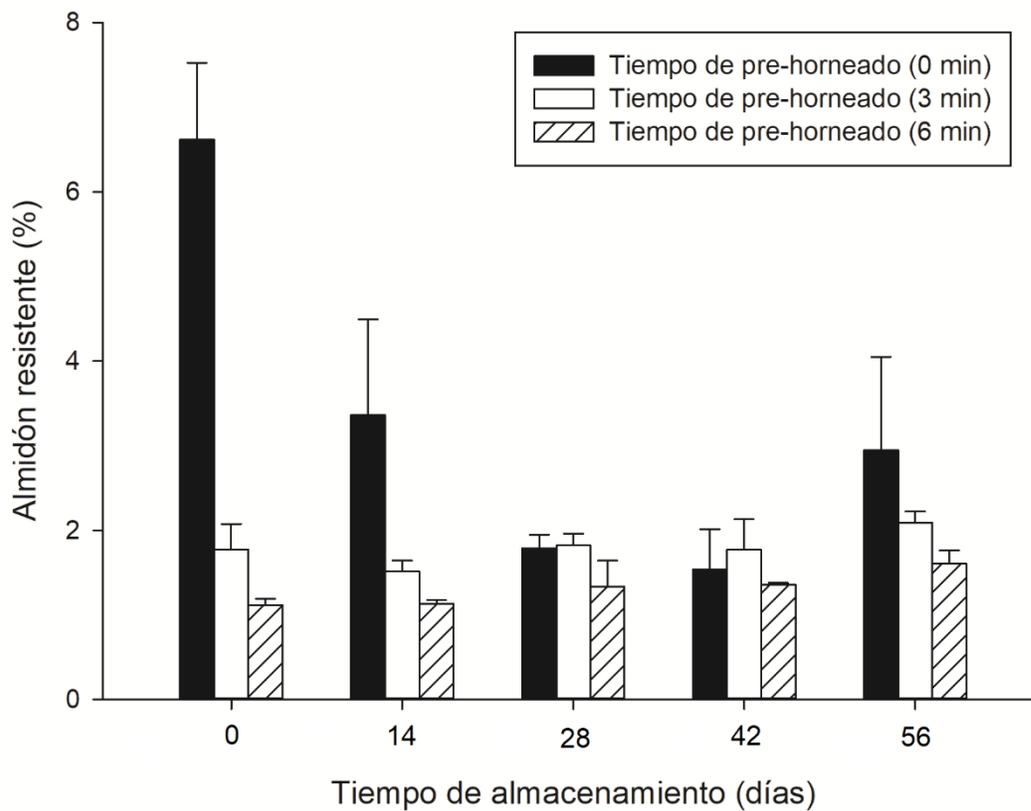


Figure 11. Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre el almidón resistente del pan pre-horneado.

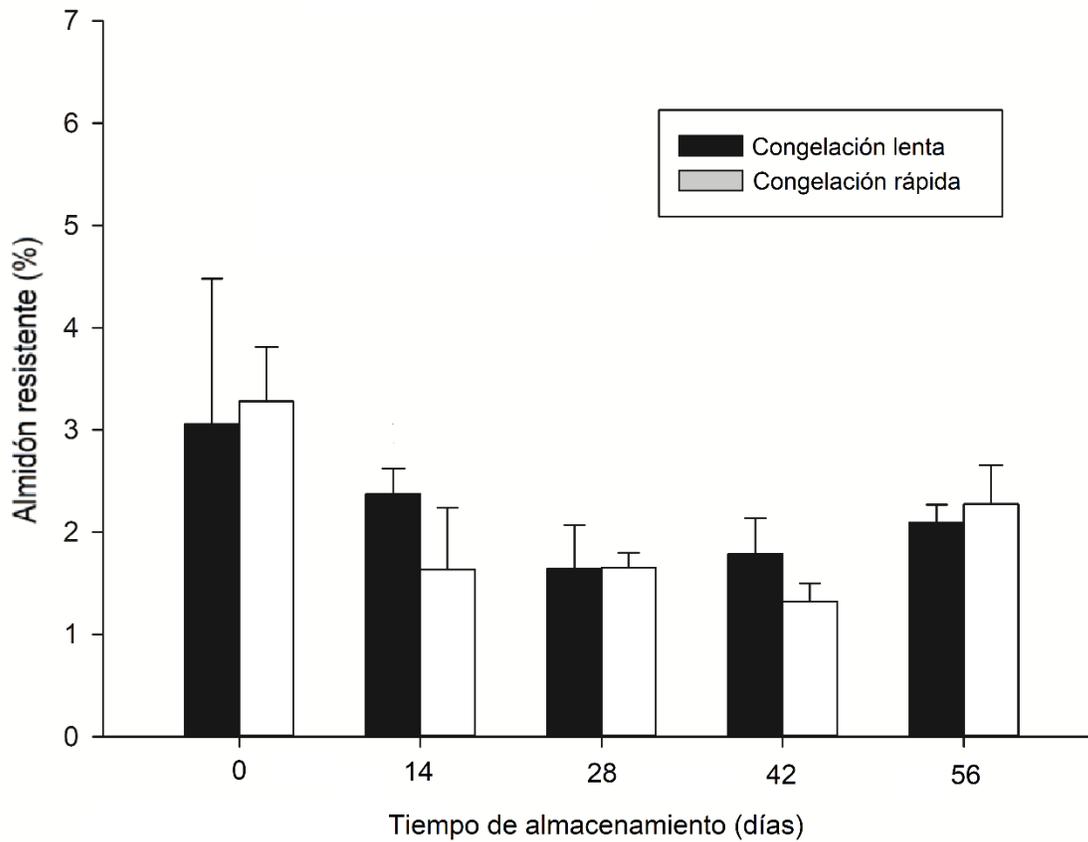


Figure 12. Efecto de la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento sobre el almidón resistente del pan pre-horneado.

Evaluaciones Viscoelásticas

Prueba de Barrido de Frecuencia

La masa es un material viscoelástico, es decir, se comporta como un sólido elástico y como un líquido viscoso. Estas características son representadas por el módulo elástico (G'), el módulo viscoso (G'') y $\tan \delta$.

La Tabla 5 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron significativamente ($P < 0.01$) el módulo elástico (G') del pan pre-horneado.

La Figura 13 presenta el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en G' . Además, también se incluyó G' para masa elaborada de harina y agua. En general, para todos los tratamientos G' incrementó linealmente con el aumento de frecuencia por encima de 50 rad/s. Sin embargo, a frecuencia más alta de 50 rad/s, los valores de G' se observaron de manera desordenada. Esta variación del módulo elástico, probablemente se debió al rompimiento de la estructura de los polímeros de proteínas generado por las altas frecuencias (Rao y Quintero, 2005). Es posible que la estructura de las proteínas perdiera su conformación original y se revirtiera hacia su forma más simple, causando aumento de la variación en G' (Rosell *et al.*, 2001). De acuerdo con los resultados obtenidos, en masa de harina y agua se observaron valores bajos de G' y aumentaron con el tiempo de pre-horneado para todos los tiempos de almacenamiento y ambas velocidades de congelación. Lo anterior se debe posiblemente a que aumenta la firmeza de la miga del pan debido a las altas temperaturas del horneado. En el horno, el pan presentó gelatinización del almidón y la desnaturalización de las proteínas por el aumento de temperatura, lo cual causa la transferencia de humedad de la miga hacia la corteza (Altamirano-Fortoul, 2012).

Tabla 5. Análisis de varianza, valor de F, del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre G' y G'', obtenidos en barrido de frecuencia (F) y temperatura (T).

FV ^a	GL	F			
		FG' ^b	FG'' ^b	TG' ^c	TG'' ^c
Tiempo de pre-horneado (TP)	2	6260 ^{**f}	4413 ^{**}	564.3 ^{**}	122.5 ^{**}
Velocidad de congelación (VC)	1	5.84 ^{*e}	71.82 ^{**}	5181 ^{**}	69.56 ^{**}
Tiempo de almacenamiento (TA)	4	28.73 ^{**}	61.25 ^{**}	4968 ^{**}	2851 ^{**}
TP*VC	2	15.99 ^{**}	8.46 ^{**}	2010 ^{**}	188.7 ^{**}
TP*TA	5	37.3 ^{**}	33.02 ^{**}	1366 ^{**}	184.2 ^{**}
VC*TA	4	100.7 ^{**}	143 ^{**}	8386 ^{**}	1085 ^{**}
ERROR	60				
TOTAL	78				

^a FV, Fuente de variación; GL, grados de libertad; FG', módulo de almacenamiento (barrido de frecuencia); FG'', módulo de pérdida (barrido de frecuencia); TG', módulo de almacenamiento (barrido de temperatura); TG'', módulo de pérdida (barrido de temperatura).

^b El valor utilizado fue el de frecuencia a 5 rad/s (región lineal).

^c El valor utilizado fue el máximo de G' o G''.

^{d ns} No significativo (P>0.05).

^{e *} Significativo (P<0.05).

^{f **} Muy significativo (P<0.01).

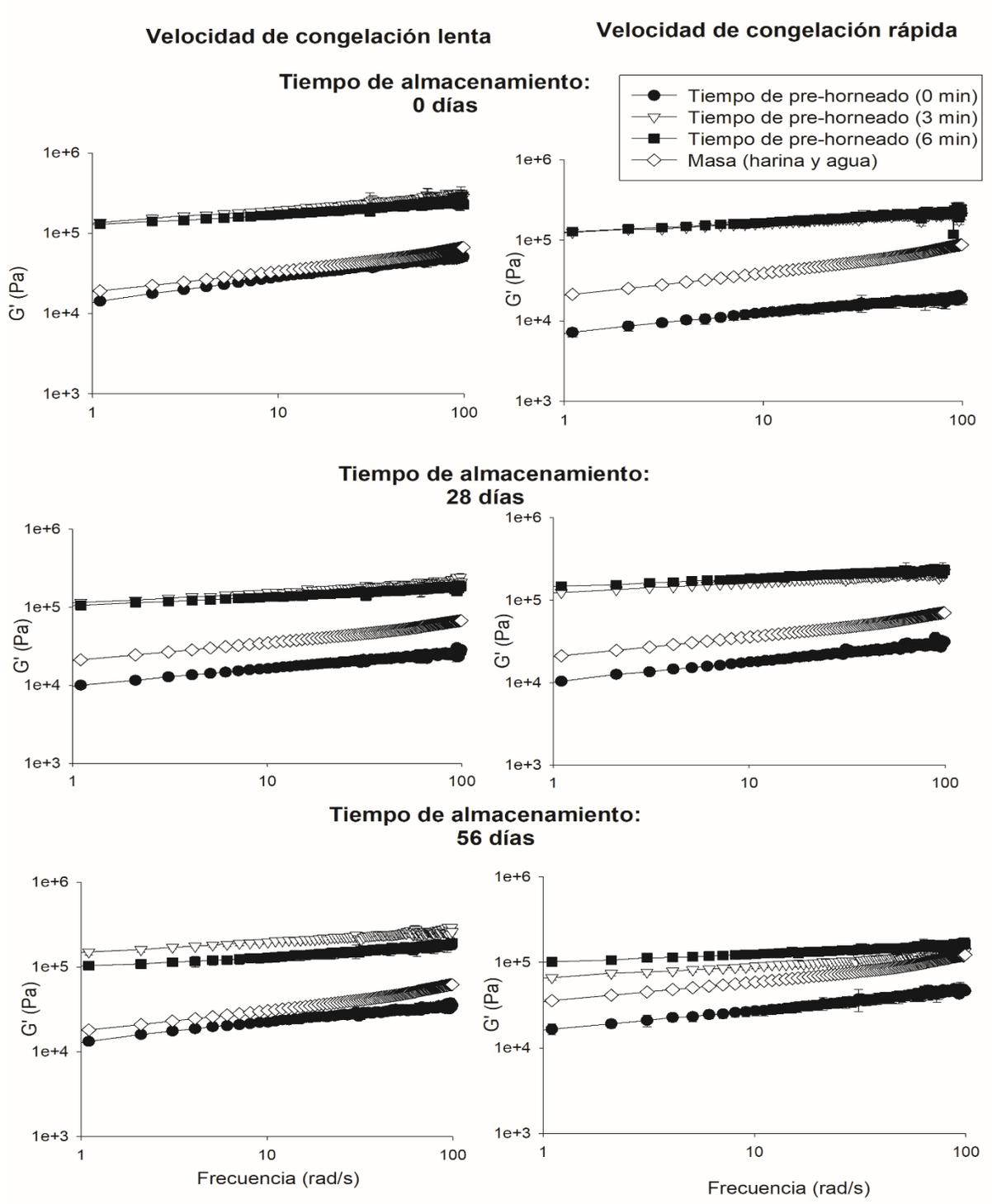


FIGURA 13. Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre G' como una función de frecuencia en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.

En la masa elaborada de harina y agua el módulo de elasticidad fue mayor que en masa formulada para elaboración de pan. Los ingredientes como la sal proporcionan tenacidad a la masa y la grasa incrementa su maquinabilidad (Anon *et al.* 2004). De acuerdo a estudios llevados a cabo por Huang *et al.*, 2008, la grasa agregada a la masa para elaboración de pan tiene un efecto protector sobre los gránulos de almidón de la harina. Esto causa una disminución de la gelatinización del almidón lo que preserva el granulo intacto, y lo cual es reflejado en una disminución de G' en masa adicionada con grasa. Otra posible causa del bajo módulo de elasticidad en masa formulada para pan es la presencia de levaduras. Cuando la masa es congelada, las levaduras son sometidas al estrés de las bajas temperaturas, produciendo glutatión, el cual es un compuesto que reduce enlaces disulfuro (S-S) a grupos sulfhidrilo (SH) (Giannou *et al.*, 2005). La reducción de los enlaces disulfuro produce el rompimiento de las cadenas de glutenina de alto peso, lo que ocasiona una disminución en el módulo elástico, por lo tanto, la capacidad de retención de CO_2 de la red de gluten también disminuye (Yi y Kerr, 2009).

En cuanto al efecto de la velocidad de congelación, los resultados obtenidos indican que con rápida se observaron mayores valores de G' en pan pre-horneado que con lenta. Es posible que esto ocurra porque a velocidad de congelación lenta, el daño causado en los enlaces disulfuro y una baja distribución de agua en el sistema causa menos daño al gluten.

La Tabla 5 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) el módulo viscoso (G'') del pan pre-horneado.

En la Figura 14 se presenta el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre G'' del pan-prehorneado. En general, el comportamiento de G'' fue similar que G' con los mismos factores. Sin embargo, los valores de G'' fueron más bajos que G' . El módulo G'' incrementó con el tiempo de pre-horneado en la masa formulada para pan.

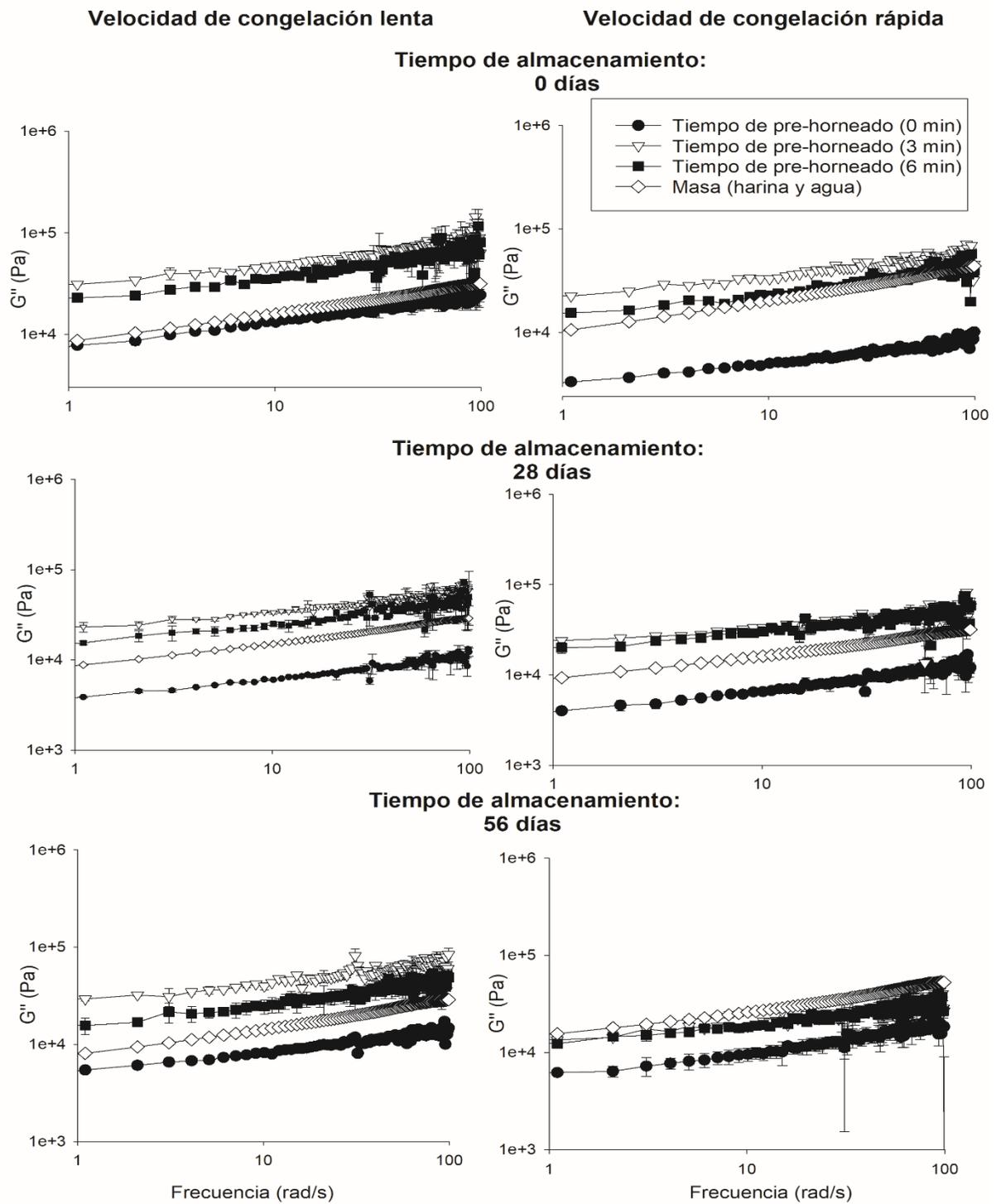


FIGURA 14. Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre G'' como una función de frecuencia en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.

Kieffer *et al.* (1998) realizó una investigación utilizando velocidad rápida y encontró menos daño a la red de gluten, lo cual coincide con este estudio.

En cuanto al tiempo de almacenamiento, G'' incrementó significativamente ($P < 0.05$) de 0 a 56 días. A cualquier tiempo de almacenamiento, el módulo de viscosidad fue más bajo con velocidad de congelación rápida que con velocidad de congelación lenta, lo que puede significar menos debilitamiento del gluten y menos ruptura de enlaces disulfuro (Rahaman *et al.*, 2016).

La Tabla 5 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) la tangente δ ($\text{Tan } \delta$) del pan pre-horneado.

La Figura 15 muestra el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre $\text{Tan } \delta$ de la masa (harina y agua) y pan pre-horneado. $\text{Tan } \delta$ disminuyó al incrementar el tiempo de pre-horneado (aumento del comportamiento elástico), característico de un material sólido. Además, al aumentar la frecuencia aumenta la variación de los valores de $\text{Tan } \delta$, lo cual podría deberse al rompimiento de algunos polímeros como las proteínas del gluten (Rao y Quintero, 2005). La masa de harina y agua tuvo un comportamiento más viscoso que elástico comparado con la masa formulada para la elaboración de pan. Este comportamiento podría deberse debido a que en la masa formulada se incorpora sal y grasa, los cuales dan estabilidad, retienen la humedad y dificultan la redistribución del agua debido a la congelación y almacenamiento, por lo tanto, reducen la pérdida de humedad en el proceso de descongelación conservando la elasticidad (Anon, 2004).

En cuanto a la velocidad de congelación, el pan pre-horneado presentó mayor proporción elástica que viscosa con velocidad de congelación rápida. Esto probablemente indica que hubo menos daño a la red de gluten porque no hubo suficiente tiempo para la formación de cristales grandes y ordenados.

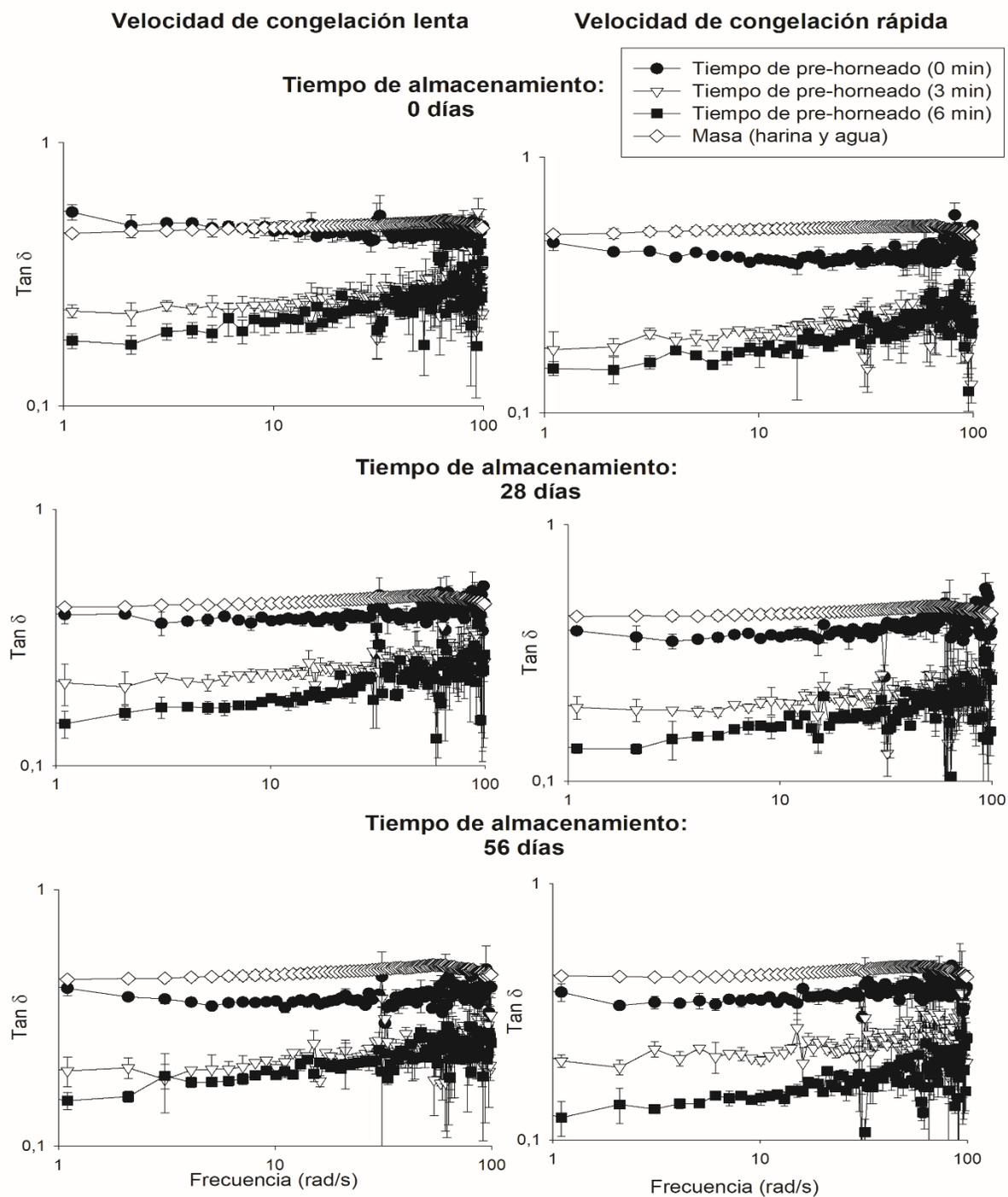


FIGURA 15. Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre $\tan \delta$ como una función de frecuencia en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.

La formación del hielo permanece en etapa de nucleación y, por lo tanto, hay menos redistribución del agua, por lo que hay menos precipitación de las proteínas (Leray *et al.*, 2010).

En cuanto al tiempo de almacenamiento, $Tan \delta$ tuvo una tendencia de disminución significativa ($P < 0.05$) con el incremento del tiempo de almacenamiento para ambas velocidades de congelación y a cualquier tiempo de pre-horneado. Esto podría significar que la proporción elástica del pan pre-horneado aumenta con el tiempo de almacenamiento, explicado por Barcenás *et al.*, (2003), posiblemente debido a la pérdida de agua (responsable en parte del comportamiento viscoso) con la descongelación siendo mayor con tiempos largos de almacenamiento. Lo anterior podría generar un aumento del comportamiento elástico. En general, el efecto de la redistribución del agua y la formación de cristales daña la red de gluten debido a movilidad de agua que soportaba la discontinuidad de la red de gluten lo que resulta en una pobre calidad del pan (Barcenás *et al.*, 2003).

Prueba de Barrido de Temperatura

La Tabla 5 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) el módulo elástico (G') del pan pre-horneado en el barrido de temperatura.

La Figura 16 muestra el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre G' del pan pre-horneado en el barrido de temperatura. A 0 min de pre-horneado, la masa (de harina y agua y formulada) tuvieron un pico de G' después de 60°C . Esto fue probablemente debido a la gelatinización del almidón, lo cual da lugar a la absorción de agua del gránulo y el desordenamiento de las cadenas de amilosa y amilopectina (Ribotta *et al.*, 2003). Subsecuentemente, el rompimiento de los gránulos resulta en la disminución del esfuerzo debido a la liberación de los polímeros hacia el exterior del gránulo de almidón (Ziobro, 2012).

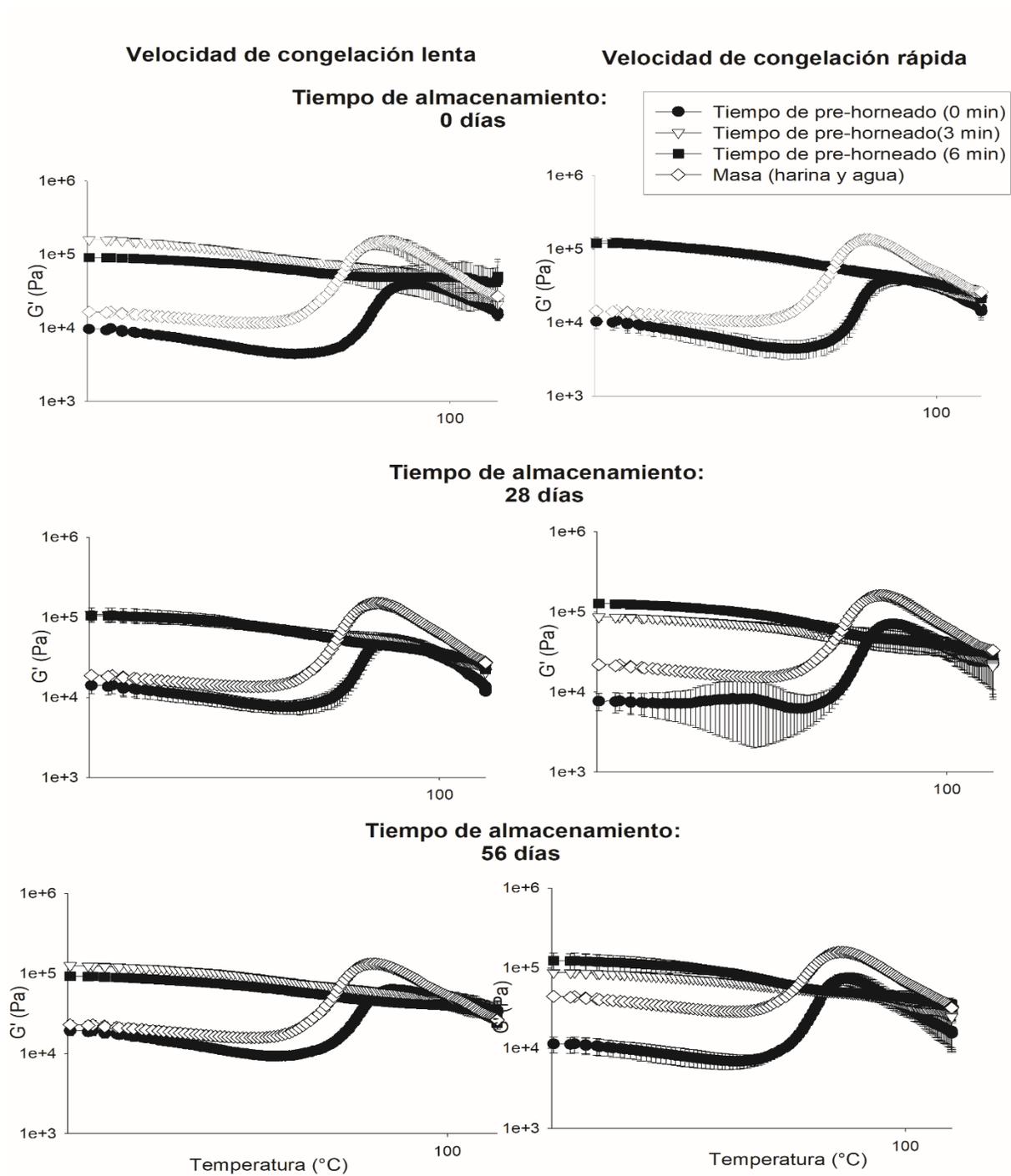


FIGURA 16. Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre G' como una función de temperatura en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.

En contraste, a 3 o 6 min de pre-horneado, no hubo un pico máximo de G' y las curvas disminuyeron ligeramente con la temperatura. Esto podría deberse a que la mayoría del almidón estaba totalmente gelatinizado por la temperatura del horneado. Además, las altas temperaturas causan daño a los componentes químicos de la masa. Esto podría ser por la desnaturalización de las proteínas, así como al incremento de la movilidad de las moléculas de agua (Peng *et al.*, 2017).

En los resultados obtenidos del efecto de la velocidad de congelación, en la rápida se observó un mayor módulo elástico que con velocidad de congelación lenta. Esto probablemente indica menos daño a la red de gluten. El incremento de G' es posiblemente debido a la pérdida de humedad cuando la muestra es descongelada (Bhattacharya *et al.*, 2003). En cuanto al tiempo de almacenamiento, a cualquier tiempo de pre-horneado y velocidad de congelación, G' incrementó significativamente con el incremento del tiempo de almacenamiento.

La Tabla 5 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) el módulo viscoso (G'') del pan pre-horneado en el barrido de temperatura.

La Figura 17 muestra el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre G'' del pan pre-horneado. Los resultados indican que G'' tuvo una tendencia similar a G' en el barrido de temperatura, sin embargo, los valores de G'' fueron menores. La masa (0 min de pre-horneado o masa de harina y agua) mostraron un incremento en G'' debido al incremento de la viscosidad por la gelatinización del almidón (Meziani *et al.*, 2011). Los polímeros se vuelven más inestables al final del barrido de temperatura. En cuanto a la velocidad de congelación, G'' incrementó significativamente con la velocidad de congelación rápida.

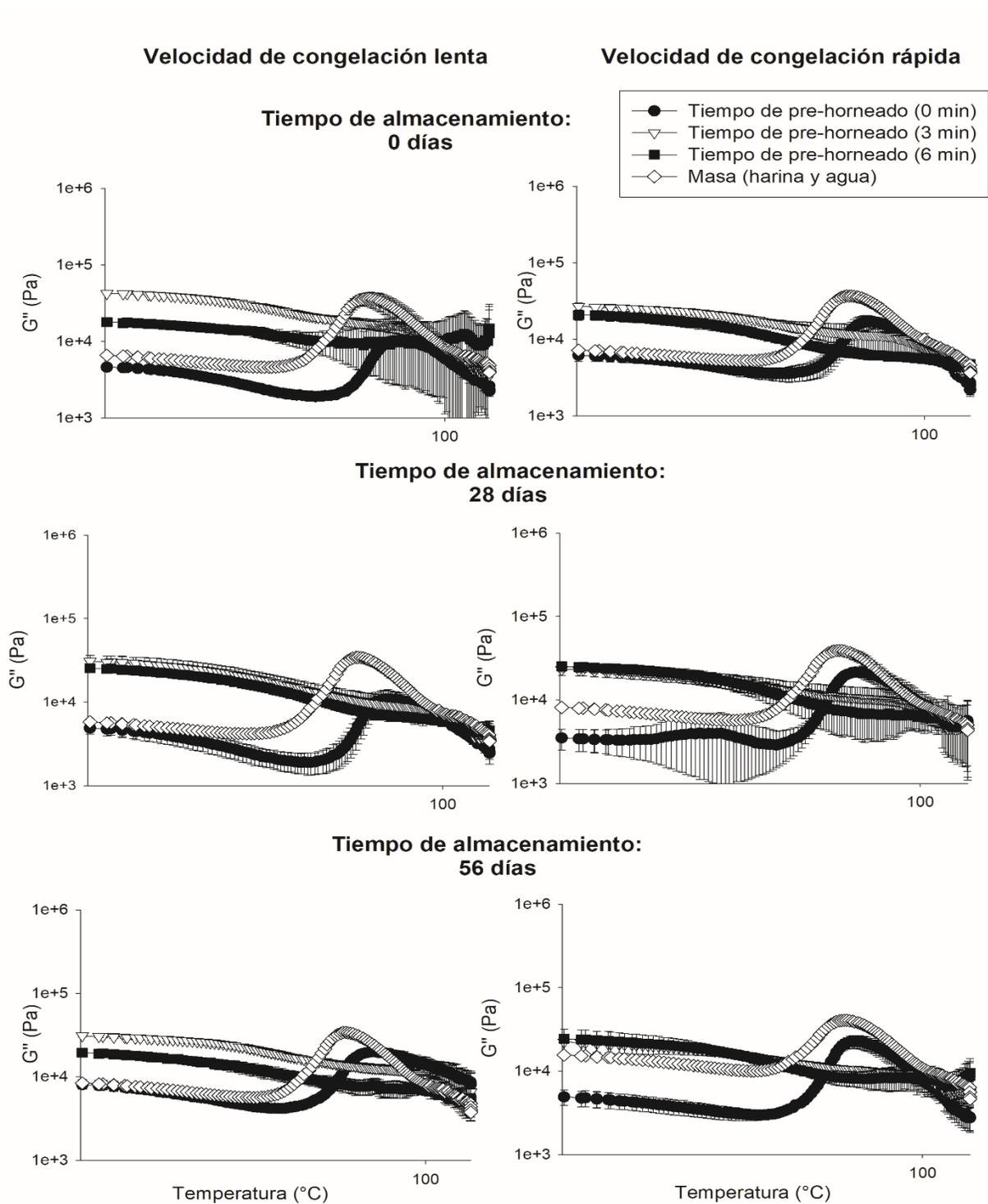


FIGURA 17. Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre G'' como una función de temperatura en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.

La Tabla 5 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) la $\text{Tan } \delta$ del pan pre-horneado en el barrido de temperatura.

La Figura 18 muestra el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre $\text{Tan } \delta$ del pan pre-horneado. Los resultados indican que $\text{Tan } \delta$ disminuyó con el tiempo de pre-horneado. A tiempo de pre-horneado de 0 min, la masa (de harina y agua o masa formulada) mostró un pico a altas temperaturas. En el tiempo de pre-horneado a 3 y 6 min, $\text{Tan } \delta$ fue constante pero incrementó ligeramente y presentó variación a altas temperaturas, probablemente debido al rompimiento de las estructuras. En la masa, $\text{Tan } \delta$ disminuyó después del pico de gelatinización debido posiblemente a la formación de enlaces hidrofóbicos entre las cadenas de polímeros de las proteínas desnaturalizadas por la redistribución y evaporación del agua. (Georget *et al.*, 2006). La masa se vuelve más firme (comportamiento similar a un sólido de Hook), la parte viscosa disminuye con el tiempo de pre-horneado porque hay menos humedad en las muestras que a 0 min de pre-horneado. Una disminución en $\text{Tan } \delta$ indicó que la proporción elástica del pan pre-horneado incrementó.

En cuanto a la velocidad de congelación, $\text{Tan } \delta$ fue significativamente ($P < 0.05$) más alta con velocidad de congelación rápida que con congelación lenta para todos los tiempos de pre-horneado y tiempos de almacenamiento. En relación con el tiempo de almacenamiento, $\text{Tan } \delta$ disminuyó significativamente ($P < 0.05$) con el tiempo de almacenamiento con ambas velocidades de congelación. Como se mencionó anteriormente, la pérdida de humedad durante la descongelación afectó la estabilidad de la red de gluten disminuyendo así el comportamiento elástico de la masa (Kulp *et al.*, 1995).

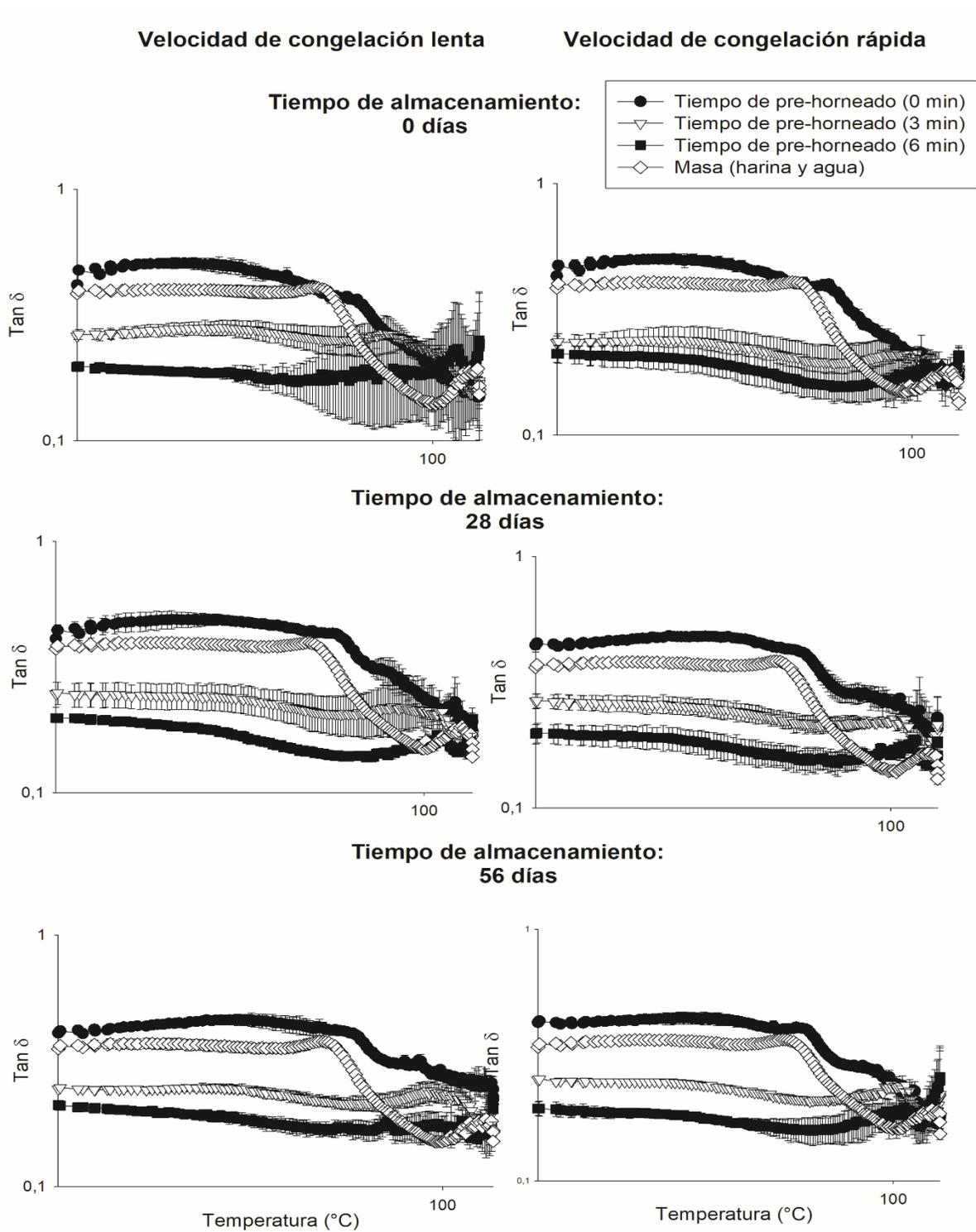


FIGURA 18. Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en congelación sobre $\tan \delta$ como una función de temperatura en pan pre-horneado. Las barras indican la desviación estándar.

Perfil de Viscosidad

Pico de viscosidad

El pico de viscosidad (PV) registrada en los análisis de RVA es considerada el punto con mayor grado de gelatinización.

La Tabla 6 se muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron significativamente ($P < 0.01$) el pico de viscosidad del pan pre-horneado. En la Tabla 7 se muestra el análisis de Tukey.

En la Figura 19 se muestra el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el pico de viscosidad del pan pre-horneado. El pico de viscosidad disminuyó con el tiempo de pre-horneado. La viscosidad disminuyó cuando la masa fue pre-horneada a altas temperaturas, lo cual causó la gelatinización del almidón. El pico de viscosidad disminuyó debido a la ruptura y pérdida de la integridad de los gránulos de almidón, el cual no pudo soportar el esfuerzo de corte causando la hidrólisis de la cadena de amilosa, de esta manera, el peso molecular de la amilosa es disminuida. Por lo tanto, debido a la alineación de los polímeros dañados hacia la dirección del flujo la resistencia disminuye (Ribotta y León, 2003)

En cuanto al tiempo de almacenamiento, se observó una disminución de la viscosidad con el aumento del tiempo de almacenamiento. Esto puede ser causado debido al daño sufrido por el almidón por la redistribución del agua y el incremento del tamaño de los cristales. El pico de viscosidad tuvo una disminución significativa de 0 a 28 días, sin embargo, en el pan pre-horneado por 3 min se observó un incremento en el pico de viscosidad a los 56 días de almacenamiento. Lo anterior puede estar relacionado con el “annealing” que consiste en una reorganización de los polímeros de amilosa y amilopectina el cual ocurre a alta humedad y temperatura (Jacobs y Delcour, 1998).

Tabla 6. Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre los parámetros del perfil de viscosidad del pan pre-horneado.

FV ^a	GL ^a	F		
		PV ^a	Break down	Set back
Tiempo de almacenamiento masa (TA)	4	6.58**	1.63 ^{ns}	9.86**
Velocidad de congelación (VC)	1	2.16**	2.87 ^{ns}	2.93 ^{ns}
Tiempo de pre-horneado (TP)	2	24.97**	213.05**	30.03**
TA*VC	4	7.08**	3.38*	3.07*
TA*TP	8	2.24**	3.91*	3.28*
VC*TP	2	6.33**	0.21 ^{ns}	0.82 ^{ns}
ERROR	60			
TOTAL	89			

^a FV, fuente de variación; GL, grados de libertad; PV, pico de viscosidad.

** MuySignificativo (P<0.01).

* Significativo (P<0.05).

^{ns} No significativo

Tabla 7. Valores de los parámetros de perfil de viscosidad del pan pre-horneado a diferentes tiempos de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento.

Tiempo de almacenamiento (días)	Velocidad de Congelación (°C/min)	Tiempo de Pre-horneado (min)	Pico de Viscosidad (Cp) ^{a, b}	Break Down (Cp)	Set Back (Cp)
0	Congelación lenta (-0.15)	0	2092 ±13.4 ab	996 ±44.5 a	755 ±47.4 bcde
		3	1521 ±43.1 ef	432 ±40.3 f	848 ±12.7 abcde
		6	1249 ±13.4 ij	93 ±7.8 jk	862 ±2.8 abc
	Congelación rápida (-1.45)	0	2110 ±25.5 ab	901 ±12.7 abc	729 ±13.4 de
		3	1852 ±70.0 cd	716 ±47.4 de	785 ±5.7 abcde
		6	1190 ±41.7 ijkl	191 ±7.1 hij	791 ±51.6 abcde
14	Congelación lenta (-0.15)	0	2156 ±30.4 a	952 ±24.7 ab	734 ±32.5 de
		3	1336 ±40.3 fgghi	217 ±10.6 hi	886 ±31.8 a
		6	1248 ±29.7 ij	81 ±2.1 jk	869 ±25.5 ab
	Congelación rápida (-1.45)	0	2109 ±36.8 ab	889 ±29.0 abc	719 ±8.5 f
		3	1318 ±61.5 ghi	225 ±72.1 hi	798 ±36.1 abcd
		6	1092 ±5.7 jkl	86 ±7.8 jk	856 ±123.7 abc
28	Congelación lenta (-0.15)	0	1984 ±31.8 abc	816 ±16.3 cde	741 ±33.2 cdef
		3	1188 ±136.5 ijkl	184 ±13.4 hij	822 ±12.0 abcd
		6	1006 ±16.3 l	24 k	769 ±4.2 abcde
	Congelación rápida (-1.45)	0	2070 ±29.0 ab	917 ±19.8 abc	739 ±4.9 cdef
		3	1332 ±61.5 fgghi	234 ±2.8 hi	850 ±12.0 cdef
		6	1222 ±51.6 ijk	83 ±33.2 jk	822 ±10.6 abcd
42	Congelación lenta (-0.15)	0	1976 ±2.1 abc	831 ±2.8 cd	769 ±1.2 abcde
		3	1260 ±27.5 hij	236 ±24 hi	778 ±22 abcdef
		6	1181 ±97.5 ijkl	62 ±23.3 k	800 abcdef
	Congelación rápida (-1.45)	0	1928 ±9.1 bc	833 ±14.1 bcd	722 ±0.5 ef
		3	1358 ±6.3 fgghi	284 ±3.5 gh	790 ±0.5 abcd
		6	1026 ±9.8 kl	41 ±4.9 k	788 ±0.5 abcd
56	Congelación lenta (-0.15)	0	2031 ±28 abc	884 ±57.9 abc	800 ±0.5 abcd
		3	1482 ±14.8 fg	392 ±4.2 fg	843 ±0.5 abcd
		6	1184 ±6.3 ijkl	135.5 ±13.4 ijk	899 ±3.6 a
	Congelación rápida (-1.45)	0	1711 ±57.9 ed	711 ±45.2 e	881 ±19.7 ab
		3	1446 ±56.5 fgh	376 ±46.6 fg	813 ±25.3 abc
		6	1211 ±66 ijk	135.5 ±33.2 ijk	878 ±0.1 ab

^a Media ± Desviación Estándar

^b Medias con diferentes letras son estadísticamente diferentes (P<0.05).

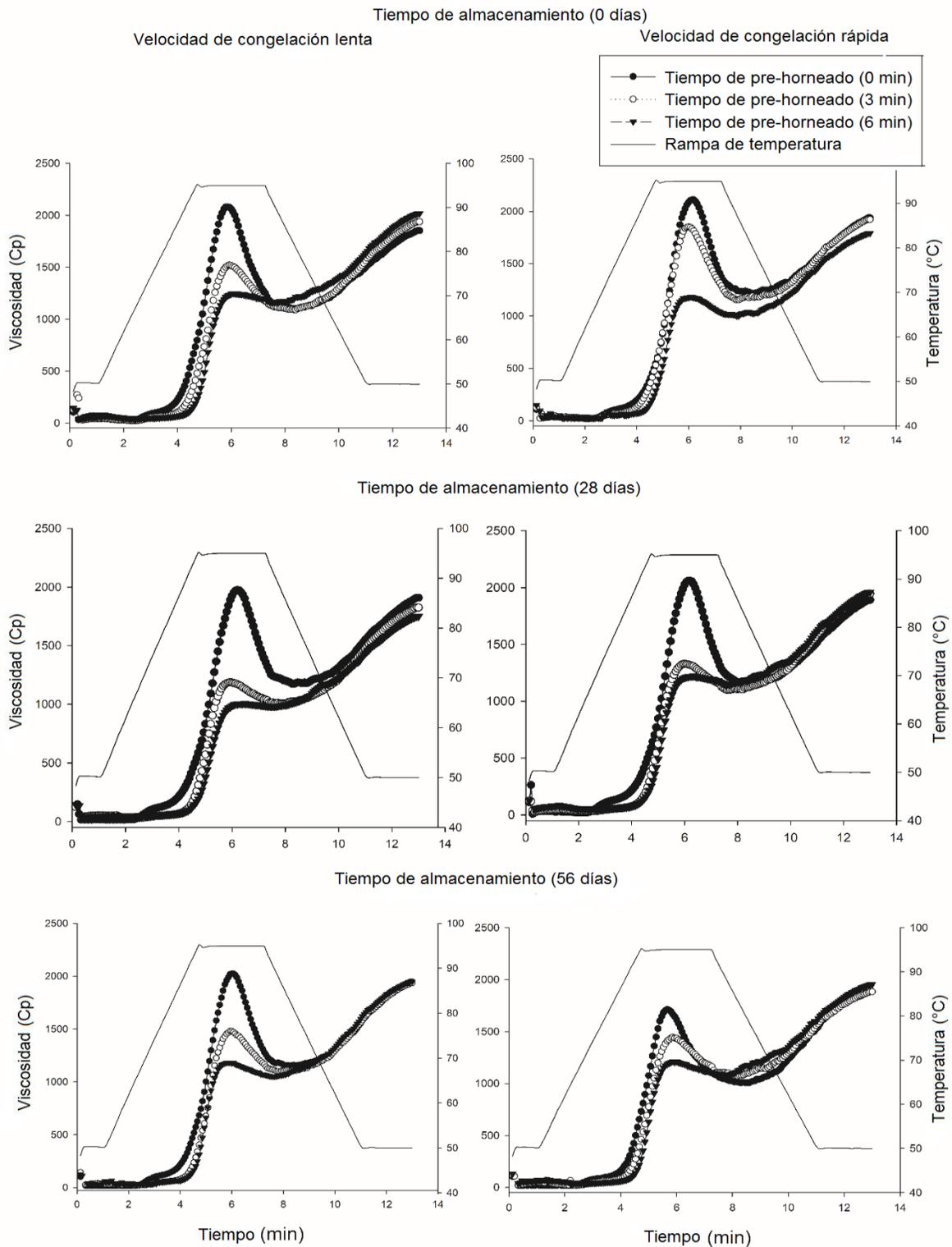


Figura 19. Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el perfil de viscosidad del pan pre-horneado.

Con respecto a la velocidad de congelación, tanto la congelación lenta como la congelación rápida se observó una tendencia de disminución del pico de viscosidad con el tiempo de pre-horneado. No existió tendencia del efecto de la velocidad de congelación con el incremento del tiempo de almacenamiento. En contraste, fue reportado que las proteínas forman complejos con los gránulos de almidón, de ese modo previenen la liberación de exudados y la disminución del pico de viscosidad (Rojas *et al.*, 2000).

Break down

El break down es la diferencia de viscosidad entre el pico de viscosidad y la viscosidad mínima en el amilograma. Este puede ser interpretado como la medida del grado de desintegración de los gránulos de almidón

La Tabla 6 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) el break down del pan pre-horneado.

La Figura 19 muestra el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el break down en la gráfica de RVA. Para todos los tiempos de almacenamiento, el break down disminuyó con el incremento del tiempo de pre-horneado para ambas velocidades de congelación. En el break down, los gránulos hinchados liberan las moléculas de amilosa y amilopectina las cuales quedan en solución (Zaidul *et al.*, 2007). En un estudio llevado a cabo por Ragae y Aal, (2006), a una mezcla de 50% de almidón de trigo-papa el almidón mostró mayor break down y el pico de viscosidad, lo cual está relacionado con el gránulo de hinchamiento de los gránulos de almidón durante el calentamiento.

Set back

Es la diferencia entre la viscosidad mínima y la viscosidad registrada al final del amilograma. Este parámetro está relacionado con el grado de retrogradación (Dengate, 1984).

La Tabla 6 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron significativamente ($P < 0.01$) el set back del pan pre-horneado.

En la Figura 19 se observa que el set back incrementó al aumentar el tiempo de pre-horneado a cualquier tiempo de almacenamiento y velocidad de congelación. No se presenta tendencia en cuanto al tiempo de almacenamiento, a ningún tiempo de pre-horneado ni velocidad de congelación. Sin embargo, a 56 días y con 0 min de pre-horneado, el set back se incrementó comparado con los otros tiempos de almacenamiento. Cuando el set back se incrementa, podría ser indicativo de mayor retrogradación. El tiempo de pre-horneado causa desnaturalización de las proteínas y evaporación del agua. En la mayoría de los casos, el tiempo de almacenamiento genera un incremento en la elasticidad de la masa y el pan pre-horneado posiblemente debido a la pérdida de humedad en la descongelación. La velocidad de congelación rápida fue más benéfica que la lenta y causó menos daño a la red de gluten por que el proceso de congelación permaneció en etapa de nucleación. Zaidul *et al.* (2007) estudió el pico de viscosidad y el set back de mezclas de harina de trigo con otros productos agrícolas para determinar el comportamiento del almidón y encontró que esos parámetros fueron disminuidos por el contenido de lípidos y proteínas del trigo. A diferencia de este estudio, a pesar del daño causado a las proteínas por el tiempo de pre-horneado y la congelación, no se observó una influencia significativa de las proteínas, por lo que la mayoría de los efectos pueden ser atribuidos a la gelatinización del almidón.

Evaluaciones Térmicas

Calorimetría de Barrido Diferencial

Este estudio muestra los efectos de la rampa de temperatura en los cambios de energía el almidón, tales como las temperaturas de inicio (T_0), pico (T_g) y (final T_f) y la entalpía de gelatinización (ΔH_g).

La Tabla 8 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento en el pan pre-horneado, los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) el ΔH_g del pan pre-horneado.

La Figura 20 muestra el efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en el ΔH_g del pan pre-horneado. El ΔH_g disminuye con el tiempo de pre-horneado a cualquier tiempo de almacenamiento siendo a 6 min de pre-horneado donde la entalpía es más baja, lo cual indica que la mayoría de los gránulos de almidón nativo se dañaron. Cuando hay mayor tiempo de pre-horneado, la gelatinización del almidón también es mayor, por lo tanto, al realizar la determinación hay menores cambios en el almidón a altas temperaturas. Lo anterior ocasiona menor cambio de temperatura. Cuando hay mayor tiempo de pre-horneado, la gelatinización del almidón es mayor, por lo que en el análisis no se presentan cambios significativos con las altas temperaturas. Por otro lado, con el tiempo de almacenamiento ΔH_g del pan pre-horneado disminuyó, sin embargo, a 56 días de almacenamiento la entalpía de gelatinización incrementó, estos resultados coinciden con el incremento de la viscosidad máxima y pueden estar relacionados con el “annealing” del almidón. La entalpía de gelatinización después del “annealing” es más alta que el almidón nativo y da lugar a la elevación de las temperaturas de gelatinización del almidón.

Tabla 8. Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre las propiedades térmicas del pan pre-horneado.

FV ^a	GL	F			
		T ₀ ^a	T _g ^a	T _f ^a	ΔH _g ^a
Tiempo de almacenamiento masa (TA)	4	22.14**	22.89**	73.61**	162.66**
Velocidad de congelación (VC)	1	27.45**	17.21**	54.15**	94.29**
Tiempo de pre-horneado (TP)	2	190.15**	52.99**	909.99**	4808.40
TA*VC	4	7.47**	2.92*b	8.96**	71.62**
TA*TP	8	28.31**	34.36**	75.55**	58.10**
VC*TP	2	3.08 ^{ns}	4.78*	63.80**	35.43**
ERROR	60				
TOTAL	89				

^a FV, fuente de variación; GL, grados de libertad; T₀; temperatura inicial, T_g; temperatura de gelatinización, T_f; temperatura final, ΔH_g; entalpía de gelatinización.

* Significativo (P<0.05).

** Muy Significativo (P<0.01).

^{ns} No significativo

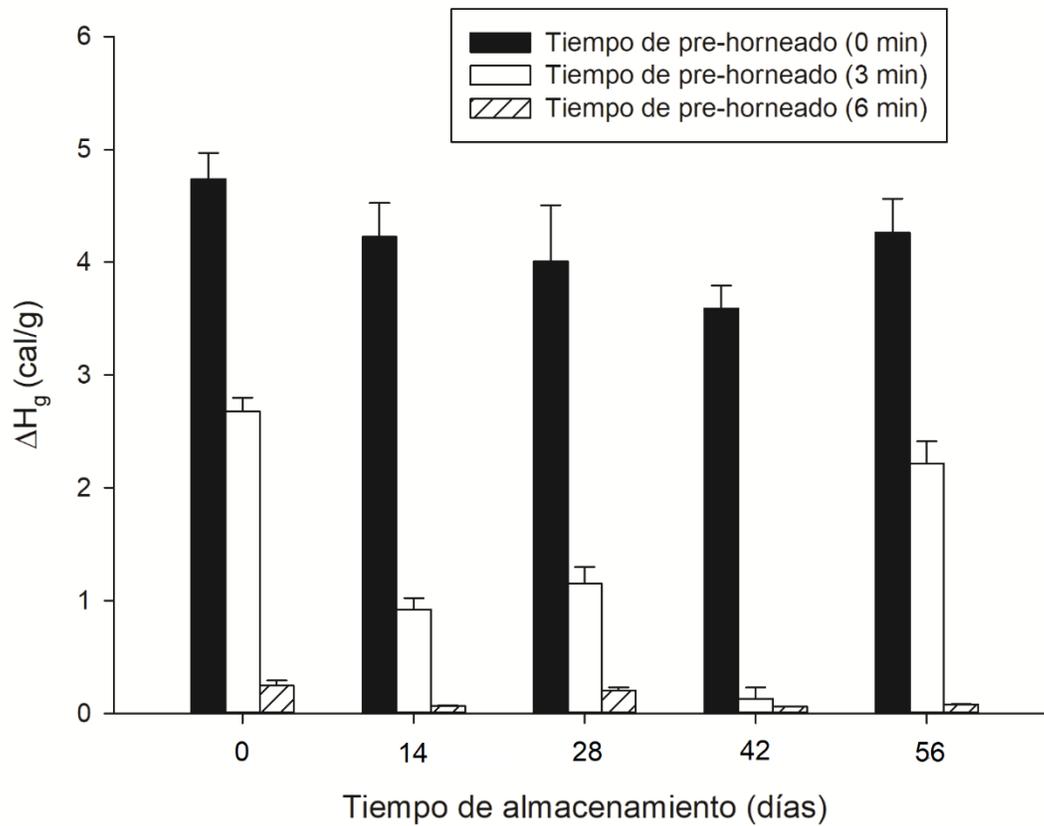


Figure 20. Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre la entalpía de gelatinización (ΔH_g) del pan pre-horneado.

En la Figura 21 se observa el efecto de la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento en el ΔH_g del pan pre-horneado. Con velocidad de congelación rápida se observa mayor ΔH_g que con velocidad de congelación lenta para la mayoría de los tiempos de almacenamiento (excepto 56 días). Existe una tendencia de disminución de ΔH_g incrementando el tiempo de almacenamiento. Esto puede ser debido al efecto de las fluctuaciones de temperatura causado por la redistribución y recrystalización del agua, formando cristales más grandes que dañan la matriz de gluten-almidón.

Además, el agua es perdida cuando la masa es descongelada, causando disminución de ΔH_g cuando hay mayor daño en los gránulos de almidón. La redistribución del agua y la recrystalización ocurre en la masa cuando es sometida a congelación en el cual los cambios son inducidos en la estructura y los arreglos de amilosa y amilopectina, por lo que algunos cambios podrían ser reflejados durante la gelatinización del almidón (Ma *et al.*, 2016).

El efecto del tiempo de almacenamiento y velocidad de congelación en el ΔH_g puede deberse a que con velocidad de congelación rápida existe menos cambio debido a menos daño al gluten y almidón por la formación de cristales más pequeños y menos redistribución de agua (Berglund *et al.*, 1991). Los gránulos de almidón estuvieron menos expuestos a los efectos de la congelación evitando la gelatinización y, por lo tanto, produciendo mayor cambio de entalpía. La gelatinización del almidón es un proceso endotérmico que requiere energía para llevarse a cabo. Cuando el gránulo del almidón está menos dañado más energía es requerida (El-Porai *et al.*, 2013). En estudios realizados por Ribotta *et al.* (2004) existió una pequeña disminución en ΔH_g con el tiempo de almacenamiento de la masa adicionada con ésteres de glicerol y ácidos grasos del ácido diacetil tartárico (DATEM) y goma guar. No hubo diferencias en términos de masa congelada adicionada con goma guar con respecto a masa adicionada con DATEM y sin aditivos ($P > 0.05$).

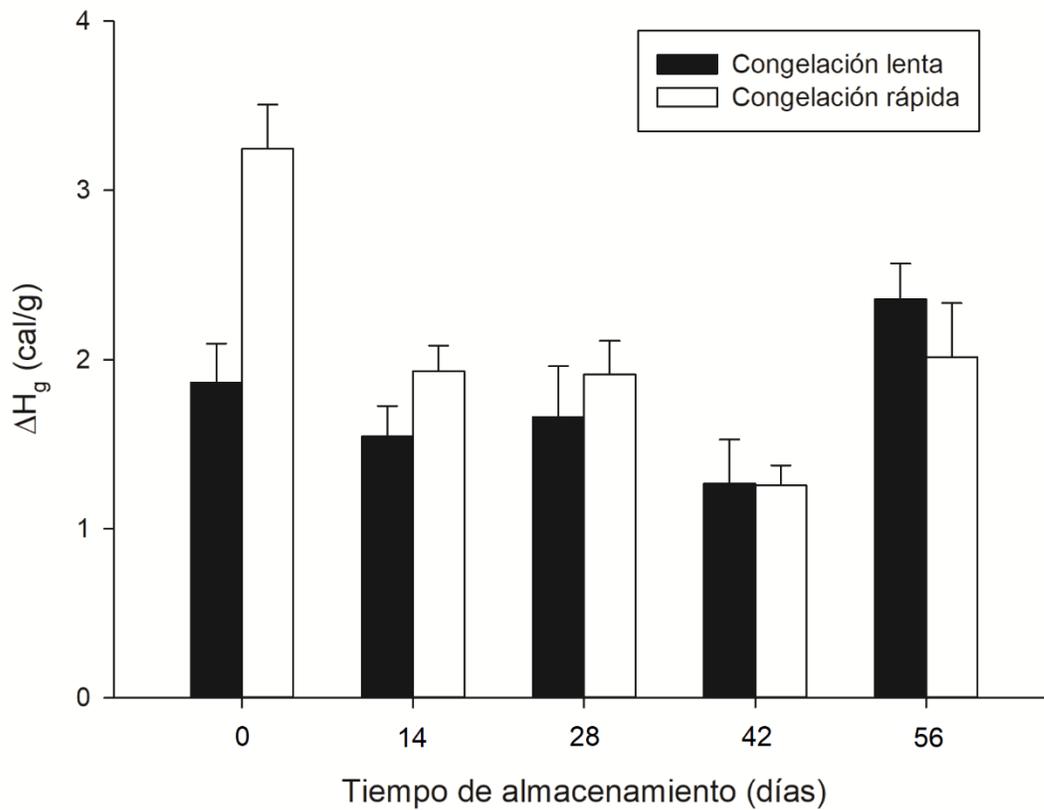


Figura 21. Efecto de la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento sobre la entalpía de gelatinización (ΔH_g) del pan pre-horneado.

Evaluaciones Estructurales

Difracción de Rayos X

Los polímeros del almidón se presentan en forma organizada formando cristalitas (amilopectina) los cuales al gelatinizarse por medio de humedad y altas temperaturas se desorganizan y pierden la cristalinidad (Ribbota *et al.*, 2003). La intensidad de las señales obtenidas a partir del análisis de difracción de rayos X indica el grado de cristalización del almidón del pan pre-horneado.

En la Tabla 9 se presenta el porcentaje de cristalinidad del pan pre-horneado a diferentes tiempos de pre-horneado, velocidades de congelación y tiempos de almacenamiento.

En la Figura 22 (A, B, C) se observa el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación lenta y tiempo de almacenamiento sobre la cristalinidad del pan pre-horneado. Con el tiempo de pre-horneado disminuye el área en la señal, lo cual indica menor grado de cristalinidad. Al aumentar el tiempo de pre-horneado la cantidad de almidón gelatinizado aumenta, la gelatinización provoca el rompimiento del gránulo de almidón debido a la humedad presente provocando el hinchamiento del gránulo y posteriormente se liberan la amilosa y amilopectina. El daño al almidón causa la liberación de la amilosa del gránulo lo cual promueve la interacción de las cadenas para formar una red de amilosa (Bárcenas *et al.*, 2003). El ordenamiento de los cristalitas (parte ramificada de la amilopectina) se pierde y el grado de cristalinidad disminuye. En un estudio realizado por Silvas-García *et al.*, (2016) se analizaron las propiedades estructurales de la masa almacenada en congelación mediante difracción de rayos X encontrándose que la cristalinidad del almidón de la masa disminuía conforme aumentaba el tiempo de almacenamiento. Dichos resultados coinciden con este estudio.

Tabla 9. Porcentaje de cristalinidad del pan pre-horneado a diferentes tiempos de pre-horneado, velocidades de congelación y tiempos de almacenamiento.

Tiempo de almacenamiento (días)	Velocidad de congelación (°C/min)	Tiempo de pre-horneado (min)	Cristalinidad(%) ^{a,b}
0	Congelación lenta (-0.15)	0	18.17 ± 0.53 ^a a
		3	17.37 ± 0.16 b
		6	16.19 ± 0.22 c
	Congelación rápida (-1.45)	0	18.81 ± 0.25 d
		3	18.88 ± 0.07 d
		6	18.04 ± 0.23 a
28	Congelación lenta (-0.15)	0	17.33 ± 0.34 b
		3	16.40 ± 0.09 c
		6	16.25 ± 0.28 c
	Congelación rápida (-1.45)	0	18.70 ± 0.28 d
		3	18.33 ± 0.22 a
		6	17.66 ± 0.34 b
56	Congelación lenta (-0.15)	0	16.21 ± 0.40 c
		3	15.60 ± 0.13 e
		6	14.47 ± 0.51 f
	Congelación rápida (-1.45)	0	17.46 ± 0.40 b
		3	16.18 ± 0.29 c
		6	15.81 ± 0.39 e

^a Media ± Desviación Estándar

^b Medias con diferentes letras son estadísticamente diferentes (P<0.05).

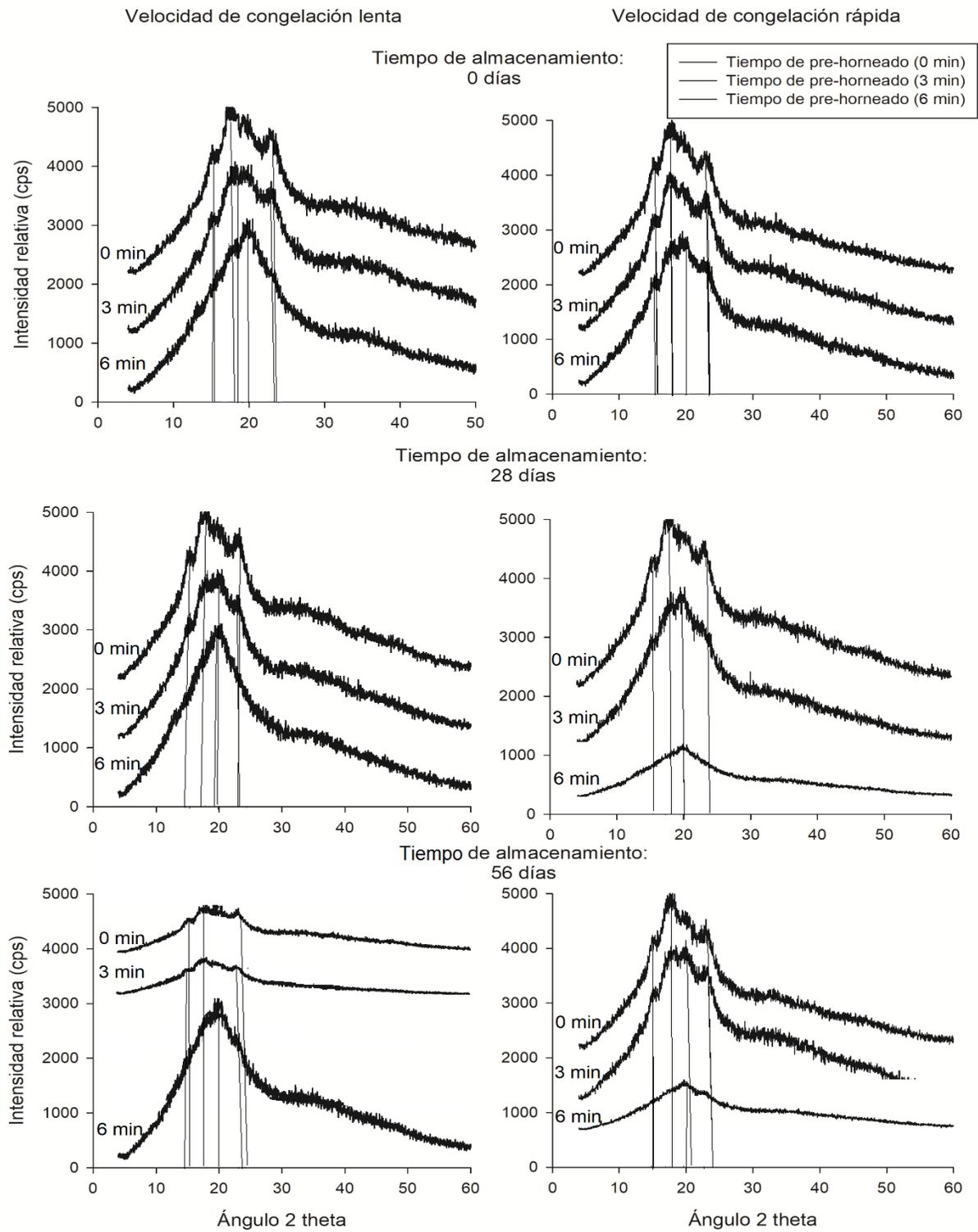


Figura 22. Efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento a los 0, 28 y 56 días sobre la cristalinidad del almidón del pan pre-horneado.

Al aumentar el tiempo de almacenamiento se observó mayor área de la señal por lo que el grado de cristalinidad fue mayor que el presentado a 28 días de almacenamiento. A los 56 días de almacenamiento el área debajo de la señal fue muy baja indicando que la gelatinización del almidón fue casi completa y que el almacenamiento en congelación dañó la cristalinidad debido posiblemente a la redistribución del agua y los daños causados por la formación de cristales.

En la Figura 22 (D, E, F) se observa el efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación rápida y tiempo de almacenamiento sobre la cristalinidad del pan pre-horneado. El efecto presentado es el mismo que se presenta en la Figura 22 (A, B, C) sin embargo, el área de la señal es mayor con velocidad de congelación rápida. Lo anterior representa un mayor grado de cristalinidad por lo que el daño al almidón es menor. Esto puede ser debido a que con velocidad de congelación rápida existe menos redistribución del agua, lo cual es responsable de los daños causados al almidón (Ribotta *et al.*, 2003). Los cristales formados por la congelación permanecen en estado de nucleación, conservando de ese modo la integridad del almidón por lo que se presenta menor grado de cristalinidad.

Evaluaciones de la Calidad del Pan

Volumen Específico

El volumen específico es obtenido a partir de la relación volumen/peso y es uno de los parámetros de calidad más importante del pan debido a que están directamente relacionados con la aceptación del consumidor.

La Tabla 10 muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el pan, los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) al volumen específico, firmeza y humedad del pan.

Tabla 10. Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en congelación sobre el volumen específico, firmeza y humedad del pan.

FV ^a	GL	F		
		VE	FIRM	HUM
Tiempo de almacenamiento masa (TA)	4	1256**	82.64**	15.38**
Tiempo de pre-horneado (TP)	1	20.25**	1150.35**	6.45**
Velocidad de congelación (VC)	2	2235	0.02 ^{ns}	7.44**
TA*VC	4	4.18**	185.37**	23.18**
TA*TP	8	3.55**	20.68**	2.29*
VC*TP	2	40.10**	20.94**	1.52 ^{ns}
ERROR	60			
TOTAL	89			

^a FV, fuente de variación; GL, grados de libertad; VE, volume específico; FIRM, firmeza; HUM, humedad.

* Significativo (P<0.01).

** Muy significativo (P<0.01).

^{ns} No significativo.

En la Figura 23A se observa el efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre el volumen específico del pan. A 0 min de pre-horneado se observa el volumen específico más bajo.

Lo anterior podría deberse a que en su preparación está completamente fermentado antes de la congelación por lo que la formación de hielo causa daño a la red de gluten (Phimolsiripol *et al.*, 2008). Además, existe una redistribución de agua y liberación de glutatión debido a la lisis de las levaduras que causa reducción de los enlaces disulfuro (S-S) a grupos sulfhidrilo (SH) (Casey y Foy, 1995), lo que causa el debilitamiento de la red de gluten, y este se vuelve incapaz de retener el CO₂ formado por la fermentación (Yi y Kerr, 2009). Para 3 y 6 min de pre-horneado, se observa mayor volumen específico es debido posiblemente a que la humedad en la masa es más baja debido a la temperatura del pre-horneado.

A 3 y 6 min de pre-horneado es formada una miga con estructura rígida debido a la desnaturalización de la proteína y la gelatinización del almidón que previenen que el volumen del pan disminuya. El mismo efecto se observó en todos los tiempos de almacenamiento.

Con el incremento del tiempo de almacenamiento el volumen específico disminuye, evento relacionado al desarrollo de grandes cristales debido a la recristalización y a la redistribución del agua que no regresa a su lugar original y se pierde en la descongelación. Esto es reflejado en una miga más densa y menos tiempo de retrogradación por la pérdida de agua.

En la Figura 23B se observa el efecto de la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento sobre el volumen específico del pan. A velocidad de congelación lenta se observa mayor volumen específico.

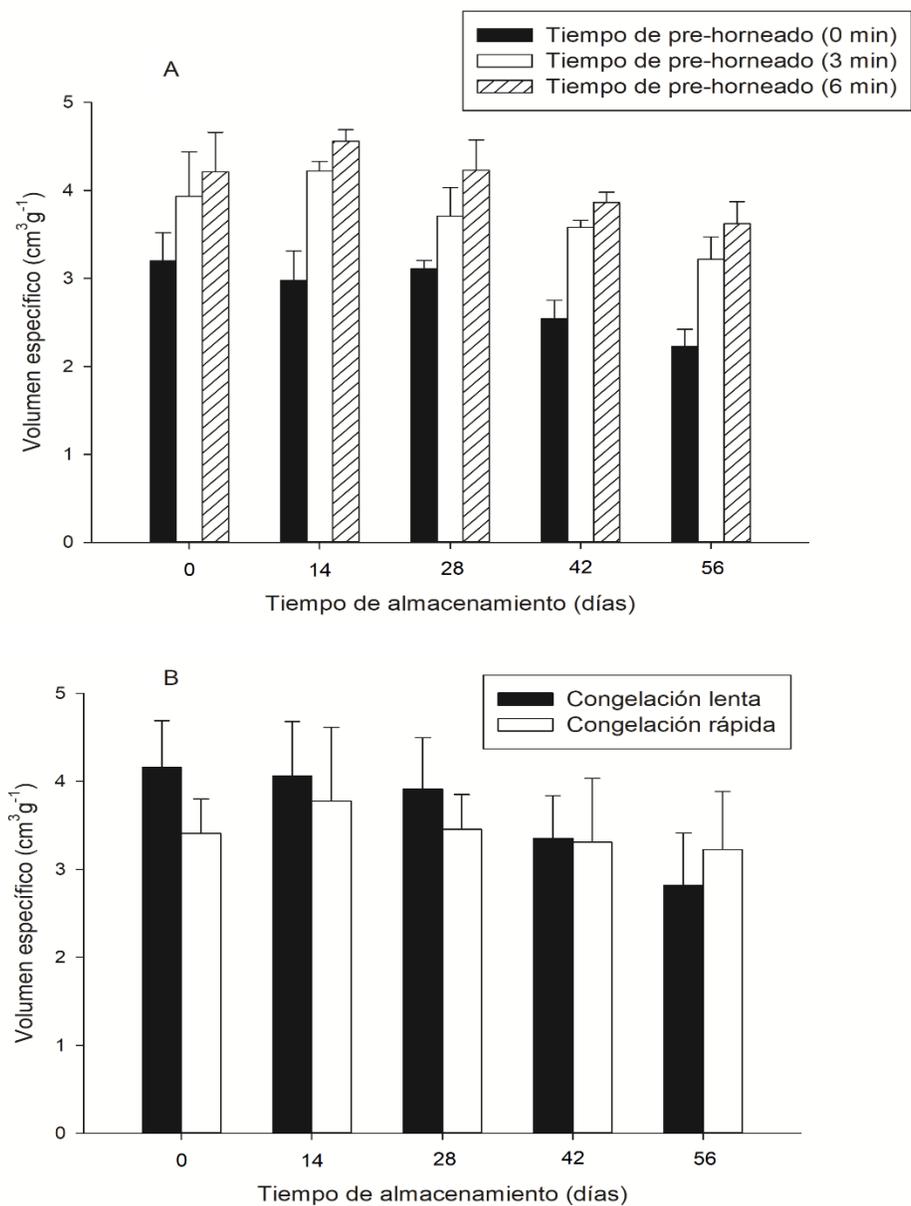


FIGURA 23. Efecto de A) tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento; B) velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el volumen específico del pan.

Esto podría ser debido a la formación núcleos de hielo en el citoplasma de la levadura y la liberación de glutatión que produce la reducción de enlaces de sulfuro y debilitamiento de la red de gluten. Por otro lado, los cristales en etapa de nucleación son más susceptibles a fundirse debido a las fluctuaciones de temperatura causando re-cristalización del agua (Phimolsiripol *et al.*, 2008). Por lo tanto, el tamaño de los cristales incrementa y dañan más la red de gluten. Esta tendencia se observa en todos los tiempos de almacenamiento. Cuando el tiempo de almacenamiento incrementa, la re-cristalización del agua se vuelve más evidente debido a las fluctuaciones de temperatura que afecta el volumen del pan.

La Figura 24 muestra el efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento del sobre el volumen específico del pan a 2, 24 y 48 horas después de ser horneado. El pan pre-horneado con más alto volumen específico se obtuvo a los 6 min de pre-horneado. Esto se puede observar en todos los tiempos de almacenamiento, habiendo una disminución al final lo cual fue discutido en las Figura 9 y 10. Cuando se comparan los resultados del volumen del pan a las 2, 24 y 48 h de horneado el comportamiento es similar, sin embargo, se observa mayor volumen específico a las 2 horas de horneado (pan fresco). Después de 24 horas de almacenado el pan, el efecto de la retrogradación del almidón y la sinéresis dan lugar al envejecimiento del pan (Morgan *et al.*, 1997). Lo anterior es causado por la pérdida de humedad resultado de la sinéresis por lo cual la amilosa es expuesta. La retrogradación como resultado de la expulsión de la humedad, se lleva a cabo un arreglo de las ramificaciones del almidón, resultando en una miga más firme y menor volumen específico.

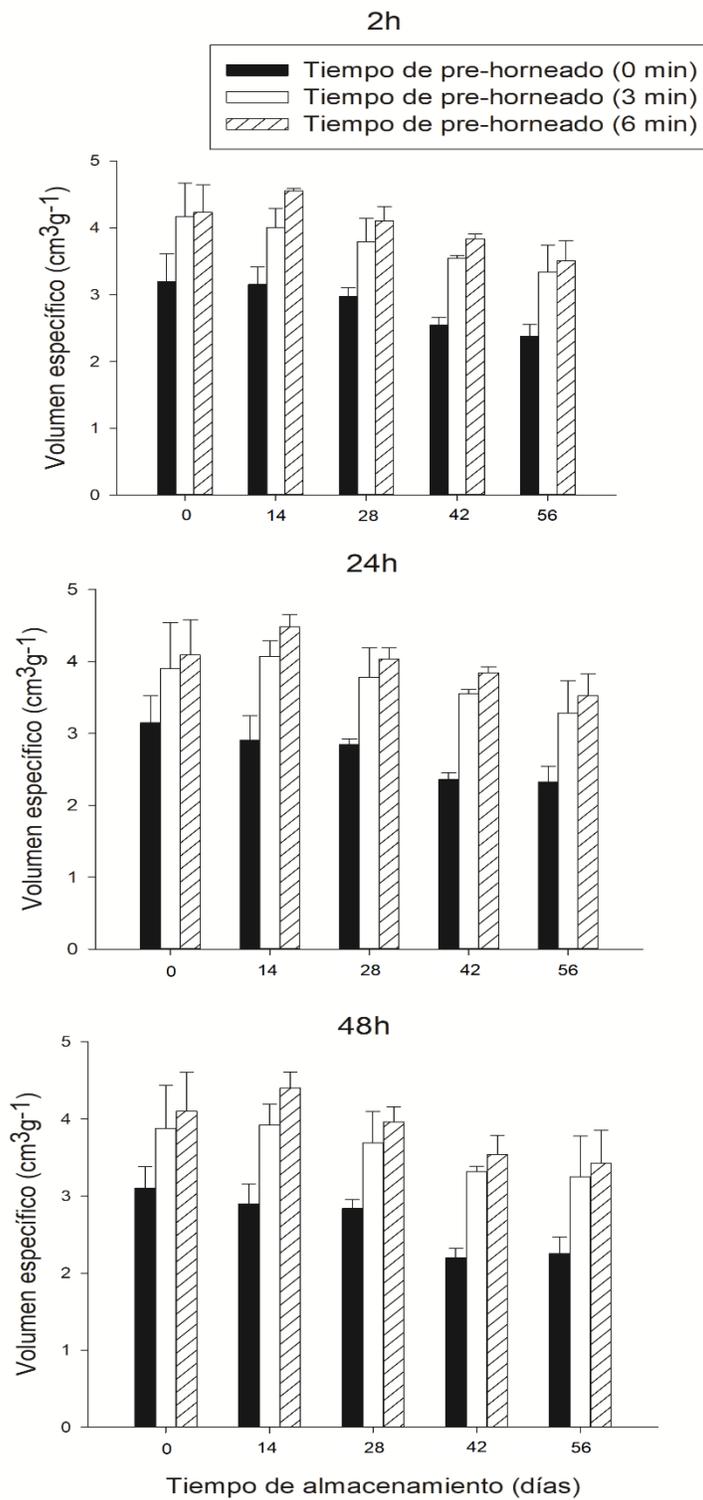


FIGURA 24. Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre el volumen específico del pan a las 2, 24 y 48 h.

En la Figura 25 se observa el efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el volumen específico del pan a las 2, 24 y 48 h. Con velocidad de congelación lenta se observa mayor volumen específico comparado con la congelación rápida por lo que en la mayoría de los casos es una mejor opción para congelar el pan pre-horneado. Lo anterior se observó en todos los tiempos de almacenamiento, además, también se observa la tendencia de disminución del volumen específico lo cual posiblemente es debido a la recristalización y la redistribución del agua. Con el tiempo después de ser horneado, el volumen del pan disminuyó, siendo 2 horas después de horneado el mejor tiempo para el consumo, es decir cuando está fresco.

Contenido de Humedad

La humedad del pan es un parámetro relacionado con la frescura y es importante para la aceptación del consumidor.

En la Tabla 10 se muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento del pan pre-horneado los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) en los resultados obtenidos de la humedad del pan pre-horneado.

La Tabla 11 muestra el efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre la humedad del pan pre-horneado a 2, 24 y 48 h. A pesar de los resultados del ANDEVA no hubo ninguna tendencia con los tratamientos. Esto podría ser porque el pan ha sido horneado en su totalidad, es decir, completando el mismo tiempo de horneado para todos los tiempos de pre-horneado. Lo anterior puede cancelar el efecto obtenido por los tratamientos en las otras determinaciones. Algunos autores encontraron una disminución en la humedad de la miga debido a la pérdida de agua cuando el pan es descongelado; este fenómeno se intensifica con el tiempo de almacenamiento en congelación por la recristalización (Selomulyo y Zhou, 2007).

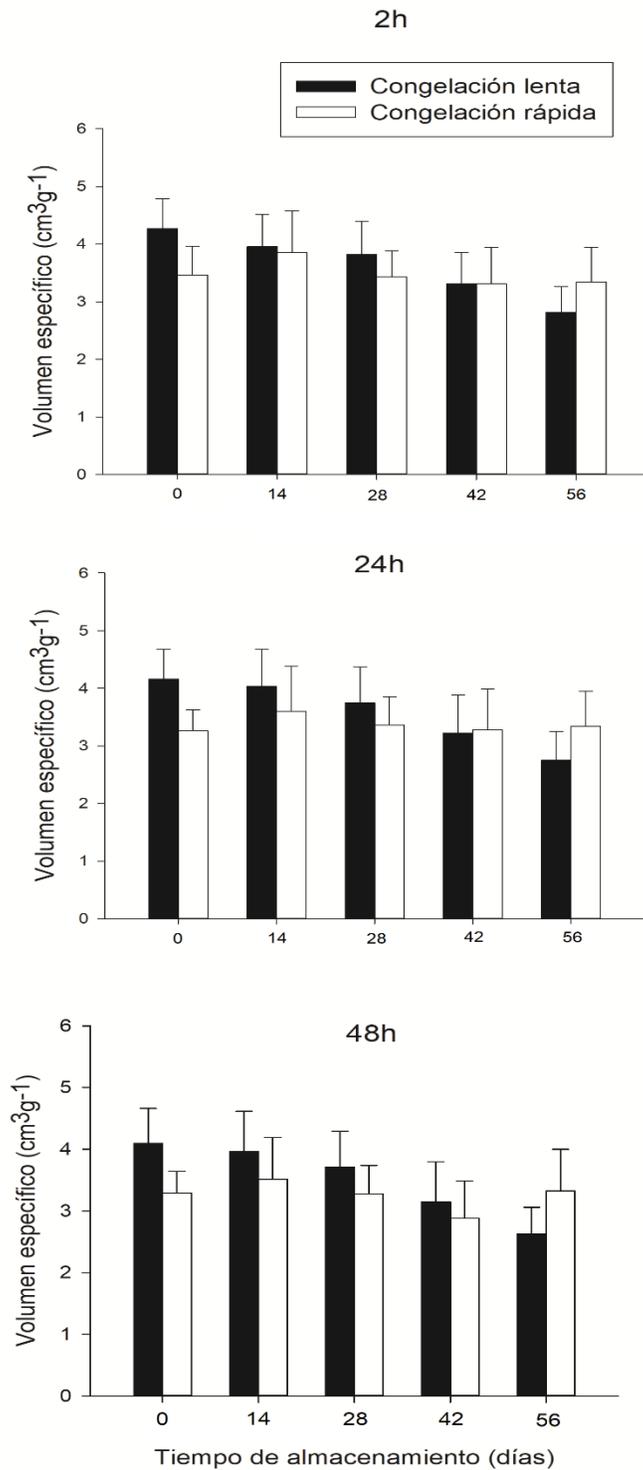


FIGURA 25. Efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el volumen específico del pan a las 2, 24 y 48 h.

Tabla 11. Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre el contenido de humedad (%) del pan almacenado a las 2, 24 y 48 h.

Días	0 min de pre-horneado			3 min de pre-horneado			6 min de pre-horneado		
	2h	24h	48h	2h	24h	48h	2h	24h	48h
0	42.38 ± 0.7 ^a	37.13 ± 3.1	37.59 ± 1.5	43.70 ± 0.3	39.93 ± 2.0	39.38 ± 1.0	43.57 ± 0.3	40.38 ± 2.0	39.04 ± 1.5
14	43.78 ± 0.4	39.94 ± 2.9	38.92 ± 1.9	44.01 ± 0.6	39.75 ± 1.4	38.07 ± 2.2	43.50 ± 0.7	38.86 ± 2.1	37.88 ± 1.0
28	42.10 ± 1.2	38.98 ± 1.6	36.44 ± 1.5	43.13 ± 0.3	38.58 ± 1.6	35.96 ± 1.8	42.68 ± 1.0	39.82 ± 2.2	37.44 ± 1.2
42	42.74 ± 0.9	40.58 ± 1.1	39.86 ± 1.1	42.34 ± 1.8	40.03 ± 1.1	38.92 ± 0.9	41.76 ± 2.1	38.71 ± 1.3	37.72 ± 0.7
56	43.20 ± 0.6	36.32 ± 3.2	37.81 ± 2.4	43.94 ± 0.6	40.07 ± 1.7	37.74 ± 1.4	43.33 ± 1.0	39.88 ± 1.7	38.00 ± 2.0

^a Los resultados son expresados como el promedio ± la desviación estándar.

En este estudio, los resultantes no son constantes para todos los tratamientos. Analizando el efecto de tiempo de después de ser totalmente horneado, se observa mayor humedad a las 2 h que a las 24 h y disminuye más a las 48 h. Estudios llevados a cabo por Lucas *et al.*, (2005) mostraron que la humedad fluye del centro de la miga hacia la capa externa, es decir, la corteza se vuelve más húmeda. El pan con mayor volumen facilita el flujo de la humedad a través de los ductos entre los alveolos formados por la red de gluten. La sinéresis llevada a cabo en la retrogradación expelle la humedad encontrada entre las ramificaciones del almidón (amilopectina) permitiendo la reorganización de los cristallitos (Ronda *et al.*, 2011). En el pan almacenado el agua encontrada en la miga fluye hacia el exterior del pan. En algunos estudios, la goma guar y la pectina tuvieron un efecto positivo en el contenido de humedad. Considerando los estudios previos realizados por Angioloni y Collar (2011) y Mandala *et al.* (2008), se estableció que las fibras y los hidrocoloides incrementan la retención de agua en la masa.

La Tabla 12 muestra el efecto de la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento sobre la humedad del pan pre-horneado a 2, 24 y 48 h. Con velocidad de congelación lenta el volumen específico del pan es mayor, mientras que con velocidad de congelación rápida se observó mayor humedad. De acuerdo a estudios por otros autores, es debido a que en la congelación rápida permanece en etapa de nucleación lo cual resulta en menos redistribución de agua y, por lo tanto, menos pérdida de humedad cuando se descongela. Sin embargo, para tiempos de congelación prolongados (56 días) la humedad en etapa de nucleación es más susceptible a la fusión causada por la pérdida de agua (Lucas *et al.*, 2005). Como se observa en la Tabla 12, la humedad es menor cuando el tiempo de re-horneado se incrementa.

Firmeza

La firmeza del pan es otro parámetro de calidad importante debido a que un aumento de este parámetro indica un envejecimiento del pan.

Tabla 12. Efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre el contenido de humedad (%) del pan almacenado a las 2, 24 y 48 h.

Días	Velocidad de congelación lenta			Velocidad de congelación rápida		
	2h	24h	48h	2h	24h	48h
0	43.01 ± 0.9 ^a	37.63 ± 3.0	38.83 ± 1.2	43.43 ± 0.6	40.65 ± 1.5	38.51 ± 1.8
14	43.50 ± 0.7	38.73 ± 2.0	37.71 ± 1.6	44.03 ± 0.2	40.30 ± 2.1	38.87 ± 1.8
28	42.25 ± 1.0	38.63 ± 1.5	37.05 ± 1.3	43.02 ± 0.8	39.62 ± 2.0	36.17 ± 1.8
42	43.70 ± 0.4	40.35 ± 1.2	39.2 ± 1.4	40.86 ± 1.1	39.20 ± 1.4	38.40 ± 1.0
56	43.88 ± 0.6	38.61 ± 3.8	39.15 ± 1.1	43.09 ± 0.8	38.90 ± 1.5	36.55 ± 1.5

^a Los resultados son expresados como el promedio ± la desviación estándar.

En la Tabla 10 se muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento del pan pre-horneado, los cuales afectaron muy significativamente ($P < 0.01$) sobre la firmeza del pan.

La Figura 26 se muestra el efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre la firmeza del pan a las 2, 24 y 48 h. A 0 min de pre-horneado, la firmeza de la miga fue mayor posiblemente debido a que la red de gluten es dañada debido a la gran cantidad de agua libre en la masa que causa el rompimiento de la continuidad de la red de gluten durante el congelamiento de la masa. Además, la levadura también pudo sufrir daño por el incremento de la presión osmótica y por el rompimiento de la membrana celular. Cuando el pan pre-horneado se descongela y se hornea completamente, se forma un pan sin capacidad de retener CO_2 , firme y con bajo volumen. Por otro lado, con 3 y 6 min de pre-horneado, se forma una miga firme lo cual hace posible que sea retenido el volumen original antes de la congelación. Después de 6 min de pre-horneado se obtuvo pan con menor firmeza.

Con el tiempo de almacenamiento en congelación se observó un incremento de la firmeza en todos los casos. Al comparar los resultados a las 2, 24 y 48h después de ser horneado se observa que el pan fresco (2 h) es menos firme (más blando) que con 24 y 48 h horas de almacenamiento. Algunos investigadores (Anon *et al.*, 2004) estudiaron la firmeza del pan considerando que la retrogradación del almidón es el responsable del incremento de la firmeza del pan almacenado.

La Figura 27 muestra el efecto de la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento sobre la firmeza del pan a las 2, 24 y 48 h. A velocidad de congelación lenta la firmeza del pan es menor. Esto puede deberse a la poca liberación de glutatión de las levaduras, lo que si sucede con velocidad de congelación rápida (Le bail *et al.*, 1998).

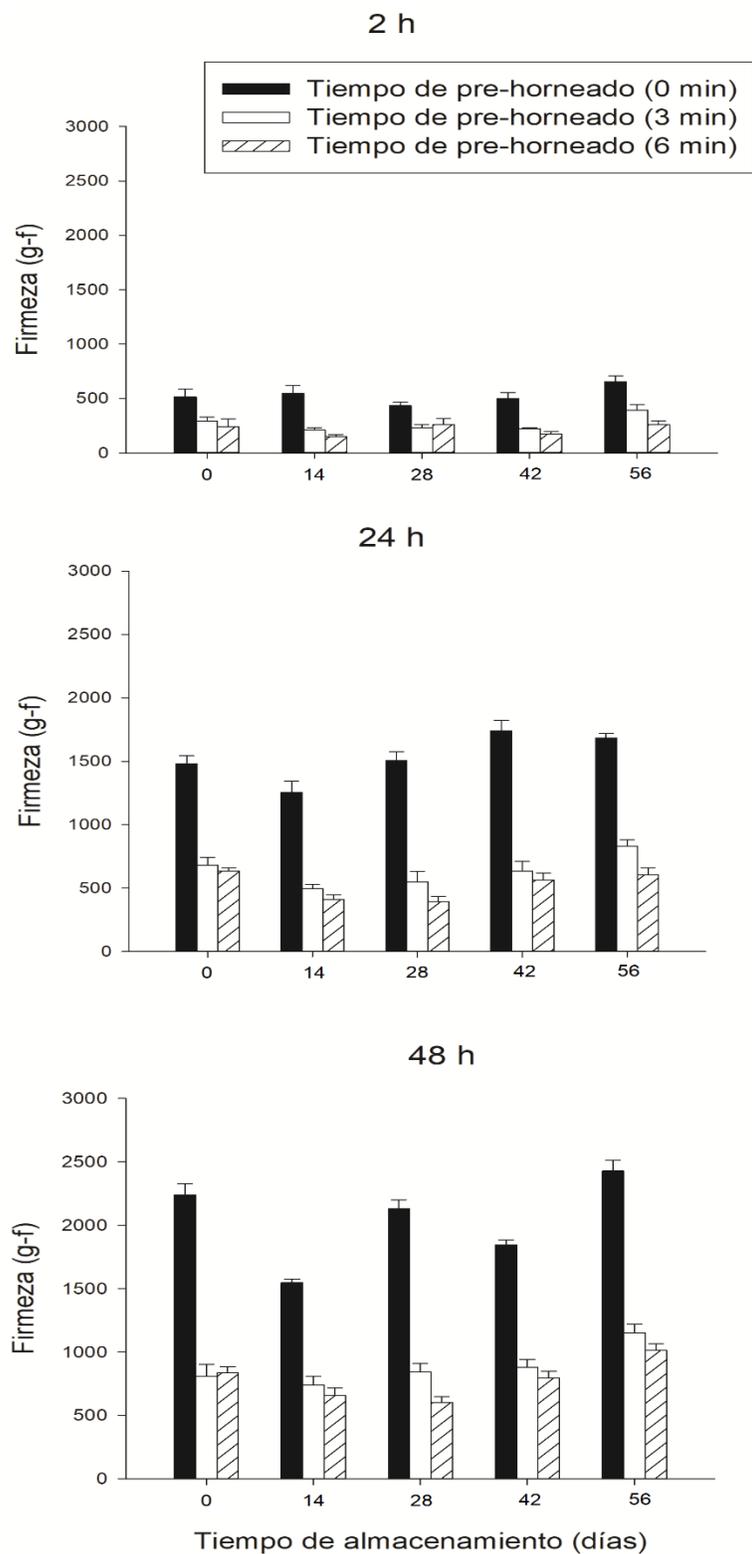


FIGURA 26. Efecto del tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento sobre la firmeza del pan a las 2, 24 y 48 h.

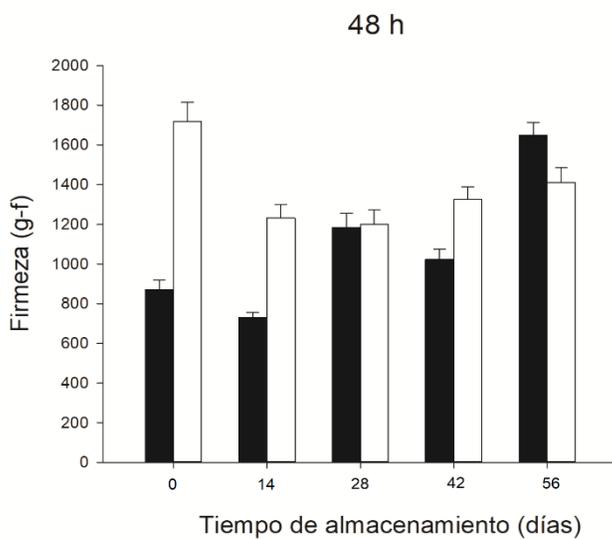
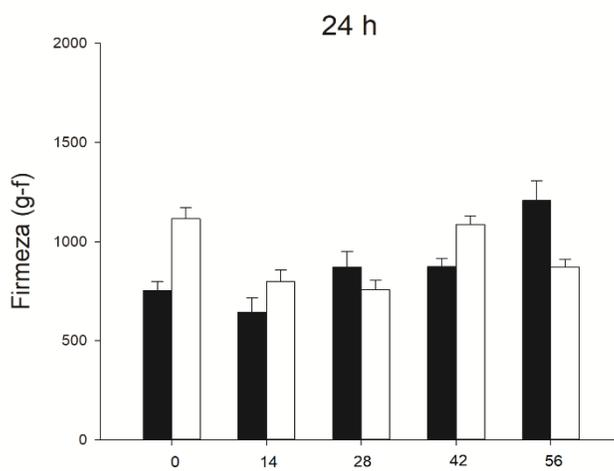
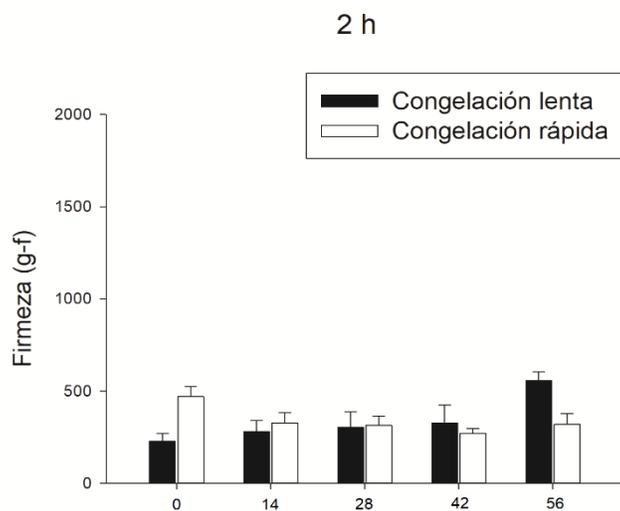


FIGURA 27. Efecto de la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento sobre la firmeza del pan a las 2, 24 y 48 h.

La humedad se queda en etapa de nucleación y se conglera en el citoplasma de las levaduras rompiendo las membranas liberando glutatión, sustancia que reduce los enlaces disulfuro que forman enlaces entre subunidades de glutenina que permite el incremento del peso molecular para formar un gluten más elástico (Meziani *et al.*, 2011).

En un estudio realizado por Tao *et al.* (2016) con masa congelada para pan dulce se encontró una rápida retrogradación del almidón y un incremento en la cristalinidad relativa a diferentes velocidades de congelación. Sin embargo, a tiempos de congelación prolongados el agua congelada en etapa de nucleación fue más susceptible a la fusión debido a las fluctuaciones de temperatura causando daño a la red de gluten. A tiempo de almacenamiento de 0 días los valores de firmeza son más bajos.

Con el tiempo de almacenamiento hay una tendencia de incrementar la firmeza en la miga (con excepciones). Del día 0 al día 56 existe un notable incremento en la firmeza debido a la recristalización del agua, lo cual aumenta el debilitamiento de la red de gluten produciendo una miga más densa y firme (Giannou y Tzia, 2007). A las 2 horas de almacenamiento es posible observar una firmeza baja del pan ya que es pan fresco. A 2 y 48 h de almacenamiento del pan existe un mayor grado de retrogradación, por lo tanto, mayor firmeza (mas duro) de la miga. El comportamiento de la firmeza del pan con la velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento es la misma con 2, 24 y 48 h después de horneado, cambiando sólo los valores de firmeza.

Correlaciones entre las Diferentes Evaluaciones

Las correlaciones nos permiten notar la relación entre las diferentes evaluaciones experimentales llevadas a cabo. En la Tabla 13 se muestran las correlaciones de las evaluaciones viscoelásticas y las evaluaciones del almidón del pan pre-horneado.

Tabla 13. Valores de los coeficientes de correlación (r) entre las propiedades viscoelásticas, perfil de viscosidad y entalpía de gelatinización del almidón del pan pre-horneado.

Determinaciones	FG' ^a	FG''	FTan δ	ΔH _g	PV
FG	1.00	0.95 ^{**c}	0.89 ^{**}	0.80 ^{**}	0.81 ^{**}
FG''	0.95 ^{**}	1.00	0.74 ^{**}	0.67 ^{**}	0.68 ^{**}
FTan δ	0.89 ^{**}	0.74 ^{**}	1.00	0.88 ^{**}	ns ^b
ΔH _g	0.80 ^{**}	0.67 ^{**}	0.88 ^{**}	1.00	0.95 ^{**}
PV	0.81 ^{**}	0.68 ^{**}	0.92 ^{**}	0.95 ^{**}	1.00

^a FG'; barrido de frecuencia G', FG''; barrido de frecuencia G'', FTan δ; barrido de frecuencia Tan δ, ΔH_g; entalpía de gelatinización, PV; pico de viscosidad.

^b ns no significativo (P>0.05).

^c ** Muy significativo (P<0.01).

Tabla 14. Valores de los coeficientes de correlación (r) entre los parametros viscoelásticos del pan pre-horneado y la calidad del pan.

Determinaciones ^a	VE	FIRM
FG' ^a	0.73 ^{**}	-0.66 ^{**b}
FG''	0.68 ^{**}	-0.61 ^{**}
FTan δ	-0.65 ^{**}	0.67 ^{**}

^a FG'; barrido de frecuencia G', FG''; barrido de frecuencia G'', FTan δ; barrido de frecuencia Tan δ, VE; volumen específico, F; firmeza.

^b ** Muy significativo (P<0.01).

Tabla 15. Valores de los coeficientes de correlación (r) entre las proteínas y la calidad del pan.

Determinaciones ^a	PPS ^a	VE	FIRM
PPS	1.00 ^{**}	-0.61 ^{**b}	0.62 ^{**}
VE	-0.61 ^{**}	1.00 ^{**}	-0.79 ^{**}
FIRM	0.62 ^{**}	-0.79 ^{**}	1.00 ^{**}

^a PPS; proteína polimérica soluble; VE; volumen específico; F; firmeza

^b ** Muy significativo (P<0.01).

El comportamiento reológico de la masa es importante en la panificación ya que presenta una relación directa con la calidad del pan. Existe correlación directa y alta entre el módulo elástico (G') y la entalpía de gelatinización (ΔH_g) con un coeficiente de correlación ($r = 0.80$), esto indica que mientras mayor sea el módulo elástico mayor será la entalpía de gelatinización.

Lo anterior puede ser consecuencia de que existe menor daño al almidón cuando G' es alto, esto ocasiona que mayor cantidad de energía sea necesaria para llevar a cabo la gelatinización debido a que existen mayor cantidad de gránulos de almidón nativo (Ribotta *et al.*, 2004). Lu y Grant (1999) y Ribotta *et al.* (2003) sugirieron que la redistribución del agua y la recristalización ocurrieron durante el almacenamiento en congelación lo cual podría inducir cambios en la estructura y el arreglo de la amilosa y la amilopectina y tales cambios podrían ser reflejados en el ΔH_g durante la gelatinización del almidón. Los resultados de los análisis de correlación indican que existe correlación directa y mediana entre el módulo viscoso G'' y la viscosidad máxima del almidón en la prueba de RVA ($r = 0.68$). Lo anterior es debido a que ambos parámetros representan la viscosidad del pan pre-horneado.

Otro parámetro viscoelástico es $\text{Tan } \delta$ el cual presentó una correlación positiva y mediana con el pico de viscosidad (PV), lo anterior debido posiblemente a que cuando $\text{Tan } \delta$ es cercano a 0 significa que la masa tiene más proporción elástica que viscosa. Esto podría indicar que la masa ha sufrido menor daño, por lo que el almidón y las proteínas aún se encuentran en buen estado. Debido a esto, al existir mayor cantidad de almidón nativo la viscosidad en la prueba de RVA es mayor. Una baja movilidad de agua puede ser interpretada como un sistema de alta viscosidad con más interacciones entre el agua y los polímeros del almidón (Wang *et al.*, 2004).

El PV correlacionó alto y muy significativamente con ΔH_g ($r = 0.95$). Cuando los gránulos del almidón no han sufrido daños tan severos gelatinizan en mayor medida al aumentar la temperatura en la prueba de RVA, debido a ello, la cantidad de energía necesaria para romper el organizado complejo helicoidal entre amilosa-

amilosa y amilosa-amilopectina es mayor, es por ello que ΔH_g es más alto (Jayakody y Hoover, 2002).

En la Tabla 14 se muestran las correlaciones de las propiedades viscoelásticas y la calidad del pan pre-horneado. Existe una correlación mediana y muy significativa ($P < 0.01$) entre el módulo de almacenamiento (G') y el volumen específico del pan ($r = 0.73$). La elasticidad es representada por G' y es mayor cuando existen más cantidad de gluteninas de alto peso molecular, lo cual también es necesario para retener el CO_2 producido por las levaduras para obtener un buen volumen del pan (Hsu *et al.*, 2015). Así mismo, G' presenta una correlación inversa mediana con la firmeza de la miga debido a que cuando el volumen aumenta la firmeza disminuye. Existe una correlación inversa y mediana entre $\text{Tan } \delta$ de y el volumen ($r = -0.65$), lo que puede ser debido a que mientras más cercano a 0 sea $\text{Tan } \delta$, la proporción elástica es mayor por lo que la red de gluten se encuentra en mejor estado, y es capaz de retener más cantidad de CO_2 lo que aumenta el volumen de la miga. Por otro lado, $\text{Tan } \delta$ presenta correlación con la firmeza de la miga del pan. Lo anterior es debido al aumento de la densidad de la miga.

En la Tabla 15 se muestran las correlaciones de las proteínas y la calidad del pan pre-horneado. Las proteína polimérica soluble (PPS) en las cuales están incluidas las gluteninas de bajo peso molecular (LMW-GLU) muestran una correlación inversa con el volumen específico del pan. Estudios realizados anteriormente por Ribotta *et al.* (2001) demostraron que por el efecto de la congelación las proteínas de alto peso molecular son depolimerizadas reduciendo su peso molecular y haciéndose solubles, lo anterior repercute en la calidad del pan y el volumen se ve reducido debido a la debilitación de la red de gluten sostenida principalmente por HMW-GLU (Ribotta *et al.*, 2001).

La proteína polimérica soluble también resultan tener una correlación directa con la firmeza de la miga. Debido a la reducción del peso molecular de las proteínas ocasiona la pérdida del CO_2 producido por las levaduras, esto lleva al desarrollo de una miga más densa el cual presenta mayor firmeza.

El volumen del pan y la firmeza presentaron una correlación negativa mediana y significativa. De acuerdo a De la Hera *et al.*, (2014), al disminuir el volumen del pan la firmeza de la miga aumenta. Lo anterior es debido en parte al aumento de la densidad de la miga. Por otro lado, cuando la masa es congelada existe un aumento en el daño al almidón lo que ocasiona que retrograde más rápidamente, esto influye en el aumento de la firmeza de la miga. El envejecimiento del pan da lugar a pérdida de resiliencia de la miga, una corteza menos crujiente y aumento del contenido de almidón soluble (Peng *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

Los factores que más afectaron significativamente las proteínas del pan pre-horneado, el comportamiento reológico, los cambios en el almidón y la calidad del pan fueron el tiempo de pre-horneado seguido por el tiempo de almacenamiento y la interacción TP*TA. En el barrido de frecuencia, G' aumentó con el tiempo de pre-horneado, y G'' aumentó con el tiempo de almacenamiento. En el barrido de temperatura, G' y G'' mostraron un aumento máximo en el rango de 60° y 70°C para masa sin pre-hornear, mientras que a los 3 y 6 min de pre-horneado no se observó el mismo efecto. El tiempo de pre-horneado disminuyó $\tan \delta$ incrementando la elasticidad en la masa y el pan pre-horneado. El volumen específico aumentó con el tiempo de pre-horneado y disminuyó con el tiempo de almacenamiento. La velocidad de congelación lenta dio como resultado pan con mayor volumen específico que con la congelación rápida. Por otro lado, la firmeza del pan mostró una correlación inversa con el volumen del pan por lo que disminuyó con el tiempo de pre-horneado y aumentó con el tiempo de almacenamiento. En cuanto a la humedad del pan, se observó mayor contenido de humedad utilizando velocidad de congelación rápida. La solubilidad de las proteínas disminuyó con el tiempo de pre-horneado y el tiempo de almacenamiento, mientras que la cantidad de tioles libres disminuyó con el tiempo de pre-horneado y aumentó con el tiempo de almacenamiento. En las evaluaciones en almidón, el pico de viscosidad, la entalpía de gelatinización y el grado de cristalinidad del almidón disminuyeron con el tiempo de pre-horneado y el tiempo de almacenamiento.

En general, el tiempo de pre-horneado, velocidad de congelación y tiempo de almacenamiento del pan pre-horneado afectaron las propiedades fisicoquímicas, reológicas, térmicas y estructurales de la masa y la calidad del pan, causando cambios en las proteínas y el almidón por los efectos de la congelación. Los mejores tratamientos en la calidad del pan fueron obtenidos con 6 min de pre-horneado, velocidad de congelación lenta y tiempos cortos de almacenamiento. La información generada en este estudio puede ser útil para mejorar las condiciones de procesamiento del pan pre-horneado y producir pan de mayor calidad.

REFERENCIAS

- Abu-Ghoush, M., Herald, T. J. Dowell, F., Feng, X., Aramouni, F. M., Walker, C. 2008. Effect of antimicrobial agents and dough conditioners on the shelf-life extension and quality of flat bread, as determined by near-infrared spectroscopy. *International Journal of Food Science Technology*, 43 (2), 365-372.
- Addo, K., Xiong, Y. L., & Blanchard, S. P. 2001. Relationship of polymeric proteins and empirical dough rheology with dynamic rheology of dough and gluten from different wheat varieties. *Food Hydrocolloids* 33, 342-348.
- Addo, K., Xiong, Y. L., & Blanchard, S. P. 2001. Thermal and dynamic rheological properties of wheat flour fractions. *Food Research International*, 34, 329–335.
- Altamirano-Fortoul, R., Le-Bail, A. Chevallier, S. & Rosell, C. M. 2012. Effect of the amount of steam during baking on bread crust features and water diffusion. *Journal of Food Engineering*, 108, 128–134.
- Amaral, O., Guerreiro, C. S., Gomes, A., Cravo, M. 2016. Resistant starch production in wheat bread: Effect of ingredients, baking conditions and storage. *European Food Research and Technology*, 242(10), 1747-1753.
- American Association of Cereal Chemists. 2000. Approved Methods of the AACC, 10th ed. 2000. (Vol. 1 y 2). Minnesota, USA.
- Angioloni, A., Balestra, F., Pinnavaia, G. G. & Rosa, M. D. 2008. Small and large deformation tests for the evaluation of frozen dough viscoelastic behavior. *Journal of Food Engineering*, 87 (4), 527–531.
- Angioloni, A. & Dalla Rosa, M. 2005. Dough thermo-mechanical properties: influence of sodium chloride, mixing time and equipment. *Journal of Cereal Science*, 41, 327–331.
- Angioloni, A., & Collar, C. 2011. Physicochemical and nutritional properties of reduced-caloric density high-fibre breads. *LWT and Food Science and Technology*, 44, 747-758.

- Anon, M. C., LeBail, A. & Leon, A. E. 2004. Effect of freezing on dough ingredients. In Hui, Cornillon, Legarreta, Lim, Murrell, Nip (Eds.), *Handbook of frozen foods*. New York: Marcel Dekker.
- Armero, E. & Collar, C. 1996. Antistaling additive effect on fresh wheat bread quality. *Food Science Technoogy International*, 2, 323–333.
- Autio, K., Flander, L., Kinnunen, A., & Heinonen, R. 2001. Bread quality relationship with rheological measurements of wheat flour dough. *Cereal Chemistry*, 78, 654-657
- Baier-Schenk A, Handschin S, Conde-Petit B. 2005. Ice in prefermented frozen bread dough—an investigation based on calorimetry and microscopy. *Cereal Chemistry*, 82: 251-255.
- Baik, M. Y. & Chinachoti. 2000. Moisture redistribution and phase transition during bread staling. *Cereal Chemistry*, 77, 484-488.
- Bao Y. & Wang X. 2011. Research on Water's Influences on the Quality of Frozen Dough. *Procedia Environmental Sciences*, 8, 313-318.
- Barcenas, M. E., Benedito, C. & Rosell, C.M. 2004. Use of hydrocolloids as bread improvers in interrupted baking process with frozen storage. *Food Hydrocolloids*, 18, 769–774.
- Barcenas, M. E., Haros, M., Benedito, C. & Rosell, C. M. 2003. Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread. *Food Research International* 36, 863–869.
- Bean, S., Lyne, R., Tilley, K., Chung, O. And Lookhart, G. 1998. A rapid method for quantification of insoluble polymeric proteins in flour. *Cereal Chemistry*, 75 (3), 374-379.
- Bell, D. A. 1990. Methylcellulose as a structure enhancer in bread baking. *Cereal Foods World*, 35, 1001–1006.
- Berglund, P.T. & Shelton, D.R. 2003. Effect of frozen storage duration on firming properties of breads baked from frozen dough. *Cereal Food World*, 38, 89-93.
- Berglund, P.T., Shelton, D.R., Freeman T.P. 1991. Frozen Bread Dough Ultrastructure as Affected by Duration of Frozen Storage and Freeze-Thaw Cycles. *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, MN, Etats-Unis.

- Bhattacharya, M., Langstaff, T. M., & Berzonsky, W. A. 2003. Effect of frozen storage and freeze-thaw cycles on the rheological and baking properties of frozen doughs. *Food Research International*, 36, 365-372.
- Boom, R. M. 2006. Microstructure formation and rheological behavior of dough under simple shear flow. *Journal of Cereal Science* 43, 183-197.
- Bosmans, G. M., Lagrain, B., Fierens, E., Delcour, J. A. 2013. The impact of baking time and bread storage temperature on bread crumb properties. *Food Chemistry*, 141(4), 3301–3308.
- Bourne, M. C. 2002. Food texture and viscosity (2nd ed.). Academic Press.
- Branlard, G., Dardcvet, M., Saccomano, R., Lagoutte, F. & Gourdon, J. 2001. Genetics diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica*, 119, 59–67.
- Brathen, E., Knutsen, S.H., 2005. Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch based and cereal model system, flat breads and bread. *Food Chemistry*, 92 (4), 693–700.
- Carson, L. & Sun, X. S. 2001. Creep-recovery of bread and correlation to sensory measurements of textural attributes. *Cereal Chemistry*, 78, 101-104.
- Carvalho, R.A., Grosso, C.R.F. 2004. Characterization of gelatin films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. *Food Hydrocolloids*, 18, 717-726.
- Casey, G. P. & Foy, J. J. 1995. Yeast performance in frozen doughs and strategies for improvement. In K. Lorenz & Brummer (Eds.), *Frozen and refrigerated doughs and batters*. Minnesota: American Association of Cereal Chemists.
- Cauvain, S. & Young, L. 2008. Bakery food manufacture and quality. *Water control and effects*. 2da. Ed. Ames, Iowa.
- Charoenrein, S., Preechathamwong, N., 2010. Undercooling associated with slow freezing and its influence on the microstructure and properties of rice starch gels. *Journal of Food Engineering*, 100 (2), 310–314.
- Coda R., Varis, J., Verni, M., Rizzello, C. G. & Katina. K. 2017. Improvement of the protein quality of wheat bread through faba bean sourdough addition. *LWT - Food Science and Technology*, 82, 296-302.

- Collar, C., & Bollaín, C. 2004. Impact of microbial transglutaminase on the viscoelastic profile of formulated bread doughs. *European Food Research and Technology*, 218 (2), 139–146.
- Collins, B., Haley, S., 1992. Frozen bread doughs: effect of ascorbic acid addition and dough mixing temperature on loaf properties. *Chorleywood Digest*, 114, 21–23.
- Correa, M. J., Añón, M. C., Pérez, G. T., & Ferrero, C. 2010. Effect of modified celluloses on dough rheology and microstructure. *Food Research International* 43, 780–787.
- Deepak, M., Sheweta, B. & Khatkar. B. S. 2016. Optimization of bread firmness, specific loaf volume and sensory acceptability of bread with soluble fiber and different water levels. *Journal of Cereal Science*, 70, 186-191.
- De la Hera, E., Rosell, C. M., & Gomez, M. 2014. Effect of water content and flour particle size on gluten-free bread quality and digestibility. *Food Chemistry*, 151 (0), 526–531.
- Dengate, H. N. 1984. Swelling, pasting, and gelling of wheat starch. In Y. Pomeranz (Ed.), *Advances in cereal science and technology*. USA: American Association of Cereal Chemists, 49-82.
- Deschuyffeleer, N., Audenaert, K., Samapundo, S., Eeckhout, M. & Devlieghere, F. 2011. Identification and characterization of yeast causing chalk mold defects on par-baked bread. *Food Microbiology*, 28, 1019-1027.
- Dogan, H. & Kokin, J. L. 2007. Rheological properties of food. In Heldman, R. D. & Lund, B. D. (Ed.). *Handbook of food engineering*. USA: CRC Press.
- Dogan, I. S. 2002. Dynamic rheological properties of dough as affected by amylases from various sources. *Nahrung*, 46, 399–403.
- Dobraszczyk, B. J. & Morgenstern, M. P. 2003. Rheology and bread making process. *Journal of Cereal Science*, 38, 229-245.
- Dreese, P. C., Hosney, R. C. 1990. The effect of water-extracted solubles from gluten on its baking and rheological properties. *Cereal Chemistry*, 67, 400-404.
- Dubois M. & Juhué B. 2000. The important of experimental milling for determining rheological parameters as measured by the alveograph. *Cereal Food World*, 45, 385-388.

- Edwards, N.M., Peressini, D., Dexter, J.E. & Mulvaney, S.J. 2001. Viscoelastic properties of durum wheat and common wheat dough of different strength. *Rheological Acta*, 40, 142-153.
- El-Porai, E. S., Salama, A. E., Sharaf, A. M., Hegazy, A. I. 2013. Effect of different milling processes on Egyptian wheat flour properties and pan bread quality. *Annals of Agricultural Sciences*, 58 (1), 51–59.
- Esselink FJ, Van Aalst H, Maliepaard M, Van Duynhoven PM. 2003. Long-term storage effect in frozen dough by spectroscopy and microscopy. *Cereal Chemistry*, 80: 396-403.
- Fizman, S. M., Salvador, A., & Varela, P. 2005. Methodological developments in bread staling assessment: Application to enzyme supplemented brown pan bread. *European Food Research and Technology*, 221(5), 616–623.
- Gant, Z., Angold, R.E., Williams, M.R., Ellis, P.R., Vaughan, J.G. & Galliard, T. 1990. The microstructure and gas retention of bread dough. *Journal of Cereal Science*, 12, 15-24.
- Gélinas, P., McKinnon, C. M. 2004. Effect of flour heating on dough rheology. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 37 (1), 129–131.
- Gélinas, P., Deaudelin, I., & Grenier, M. 1995. Frozen dough: effects of dough shape, water content, and sheeting-molding conditions. *Cereal Foods World*, 40, 124–126.
- Georget, D., Belton M. R. & Peter, S. 2006. Effects of temperature and water content on the secondary structure of wheat gluten studied by FTIR spectroscopy. *American Chemical Society*, Washington, DC, USA.
- Ghiasi, K., Hosney, R. C., Zeleznak, K., & Roger, D. E. 1984. Effect of waxy barley starch and reheating on firmness of bread crumb. *Cereal Chemistry*, 61, 28–29.
- Giannou, V., Kessoglou, V. & Tzia, C., 2003. Quality and safety characteristics of bread made from frozen dough. *Trends in Food Science and Technology*, 14 (3), 99–108.
- Giannou, V. & Tzia, C. 2007. Crioprotective rol of exogenous trehalose in frozen dough products. *Food Bioprocess Technology*, 1, 276-284.

- Giannou, V., Tzia, C., & LeBail, A. 2005. Quality and safety of frozen bakery products. In Sun (Ed.), *Handbook of frozen food processing and packaging*. New York: Marcel Dekker.
- Gormley, R., Walshe, T., Hussey, K. & Butler, F. 2002. The effect of fluctuating vs. constant frozen storage temperature regimes on some quality parameters of selected food products. *LWT – Food Science and Technology*, 35 (2), 190-200.
- Gray, J.A. & Bemiller, J.N. 2003. Bread staling: molecular basis and control. *Food Science and Food Safety*, (2), 1-21.
- Guarda, A., Rosell, C. M., Benedito, C., & Galotto, M. J. 2004. Different hydrocolloids as bread improvers and antistaling agents. *Food Hydrocolloids*, 18, 241–247.
- Gurkin, S. 2002. Hydrocolloids—Ingredients that add flexibility to tortilla processing. *Cereal Foods World*, 47, 41–43.
- Hamdami, N., Monteau, J. Y., & Le Bail, A. 2004. Simulation of coupled heat and mass transfer during freezing of a porous humid matrix. *International Journal of Refrigeration*, 27(6), 595-603.
- Hasenhuettl, G. L. 2005. Fats and fatty oils. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 5th ed., (vol. 12). Wiley, Hoboken, N.J.
- Havet, M., Mankai, M. & Le Bail, A. 2000. Influence of the freezing condition on the baking performances of French frozen dough. *Journal of Food Engineering*, 45, 139-145.
- Hohmann, S., 1997. Shaping up: the response of yeast to osmotic stress. In: Hohmann, S., Mager, W.H. (Eds.), *Yeast Stress Responses*. Springer, New York. pp. 101–146.
- Hsu, R. J. C., Lu, S., Chang, Y.-h., & Chiang, W. 2015. Effects of added water and retrogradation on starch digestibility of cooked rice flours with different amylose content. *Journal of Cereal Science*, 61(0), 1–7.
- Huang, W. N., Kim, Y. S., Li, X. Y. & Rayas-Duarte, P. 2008. Rheofermentometer parameters and bread specific volume of frozen sweet dough influenced by ingredients and dough mixing temperature. *Journal of Cereal Science*, 48, 639–646.

- Inoue, Y., Bushuk, W. 1992. Studies on frozen doughs II. Flour quality requirements for bread production from frozen dough. *Cereal Chemistry*, 69 (4), 423– 428.
- Jacobs, H. & Delcour, J. A. 1998. Hydrothermal Modifications of Granular Starch, with Retention of the Granular Structure: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (8), 2895–2905.
- Jayakody, L., & Hoover, R. 2002. The effect of lintnerization on cereal starchgranules. *Food Research International*, 35 (7), 665–680.
- Jekle, M., Becker, T. 2012. Effects of acidification, sodium chloride, and moisture levels on wheat dough: II. Modeling of bread texture and staling kinetics. *Food Biophysics*, 7(3), 200-208.
- Jekle, M., Mühlberger, K., Becker, T. 2016. Starch and gluten interactions during gelatinization and its functionality in dough like model systems. *Food Hydrocoll*, 54, 196-201.
- John, P. M., van Duynhoven, Geert, M. P., van Kempen, van Sluis, R., Rieger, B., Weegels, P., Lucas, J. van Vliet, & Klaas, N. 2002. Quantitative assessment of gas cell development during the proofing of dough by magnetic resonance imaging and image analysis. *Cereal Chemistry*, 80, 390–395.
- Joye, I. J., Lagrain, B., & Delcour, J. A. 2009. Endogenous redox agents and enzymes that affect protein network formation during breadmaking – A review. *Journal of Cereal Science*, 50 (1), 1–10.
- Kasapis, S., Sablani, S. S., & Biliaderis, C. G. 2000. Dynamic oscillation measurements of starch networks at temperatures above 100 °C. *Carbohydrate Research*, 329, 179–187.
- Keetels, C. J. A M., Oostergetel, G. T. & Van Vliet, T. 1996. Recrystallization of amylopectin in concentrated starch gels. *Food Science and Technology*, 3, 61-64.
- Kenny, S., Wehrle, K., Dennehy, T., & Arendt, E. 1999. Correlations between empirical and fundamental rheology measurements and baking performance of frozen bread dough. *Cereal Chemistry*, 76, 421–425.
- Khatkar, B. S., & Schofield, J. D. 2002. Dynamic rheology of wheat flour dough. I. Non-linear viscoelastic behaviour. *Journal of Science Food and Agricultural*, 82, 827–829.

- Kieffer, R., Wieser, H., Henderson, M.H. & Graveland, A. 1998. Correlations of the bread making performance of wheat flour with rheological measurements on a micro-scale. *Journal of Cereal Science*, 27, 53–60.
- Kim, Y. R., Cornillon, P., Campanella, O. H., Strohshine, S., Lee, S. & Shim, J. Y. 2008. Small and large deformation rheology for hard wheat flour dough as influenced by mixing and resting. *Journal of Food Science*, 73, 1-8.
- Kontogiorgos, V. & Goff, H. D. 2007. Effect of aging and ice structuring proteins on the morphology of frozen hydrated gluten networks. *Biomacromolecules*, 8, 1293–1299.
- Kontogiorgos, V. 2011. Microstructure of hydrated gluten network. *Food Research International*, 44, 2582-2586.
- Kulp, K., Lorenz, K., & Brummer, J. 1995. Frozen and refrigerated doughs and batters. *American Association of Cereal Chemists*, 63-65.
- Lai, L. S., & Kokini, J. L. 1991. Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion (a review). *Biotechnology Progress*, 7, 251–266.
- Lainez, E., Vergara, F., & Bárcenas, M.E. 2008. Quality and microbial stability of partially baked bread during refrigerated storage. *Journal of Food Engineering*, 89, 414-418.
- Le-Bail, A., Dessev, T., Leray, D., Lucas, T., Mariani, S., Mottollese, G. & Jury, V. 2011. Influence of the amount of steaming during baking on the kinetics of heating and on selected quality attributes of crispy rolls. *Journal of Food Engineering*, 105, 379–385.
- Lee, C. C., Mulvaney, S. J. 2003. Dynamic viscoelastic and tensile properties of gluten and glutenin gels of common wheats of different strength. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2317-2327.
- Lee, S. Y., Pyrak-Nolte, L. J., Campanella, O. 2004. Determination of ultrasonic based rheological properties of dough during fermentation. *Journal of Texture Studies*, 35 (1), 33-51.
- Lefebvre, J., 2006. An outline of dough non-linear viscoelastic behavior in shear. *Rheologica Acta*, 45, 525-538.

- Leon, A., Ribotta, P., Ausar, S., Fernandez, C., Landa, C., & Beltramo, D. 2000. Interactions of different carrageenan isoforms and flour components in bread making. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2634–2638.
- Leray, G., Oliete, B., Mezaize, S., Chevallier, S. & Lamballerie, M. 2010. Effects of freezing and frozen storage conditions on the rheological properties of different formulations of non-yeasted wheat and gluten-free bread dough. *Journal of Food Engineering*, 100, 70–76.
- Letang, C., Piau, M. & Verdier, C. 1999. Characterization of wheat flour water doughs. I. Rheometry and microstructure. *Journal of Food Engineering*, 41, 121-132.
- Li, W., Tsiami, A. A., Bollecker, S. S., & Schofield, J. D. 2004. Glutathione and related thiol compounds II. The importance of protein bound glutathione and related protein-bound compounds in gluten proteins. *Journal of Cereal Science*, 39 (2), 213–224.
- Lopes-Almeida, E., Chang, Y. K., Steel, C. J. 2013. Dietary fibre sources in frozen part-baked bread: Influence on technological quality. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 262-270.
- López-Da-Silva, J. A., Santos, D. M. J., Freitas, A., Brites, C. & Gil, A. M. 2007. Rheological and nuclear magnetic resonance (NMR) study of the hydration and heating of undeveloped wheat doughs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5636-5644.
- Lucas, T., Quellec, S., Le Bail, A., & Davenel, A. 2005. Chilling and freezing of partbaked breads. II. Experimental assessment of water phase changes and of structure collapse. *Journal of Food Engineering*, 70, 151-164.
- Lu, W., & Grant, L. 1999. Effects of prolonged storage at freezing temperatures on starch and baking quality of frozen doughs. *Cereal Chemistry*, 76, 656–662.
- Luyten, H., Plijter, J. J. & van Vliet, T. 2004. Crispy/crunchy crust of cellular solids food: a literature review with discussion. *Journal of Texture Studies*, 35, 445–492.
- Magaña-Barajas, E., Ramírez-Wong, B., Torres-Chavez, P. I., Sánchez-Machado, D. I. and López-Cervantes, J. 2014. Changes in protein solubility, fermentative capacity, viscoelasticity and breadmaking of frozen dough. *African Journal of Biotechnology*, 13 (20), 2058-2071.

- Maldo, P. A. & Conti-Silva, A. C. 2014. Texture profile and correlation between sensory and instrumental nutritional quality in wheat. *Indian Journal of plant physiology*, 18 (2), 183-186.
- Ma, S., Li, L., Wang, X., Zheng, X. 2016. Effect of mechanically damaged starch from wheat flour on the quality of frozen dough and steamed bread. *Food Chemistry*, 202, 120-124.
- Mandala, I., Kapetanakou, A., & Kostaropoulos, A. 2008. Physical properties of breads containing hydrocolloids stored at low temperature. II. Effect of freezing. *Food Hydrocolloids*, 22, 1443-1451.
- Martinez-Anaya, M. A., Devesa, A., Andreu, P., Escriva, C. & Collar, C. 1999. Effects of the combination of starters and enzymes in regulating bread quality and shelf life. *Food Science and Technology International*, 5, 263–273.
- Martinez-Anaya, M. A., & Jimnez, T. 1997. Functionality of enzymes that hydrolyse starch and nonstarch polysaccharide in bread making. *Lebensm Unters Forsch*, 205, 569–583.
- Meziani, S., Jasniewski, J. Gaiani, C., Ioannou, I. Muller, J. M., Ghoul, M. & Desobry, S. 2011. Effects of freezing treatments on viscoelastic and structural behavior of frozen sweet dough. *Journal of Food Engineering*, 107, 358–365.
- Meziani, S., Kaci, M., Jacquot, M., Jasniewski, J., Ribotta, P., Muller, M., Ghoul, M. & Desobry, S. 2012. Effect of freezing treatments and yeast amount on sensory and physical properties of sweet bakery products. *Journal of Food Engineering*, 111, 336–342.
- Miller, K. A., Hosene, R. C. 1999. Dynamic rheological properties of wheat starch-gluten doughs. *Cereal Chemistry*, 76 (1), 105-109.
- Mondal, A. & Datta, A. K. 2007. Bread baking-A review. *Journal of Food Engineering*, 86, 465-474.
- Morgan, K. R., Gerrard, J., Every, D., Ross, M. & Gilpin, M. 1997. Staling in starch breads. The effect of antistaling α -amylase. *Starch/Stärke*, 49-54.
- Mousia, G. M. Campbell, S. S. Pandiella, C. & Webb. 2008. Effect of fat level, mixing pressure and temperature on dough expansion capacity during proving. *Journal of Cereal Science*, 46, 139–147.

- Nemeth, L. J., Paulley, F. G., & Preston, K. R. 1996. Effect of ingredients and processing conditions on the frozen bread quality of a Canada Western Red Spring wheat flour during prolonged storage. *Food Research International*, 29, 609–616.
- Newberry, M. P., Phan-Thien, N., Larroque, O. R., Tanner, R. I., & Larsen, N. G. 2002. Dynamic and elongation rheology of yeasted bread doughs. *Cereal Chemistry*, 79, 874–879.
- Nicolas, Y., Smit, R. J. M., Aalst, Hv., Esselink, F. J., Weegels, P. L., & Agterof, W. G. M. 2003. Effect of storage time and temperature on rheological and microstructural properties of gluten. *Cereal Chemistry*, 80 (4), 371–377.
- Noda, S., Hayashi, K., Song, N.H. 2004. Detection and spatial dispersion of B chromosome in the triploid from of *Lilium lancifolium*. *Liliaceae Chromosome Science*, 7, 61-69.
- Novotni, D., Curi, D. Gali, K., Skevin, D., NeCeral, S., Kralji, K., Gabri, D., Jezek, D. 2011. Influence of frozen storage and packaging on oxidative stability and texture of bread produced by different processes. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 643-649.
- Oliver, G. & Brock, C. J., 1997. A rheological study of mechanical dough development and long fermentation processes for cream–cracker dough production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74, 294–300.
- Peng B., Li, Y., Ding, S. & Jun Yang J. 2017. Characterization of textural, rheological, thermal, microstructural, and water mobility in wheat flour dough and bread affected by trehalose. *Food Chemistry*, 233, 369–377.
- Petrofsky K. E & Hosenev R. C. 1995. Rheological properties of dough made with starch and gluten from several cereal sources. *Cereal Chemistry*, 72, 53–58.
- Phan-Thien N. & Safari-Ardi M. 1998. Linear viscoelastic properties of flour–water doughs at different water concentrations, *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 74, 137–150.
- Phimolsiripol, Y. 2009. Shelf life determination of frozen bread dough stored under fluctuating temperature conditions. *Kasetsart Journal – Natural Science*, 43 (1), 187–197.
- Phimolsiripol, Y., Siripatrawan, U., Tulyathan, V. & Cleland, D. 2008. Effects of freezing and temperature fluctuations during frozen storage on frozen dough and bread quality. *Journal of Food Engineering*, 84, 48-56.

- Poitrenaud, B., 2004. Baker's yeast. En: Yui, Y.H., Meunier-Goddik, L., Hansen, Å. S., Nip, W. K., Stanfield, P. S., Toldrá, F. (Eds.), *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*. New York: Marcel Dekker Inc., 695-719.
- Ponce-García, N. 2014. Estudio de las propiedades viscoelásticas del grano, masa y pan de trigo fuerte y suave (*Triticum aestivum L.*) mediante el método de compresión uniaxial bajo pequeña deformación. Tesis de doctorado. Universidad de Sonora, Hermosillo, 168-170.
- Preston, K. R. 2001. Effects of neutral salts of the lyotropic series on the physical dough properties of a Canadian Red spring wheat flour. *Cereal Chemistry*, 66,144-148.
- Ragaei, S., Aal, E. M. A. 2006. Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. *Food Chemistry*. 95, 9–18.
- Rahaman, T., Vasiljevic, T. & Ramchandran, L. 2016. Shear, heat and pH induced conformational changes of wheat gluten – Impact on antigenicity. *Food Chemistry*, 196, 180-188.
- Rao, M. V. N. & Quintero, X. 2005. Rheological properties of solid food. Em M. A. Rao, S. S. H. Rizvi, A. K. Datta. (Eds.), *Engineering properties of foods*. Taylor & Francis, Boca Ratón, FL, USA.
- Ribotta, P. D. & Le Bail, A. 2007. Thermo-physical and thermo-mechanical assessment of partially baked bread during chilling and freezing process. Impact of selected enzymes on crumb contraction to prevent crust flaking. *Journal of Food Engineering*, 78, 913-921.
- Ribotta, P.D., Leon, A.E., Anon, M.C. 2001. Effect of freezing and frozen storage of doughs on bread quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (2), 913–918.
- Ribotta, P. D., León A. E. & Añón, M. C. 2003. Effect of freezing and frozen storage on the gelatinization and retrogradation of amylopectin in dough baked in a differential scanning calorimeter. *Food Research International*, 36, 357–363.
- Ribotta, P. D., Perez, G. T., Leon, A. E., & Anon, M. C. 2004. Effect of emulsifier and guar gum on micro structural, rheological and baking performance of frozen bread dough. *Food Hydrocolloids*, 18, 305–313.
- Rojas, J., Rosell, C., Benedito de Barber, C., Pérez-Manuera, I. & Lluch, M. 2000. The baking process of wheat rolls followed by cryo scanning electron microscopy. *European Food Research Technology*, 212, 57–63.

- Ronda, F., Caballero, P. A., Quilez, J., & Roos, Y. H. 2011. Staling of frozen partly and fully baked breads. Study of the combined effect of amylopectin recrystallization and water content on bread firmness. *Journal of Cereal Science*, 53, 97-103.
- Ronda, F., Quilez, J., Pando, V., Roos, H. 2014. Fermentation time and fiber effects on recrystallization of starch components and staling of bread from frozen part-baked bread. *Journal of Food Engineering*, 131, 116-123.
- Romano, A., Toraldo, G., Cavella, S. & Masi, P. 2007. Description of leavening of bread dough with mathematical modelling. *Journal of Food Engineering*, 83, 142-148.
- Rosell, C. M., Rojas, J. A. & Benedito de Barber, C. 2001. Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids*, 15, 75–81.
- Rosell, C. M., Santos, E. 2010. Impact of fibers on physical characteristics of fresh and staled bake-off bread. *Journal of Food Engineering*, 98, 273-281.
- Rouille, J., LeBail, A., & Courcoux, P. 2000. Influence of formulation and mixing conditions on bread making qualities of French frozen dough. *Journal of food engineering*, 43, 197–203.
- Salvador, T. Sanz, S.M. Fiszman. 2006. Dynamic rheological characteristics of wheat flour–water doughs. Effect of adding NaCl, sucrose and yeast *Food Hydrocolloids*, 20, 780–786.
- Sandeep, S. & Narpinder, S. 2013. Relationship of polymeric proteins and empirical dough rheology with dynamic rheology of dough and gluten from different wheat varieties. *Food Hydrocolloids*, 33 342-348
- Sapirstein, H. D., David, P., Preston, K. R. & Dexter, J. E., 2007. Durum wheat bread making quality: effects of gluten strength, protein composition, semolina particle size and fermentation time. *Journal of Cereal Science*, 45, 150-161.
- Schiraldi, A., Piazza, L., & Riva, M. 1996. Bread staling: A calorimetric approach. *Cereal Chemistry*, 73, 32–39.
- Seguchi, M., Nikaidoo, S. & Morimoto, N., 2003. Centrifuged liquid and breadmaking properties of frozen-and-thawed bread dough. *Cereal Chemistry*, 80, 264–268.
- Selomulyo, V. O. & Zhou, W. 2007. Frozen bread dough: Effects of freezing storage and dough improvers. *Journal of Cereal Science*, 45, 1-17.

- Serna-Saldívar, S. R. 1996. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. México, D. F.: A. G. T. Editor, S. A. 247.
- Singh, S., Singh, N., & MacRitchie, F. 2011. Relationship of polymeric proteins with pasting, gel dynamic- and dough empirical-rheology in different Indian wheat varieties. *Food Hydrocolloids*, 25, 19-24.
- Silvas-García, M. I. 2010. Efecto de la adición de trealosa sobre las propiedades viscoelásticas de masas congeladas y calidad de pan tipo bolillo. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos.
- Silvas-García, M. I., Ramírez-Wong, B., Torres-Chavez, P. I., Carvajal-Millan, E., et al. 2014. Effect of Freezing Rate and Storage Time on Gluten Protein Solubility, and Dough and Bread Properties. *Journal of Food Process Engineering*, 1745-4530.
- Silvas-García, M. I., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P. I., Bello-Pérez, L. A., Carvajal-Millán, E., Barrón-Hoyos, J. M., Rodríguez-García, M. E., Vázquez-Lara, F. & Quintero-Ramos, A. 2016. Effect of freezing rate and storage on the rheological, thermal and structural properties of frozen wheat dough starch. *Starch/Stärke*, 68, 1103–1110.
- Shewry, P. Nigel, G. & Halford. 2001. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of experimental botany*, 53, 947-958.
- Skaf, A., Nassar, G., Lefebvre, F., Nongaillard, B., 2009. A new acoustic technique to monitor bread dough during the fermentation phase. *Journal of Food Engineering*, 93, 365–378.
- Song, Y. & Zheng, Q. 2007. Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 132-138.
- Tao, H., Wang, P., Wu, F., Jin, Z., Xu, X., 2016. Particle size distribution of wheat starch granules in relation to baking properties of frozen dough. *Carbohydrate Polymers*, 137, 147-153.
- Teunissen, A., Dumortier, .F, Gorwa, M. F., Bauer, J., Tanghe, A., Loiez, A., Smet, P., Van Dijck, P. & Thevelein, J. M. 2002. Isolation and characterization of a freeze-tolerant diploid derivative of an industrial baker's yeast strain and its use in frozen doughs. *Applied and Enviromental Microbiology*, 68, (10) 4780-7.

- Tlapale-Valdivia A. D., Chanona-Pérez J. J., Mora-Escobedo R., Farrera-Rebollo R. R., Gutiérrez-López G. F., Calderón-Domínguez G. 2010. Dough and crumb grain changes during mixing and fermentation and their relation with extension properties and bread quality of yeasted sweet dough. *International Journal of Food Science and Technology*, 45 (3), 530-539.
- Toktam, H., Zahra Sheikho I., Ali Mortazavi, M. & Ghiyafe D. 2017. The properties of part baked frozen bread with guar and xanthan Gums. *Food Hydrocolloids*, 71, 252-257.
- Vulicevic, I. R., Abdel-Aal, E-S. M., Mittal, G. S. & Lu, X. 2004. Quality and storage life of par-baked frozen breads. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 37, 205-213.
- Wagner, M. J., Lucas, T., Le Ray, D. & Trystram G. 2007. Water transport in bread during baking. *Journal of Food Engineering*, 78, 1167–1173.
- Wang, X., Choi, S. G., & Kerr, W. L. 2004. Water dynamics in white bread and starch gels as affected by water and gluten content. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 37, 377–384.
- Ward, F. M., & Andon, S. A. 2002. Hydrocolloids as film formers, adhesives, and gelling agents for bakery and cereal products. *Cereal Foods World*, 47, 52–55.
- Wehrle, K. & Arendt, E. K., 1998. Rheological changes in wheat sourdough during controlled and spontaneous fermentation. *Cereal Chemistry*, 75 (6), 882-886.
- Wieser, H. 2007. Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24 (2), 115–119.
- Wolt, M. J., & D'Appolonia, B. L. 1984. Factors involved in the stability of frozen dough. I: the influence of yeast reducing compounds on frozen-dough stability. *Cereal Chemistry*, 61 (3), 209-212.
- Xu, H. N., Huang, W., Jia, C., Kim, Y. & Liu, H. 2008. Evaluation of water holding capacity and breadmaking properties for frozen dough containing ice structuring proteins from winter wheat. *Journal of Cereal Science*, 49, 250–253.
- Yi, J. & Kerr, W. L. 2009. Combined effects of freezing rate, storage temperature and time on bread dough and baking properties. *Food Science and Technology*, 42, 1474–1483.

- Zaidul, I. S. M., Norulaini, N. A. N., Omar, A. K. M., Yamauchi, H., Noda, T. 2007. RVA analysis of mixtures of wheat flour and potato, sweet potato, yam, and cassava starches. *Carbohydrate Polymers*, 69, 784–791.
- Zanoni, B. & Peri, C. 1993. A study of the bread process. I: aphenomenological model. *Journal of Food Engineering*, 19 (4), 389-398.
- Zhang, C., Zhang, H. & Wang, L. 2007. Effect of carrot (*Daucus carota*) antifreeze proteins on the fermentation capacity of frozen dough. *Food Research International*, 40, 763–769.
- Zheng, H., Morgenstern, M. P., Campanella, O. H., Larsen, N. G. 2000. Rheological properties of dough during mechanical dough development. *Journal of Cereal Science*, 32, 293-306.
- Ziobro, R., Korus, J., Witczak, M. & Juszczak, L. 2012. Influence of modified starches on properties of gluten-free dough and bread. Part II: Quality and staling of gluten-free bread. *Food Hydrocolloids*, 29, 68–74.

ANEXO 1

Artículo Publicado

CHAPTER 2

A COMPARISON BETWEEN PART-BAKING BREAD AND FROZEN DOUGH PROCESSES

J. E. GERARDO-RODRIGUEZ,¹ B. RAMIREZ-WONG,²
P. I. TORRES-CHÁVEZ,² A. I. LEDESMA-OSUNA,²
E. CARVAJAL-MILLÁN,³ J. LÓPEZ-CERVANTES,⁴
and M. I. SILVAS-GARCHA²

¹ Graduate Program in Food Science and Technology, University of Sonora, Rosales y Blvd. Luis Encinas S/N. Centro, C.P. 83000, Hermosillo, Sonora, Mexico

² Department of Research and Graduate Studies in Food, University of Sonora, Rosales y Blvd. Luis Encinas S/N. Centro, C.P. 83000, Hermosillo, Sonora, Mexico, E-mail: bramirez@guaymas.uson.mx

³ Research Centes in Food and Development, A.C. (CIAD, A.C.), Carretera a La Victoria Km 0.6, Hermosillo, C.P. 83304, Sonora, Mexico

⁴ Technological Institute of Sonora, Obregyn City, Sonora, Mexico

CONTENTS

Abstract.....	20
2.1 Introduction.....	20
2.2 Frozen Dough Process vs. Part-Baked Bread Process	22
2.3 Changes in Bread Making from Frozen Dough and Part-Baked Bread	22

For Non-Commercial Use

2.4	Gluten in Frozen Dough and Part-Baked Bread	28
2.5	Starch in Frozen Dough and Part-Baked Bread	29
2.6	Arabinoxylans in Frozen Part-Baked Bread	29
2.7	Frozen Part-Baked Bread Moisture Content	30
2.8	Part-Baked Bread Frozen Storage	31
2.9	Additives for Frozen Dough and Part-Baked Bread	32
2.10	Recent Research in Part-Baked Bread	33
2.11	Conclusions	34
	Keywords	34
	References	34

ABSTRACT

The bakery industry uses the following two primary methods for bread preservation: (i) part-baked bread, and (ii) dough freezing. Both have advantages and disadvantages that should be considered by each producer. Frozen dough can be transported more easily due to the stability of the product, while part-baked bread must be handled more carefully and is bulkier, but the final product usually has better quality because the yeast is not damaged during the process. Freezing is typically used in food to preserve freshness, stop enzymatic processes and prevent microbial contamination. The freezing process also damages the food structure. In baked goods, water redistribution during the freezing process affects the protein structure, starch, and arabinoxylans, which can be reflected as a decrease in the volume and increased firmness of the product. Taking into consideration that increased volume and less firmness are desirable for bread quality, part-baked bread is commercially more advisable for both the producer and the consumer. The aim of this review is to compare the processes of part-baked bread and frozen dough to determine the best alternative for preserving bread with a longer shelf life without losing the baking properties of the product and considering the damage caused by freezing and storage on proteins, starch and arabinoxylans.

2.1 INTRODUCTION

The baking industry is required to improve commercial processes to obtain better bread quality that can be consumed fresh for a longer time (Gray and

For Non-Commercial Use

VISCOELASTIC CHARACTERISTICS OF PART-BAKED BREAD UNDER DIFFERENT PROCESS CONDITIONS

CARACTERÍSTICAS VISCOELÁSTICAS DE PAN PRE-HORNEADO BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE PROCESO

Jesús Enrique Gerardo-Rodríguez¹, Benjamín Ramírez-Wong^{1*}, Patricia Isabel Torres-Chávez¹, Ana Irene Ledesma-Osuna¹, Elizabeth Carvajal-Millan², Jaime López-Cervantes³, Francisco Vásquez-Lara² and María Irene Silvas-García¹

¹ Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora 83000, México

² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Hermosillo, Sonora, México

³ Instituto Tecnológico de Sonora, CD Obregón, Sonora, México.

RESUMEN

Los estudios reológicos en los alimentos han mostrado que se afectan por los cambios químicos en procesos de elaboración de alimentos. En panificación, la viscoelasticidad de la masa es afectada por los cambios producidos por el horneado y son reflejados en el volumen del pan. El objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto de la velocidad de congelación, tiempo de pre-horneado y tiempo de almacenamiento en la viscoelasticidad y volumen específico del pan horneado completamente. Se elaboró masa de harina de trigo para evaluaciones viscoelásticas. La masa fue pre-horneada por 0, 3 o 6 min, luego congelada a dos velocidades: lenta (0.15°C/min) o rápida (1.48°C/min) y almacenada por 56 días. Cada 14 días, muestras de pan pre-horneado fueron descongeladas para realizar evaluaciones reológicas que incluyeron: el módulo elástico (G'), módulo viscoso (G'') y tangente delta ($\tan \delta$). Otra parte de las muestras descongeladas fueron horneadas completamente hasta completar 10 minutos y se midió volumen específico del pan. Se utilizó un diseño factorial de 3x2x5 y se llevó a cabo un análisis de variancia con 95% de confiabilidad. El módulo elástico (G') incrementó con el tiempo de pre-horneado. Al incrementar el tiempo de almacenamiento incrementó la G' de la masa y el pan pre-horneado. El tiempo de pre-horneado disminuyó la $\tan \delta$, incrementando la elasticidad en la masa y el pan pre-horneado. Al incrementar el tiempo de pre-horneado disminuyó la temperatura de gelatinización máxima en todos los tiempos de almacenamiento. El volumen específico del pan completamente horneado incrementó con el tiempo de pre-horneado, sin embargo, este parámetro disminuyó con el tiempo de almacenamiento.

Palabras clave: Pan pre-horneado, Tiempo de pre-horneado, Viscoelasticidad, Volumen del pan.

ABSTRACT

Rheological studies in food have shown chemical changes during their preparation process. In bread making, dough viscoelasticity studies reflect the chemical changes produced by the baking process, which in turn modifies bread volume. The aim of this research was to study the effect of the freezing rate, part-baking and storage time on the viscoelas-

tic properties and specific volume of part-baked bread and the specific volume of bread completely baked. We prepared water-flour dough for viscoelastic evaluations. Formulated dough for part-baked bread was baked for 0, 3 or 6 min, frozen at two freezing rates: slow (0.15°C/min) or fast (1.48°C/min) and stored for 56 days. Every 14 days, par-baked bread frozen samples were thawed for rheological evaluations including: elastic moduli (G'), viscous moduli (G'') and $\tan \delta$. Another part of the thawed samples was re-baked (complete baked) to complete 10 min and the specific volume of bread was measured. We used a 3x2x5 factorial design experiment. An analysis of variance was carried out with 95% confidence level. The elastic moduli (G') increased with part-baking time. Part-baking time decreased $\tan \delta$, increasing the elasticity in dough and part-baked bread. Part-baking time decreased gelatinization temperature peak in all frozen storage time. A longer storage time resulted in an increase in the elasticity of dough and part-baked bread. The specific volume of bread increased with part-baking time, however, this parameter decreased with storage time.

Keywords. Part-baked bread, Part-baking time, Viscoelasticity, Bread volume.

INTRODUCTION

Evaluation of the rheological properties is a very useful tool for observing chemical and physical changes in food at the molecular level. Chemical changes are related to changes in rheological behavior (Huang *et al.*, 2008). In baking, extensibility, elasticity, toughness, texture and viscoelasticity are rheological parameters, which directly influence in the specific volume of bread.

The part-baking process is a very common method for bread making. Baking industries save money and benefits in terms of logistics and time. However, there is a reduction of bread volume and quality due to the freezing and storage processes (Rosell *et al.*, 2001). During baking processes, storage temperature, water content, and other process conditions must be considered (Rouille *et al.*, 2000). All of these factors affect the rheological behavior, which involves starch, proteins and water due to that affect the starch gelatinization, reduction and denaturation of proteins and water re-

ANEXO 3

Artículo Enviado

Elsevier Editorial System(tm) for LWT - Food
Science and Technology
Manuscript Draft

Manuscript Number: LWT-D-17-02825

Title: A study of viscoelastic properties of part-baked bread under
different processing and storage conditions

Article Type: Research paper

Keywords: Part-baked bread, Viscoelasticity, Freezing rate, Storage
time, Starch

Corresponding Author: Dr. Benjamin Ramirez-wong, Ph.D.

Corresponding Author's Institution: Universidad de Sonora

First Author: Jesús E Gerardo-Rodriguez, M. Sc.

Order of Authors: Jesús E Gerardo-Rodriguez, M. Sc.; Benjamin Ramirez-
wong, Ph.D.; Patricia I Torres-Chávez, Ph. D.; Ana I Ledesma-Osuna, Ph.
D.; Elizabeth Carvajal-Millán, Ph. D.; Jaime López-Cervantes, Ph. D.;
Francisco Vásquez-Lara, Ph. D.; María I Silvas-García, Ph. D.

Abstract: The aim of this research was to study the effect of the
freezing rate, part-baking time and storage time on the viscoelastic
properties of part-baked bread and bread quality. Dough for part-baked
bread was baked for 0, 3 or 6 min. It was frozen at two freezing rates,
slow (0.15 °C/min) or fast (1.48 °C/min), then stored for 56 days.
Every 14 days, samples were thawed for evaluation. Rheological
evaluations were performed, including viscoelasticity (frequency and
temperature sweep tests) and pasting properties. A factorial experiment
design of 3x2x5 was used, and analysis of variance was carried out at a
95% confidence level. The factors that presented the most significant
effect ($P < 0.01$) were part-baking time, followed by storage time and
freezing rate in this order. Part-baking time decreased $\tan \delta$, increasing
the elasticity in dough and part-baked bread. Part-baking time at 3 and 6
min decreased gelatinization temperature peak in all storage time. The
results of pasting properties study coincided with viscoelasticity tests.
The storage time generated an increase in the elasticity of the dough and
part-baked bread. The fast freezing rate was more beneficial causing less
damage to the gluten network.

Suggested Reviewers: Patricia Rayas-Duarte Ph. D.
Professor-Researcher, Robert M. Kerr Food & Agricultural Products Center,
Oklahoma State University
pat.rayas_duarte@okstate.edu
Dr. Rayas-duarte is well recognized in research of dough rheology, mainly
in viscoelasticity. She has some papers in this matter. She has worked
with frozen doughs.

Pablo D Ribotta Ph. D.
Professor-Researcher, FCQ-UNC-Universidad Nacional de Córdoba, Argentina
pribotta@agro.unc.edu.ar

Dr. Ribotta is well recognized as a researcher in wheat and product such as dough and bread. He has good expertise in food rheology. He has worked in some paperes with frozen doughs, mainly in their rheology.

Rolando A Flores Ph. D.

Dean, College of Agriculture, New Mexico State University
rolflo@nmsu.edu

Dr. Flores is well recognized as a researcher in wheat milling. He knows about mechanical properties of wheat kernels and wheat flour dough.

Hermosillo, Sonora Mexico, september 15, 2017

Dr. Rakesh K. Singh
Editor-in-Chief
LWT-Food Science and Technology

Dear Dr. Sing:

I am sending a research paper related to the evaluation of viscoelastic properties of part-baked bread, in order to be considered for publication in the LWT-Food Science and Technology. The paper title is: **“A study of viscoelastic properties of part-baked bread under different processing and storage conditions ”** and the authors are: Jesús Enrique Gerardo-Rodríguez, Benjamín Ramírez-Wonga*, Patricia Isabel Torres-Chávez, Ana Irene Ledesma-Osuna, Elizabeth Carvajal-Millán, Jaime López-Cervantes, Francisco Vásquez-Lara, and María Irene Silvas -García. We consider that in the part-baking bread process, the oven temperature and the freezing and storage conditions affect the components of the dough, which causes low bread quality. Rheological tests make it possible to detect such problems, which is dealing this paper.

I am sending the original document, 2 tables in Microsoft Word, and 6 figures in individual files. We followed instructions for authors of guide of the LWT-Food Science and Technology. You can send correspondence to the following address:

Dr. Benjamín Ramírez-Wong
Cerrada Catalina Ote., Int. 5,
Colonia Catalinas Residencial
Hermosillo, Sonora

Sincerely,

Dr. Benjamín Ramírez-Wong

Corresponding Author

HIGHLIGHTS

The part-baking time was the main factor affecting the viscoelasticity

Part-baking time decreased $\text{Tan } \delta$, increasing the elasticity in part-baked bread

At 0 min of part-baking time, dough had a peak in G' after 60 °C

Part-baking time at 3 and 6 min decreased gelatinization temperature peak

The G'' was lower with fast freezing rate, which means less gluten weakening

1 **A study of viscoelastic properties of part-baked bread under different processing and**
2 **storage conditions**

3 Jesús Enrique Gerardo-Rodríguez^a, Benjamín Ramírez-Wong^{a,*}, Patricia Isabel Torres-
4 Chávez^a, Ana Irene Ledesma-Osuna^a, Elizabeth Carvajal-Millán^b, Jaime López-Cervantes^c,
5 Francisco Vásquez-Lara^a, and María Irene Silvas-García^a

6 ^a*Programa de Doctorado en Ciencias de los Alimentos. Departamento de Investigación y*
7 *Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora. Blvd. Luis Donaldo Colosio esq. Reforma.*
8 *Edif. 5P. Col. Centro. C.P.83000. Hermosillo, Sonora, México.*

9 ^b*Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Hermosillo, Sonora, México.*

10 ^c*Instituto Tecnológico de Sonora, Cd. Obregón, Sonora, México.*

11

12 *Corresponding author: bramirez@guavmas.uson.mx

13 J. E. Gerardo-Rodríguez: qa.gerardor@gmail.com

14 P. I. Torres-Chávez: pitorres@guavacan.uson.mx

15 A.I. Ledesma-Osuna: anailedesma@gmail.com

16 E. Carvajal-Millán: ecarvajal@ciad.mx

17 J. López-Cervantes: jlopez@itson.edu.mx

18 F. Vásquez-Lara: fvas@ciad.mx

19 M. I. Silvas-García: maryrene_13@hotmail.com

20

21

22

23

24

25

26

Abstract

27 The aim of this research was to study the effect of the freezing rate, part-baking time and
28 storage time on the viscoelastic properties of part-baked bread and bread quality. Dough for
29 part-baked bread was baked for 0, 3 or 6 min. It was frozen at two freezing rates, slow (0.15
30 °C/min) or fast (1.48 °C/min), then stored for 56 days. Every 14 days, samples were
31 thawed for evaluation. Rheological evaluations were performed, including viscoelasticity
32 (frequency and temperature sweep tests) and pasting properties. A factorial experiment
33 design of 3x2x5 was used, and analysis of variance was carried out at a 95% confidence
34 level. The factors that presented the most significant effect ($P < 0.01$) were part-baking
35 time, followed by storage time and freezing rate in this order. Part-baking time decreased
36 $\text{Tan } \delta$, increasing the elasticity in dough and part-baked bread. Part-baking time at 3 and 6
37 min decreased gelatinization temperature peak in all storage time. The results of pasting
38 properties study coincided with viscoelasticity tests. The storage time generated an increase
39 in the elasticity of the dough and part-baked bread. The fast freezing rate was more
40 beneficial causing less damage to the gluten network.

41

42 *Keywords:* Part-baked bread, Freezing rate, Storage time, Starch, Viscoelasticity

43