



# **ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DE NANO FIBRAS DE CELULOSA Y SU APLICACIÓN EN PANIFICACIÓN**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**Curso: 2015/16**

**Alumna: María Teresa Encinas Echevarría**

**Tutor: Pedro A. Caballero Calvo**

**Co-tutora: Felicidad Ronda Balbás**

**Directora: Sandra Pérez Quirce**

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

**E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia)**

**Universidad de Valladolid**

# ÍNDICE

1	Introducción.....	2
2	Objetivos.....	5
3	Materiales y métodos.....	6
3.1	Materiales.....	6
3.2	Métodos.....	6
3.2.1	Propiedades de empastado de geles y masas.....	6
3.2.2	Análisis reológico de geles y masas.....	7
3.2.3	Formulación y elaboración de pan.....	9
3.2.4	Caracterización de panes.....	11
3.2.5	Análisis estadístico.....	12
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
4.1	Propiedades de empastado.....	13
4.2	Reología.....	16
4.2.1	Barrido de frecuencias.....	16
4.2.2	Deformación progresiva y relajación (Creep-recovery).....	17
4.3	Propiedades de los panes.....	19
4.3.1	Volumen específico y pérdida de peso.....	20
4.3.2	Humedad.....	20
4.3.3	Color.....	20
4.3.4	Textura de la miga.....	21
4.3.5	Envejecimiento.....	22
5	Conclusiones.....	23
6	Agradecimientos.....	24
7	Bibliografía.....	24
8	ANEXOS.....	28

## RESUMEN

La fibra dietética es considerada un componente fundamental de la dieta por los beneficios que tiene en la salud humana, por lo que se busca estudiar la incorporación de nuevos tipos de fibra en productos de consumo masivo, como el pan. Además de mejorar las propiedades nutricionales, la adición de fibras en productos de panadería puede alterar las propiedades reológicas de la masa y la calidad final de los productos. En el presente trabajo, se estudia el comportamiento de Nanofibras de Celulosa (NFC) obtenidas de una pasta blanqueada de eucalipto, tanto en agua (en forma de geles), como en masa de harina y agua a diferentes concentraciones (0,5, 1,0 y 1,5%). Así mismo, se las incorpora en panes y se analizan cómo influye en las propiedades morfogeométricas, de textura y el envejecimiento. Tras realizar ensayos RVA, reológicos (barrido de frecuencias y Creep – Recovery) y TPA de textura, se determina que los efectos que tienen las adiciones de NFC son los siguientes:

- Elevan la viscosidad de los geles y de las masas, mientras que disminuyen la temperatura de empastado.
- Elevan la consistencia de los geles y masas. Sin embargo, no tienen efecto sobre la estructura de las mismas, ni sobre la tendencia de la variación de los módulos dinámicos con respecto a la frecuencia. Los ensayos CR muestran que disminuyen la capacitancia elástica instantánea  $J_{0c}$ , lo que significa que incrementa la resistencia de las masas a ser deformadas
- En los panes, no tienen efecto en la pérdida de peso después de la cocción, pero si disminuyen el volumen específico. Del mismo disminuyen el contenido de agua y hacen que el color de la corteza sea significativamente más claro (niveles de  $L^*$  más altos). La dureza de la miga aumenta significativamente y existe un efecto importante entre la adición de fibra y reducción de la vida útil del pan.

## 1 INTRODUCCIÓN

Actualmente, la fibra dietética es considerada un componente fundamental de la dieta debido a su importante rol en el proceso de digestión humana. En el contexto de la promoción de una vida saludable, existe una necesidad creciente de incorporarla en los alimentos básicos (Hasnaouia, Watheleta, & Jiménez-Araujo, 2014).

La Asociación Americana de Químicos de Cereales (AACC) define la fibra dietética como la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y la absorción en el intestino delgado humano, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso (Gray, 2006). Al pasar directamente al intestino grueso, las fibras suavizan la consistencia de las heces fecales, aumentando su peso y la frecuencia de la defecación. Esto contribuye a la prevención del estreñimiento, la diverticulitis y el cáncer. La mejora de la función del intestino grueso también baja la colesterolemia y atenúa la glucemia en la sangre. Además, existe evidencia de que un elevado consumo de fibra dietética conlleva a un menor riesgo de enfermedades de corazón o diabetes tipo 2 y un mejor control de peso.

La EFSA (European Food Safety Authority, por sus siglas en inglés) indica que un consumo diario de 25 gramos de fibra dietética es adecuado en adultos para el normal funcionamiento del intestino grueso (EFSA NDA Panel, 2010). Sin embargo, las recomendaciones de consumo diario de fibra dietética son diferentes a nivel mundial. Las diferencias reflejan las variaciones en la forma como se definen los valores dietéticos de referencia, así como las diferencias mencionadas anteriormente en el análisis y la definición de fibra dietética. El consumo promedio de fibra dietética total va, entre los distintos países, de 12 a 29 g por día.

El pan se encuentra dentro del grupo de alimentos que han constituido la base de la alimentación de todas las civilizaciones debido a sus características nutritivas, su precio accesible y la facilidad de consumo, por lo que se considera un alimento básico (Martín, Miján, Pérez, Redondo, & Sáenz, 2007). En España, se registró que el consumo per cápita de pan el año 2015 fue de aproximadamente 35,15 kg/persona/año (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2016). Al ser así, el pan es un vehículo adecuado para incrementar el consumo de fibra en la dieta.

Además de mejorar las propiedades nutricionales, la adición de fibras en productos de panadería puede alterar las propiedades reológicas de la masa y la calidad final de los

productos. La literatura científica indica que los efectos se reflejan en un incremento tanto de la absorción de agua, como de la tolerancia y tenacidad de la mezcla y en una disminución de la extensibilidad. Por otro lado, se prolonga el tiempo de vida útil debido a que las fibras impiden las pérdidas de agua durante el almacenamiento por su capacidad de retención de agua (Gómez, Ronda, Blanco, Caballero, & Apesteguía, 2003). Otros estudios concluyen en que las fibras insolubles tienen efectos perjudiciales en la manipulación de la masa, en la textura y calidad final del pan y, sobre todo, en la disminución del volumen de la hogaza, a menos que se utilicen aditivos para contrarrestarlo (Wanga, Rosella, & Barbera, 2002). En el caso de fibras solubles, el estudio de Mudgil sobre su adición en panes de harina de trigo, concluye en que mejoran la firmeza del pan y su textura (Mudgil, Barak, & Khatkar, 2016). Sin embargo, hay que considerar que para elaborar estos panes con características similares a las de los controles, se debe añadir mayor cantidad agua.

La fibra consiste en polímeros de carbohidratos y polisacáridos no amiláceos que son los principales componentes de las paredes de las células vegetales. Incluyen a la celulosa, las hemicelulosas, los hemiglucanos y las pectinas, así como otros polisacáridos provenientes de vegetales y algas, como las gomas y los mucílagos. También, se incluyen los polisacáridos de reserva no digeribles, como la inulina y el almidón resistente. Otras entidades, como el Codex Alimentarios, incluyen dentro de la definición a todos carbohidratos análogos, aunque no sean de origen vegetal, es decir, que pueden estar naturalmente en los alimentos, extraerse de materias primas alimentarias o sintetizarse (Gray, 2006).

La celulosa es un tipo de fibra que consiste en un compuesto orgánico polisacárido (polímero) formado por la conexión repetida de entre varios cientos hasta 10 000 unidades de D – Glucosa por molécula. Se caracteriza por no tener sabor ni olor, ser hidrófila, insoluble en agua y en la mayoría de los solventes orgánicos, ser biodegradable, por su quiralidad, por su amplia capacidad química para modificarse y por su versátil formación de morfologías fibrosas semicristalinas. (Klemm, Heublein, Fink, & Bohn, 2005) (Thomas, Viakh, & Mathew, 2013).

La celulosa es el principal componente estructural de la pared celular de la mayoría de las plantas y de varias formas de algas y hongos. Algunas especies de bacterias la segregan en forma de biofilms. Está presente en frutas, verduras y cereales (es el componente

principal de la fibra en el salvado). Forma alrededor de un cuarto de la fibra dietética en los granos y frutas y un tercio en las verduras y frutos secos (Gray, 2006).

Algunos animales, cómo los rumiantes, pueden digerir la celulosa, sin embargo, los humanos no la digieren, por no tener la enzima celulasa que sintetiza los enlaces  $\beta$ -1,4-glucosídicos que unen los bloques de D – Glucosa. Su consumo en grandes cantidades parece no tener ningún efecto y actúa como un agente de carga hidrofílico para las heces, por lo que se la clasifica como una fibra dietética.

La celulosa es el mayor constituyente de muchos alimentos de origen vegetal, por lo tanto, representa una importante porción de la dieta. Si se la incorpora en alimentos puede reducir su valor nutritivo y tener un posible efecto laxante (U.S. Food and Drug Administration, 2015). Se ha estudiado el efecto de su adición en panes libres de gluten elaborados a partir de harina de sorgo a través de ensayos de deformación progresiva y relajación (Creep-recovery) para analizar su influencia en las propiedades viscoelásticas (Onyango, Unbehend, & Lindhauer, 2009). El estudio concluye en que la celulosa afecta disminuyendo la resistencia a la deformación, pero no disminuyen la firmeza de la miga

Las nanofibras de celulosa (NFC) son microfibras liberadas de la pared celular de la celulosa, cuyo diámetro es del orden de nm y el largo es del orden de  $\mu$ m. (Ström, Öhgren, & Ankerfors, 2013). La nanotecnología consiste en procesar y aplicar materiales con tamaños inferiores a la 1000 nm que aporten nuevas propiedades como consecuencia del ensamblaje de nanoestructuras. Su uso en el campo de la industria es nuevo en comparación con las industrias biomédica, manufacturera y de informática. Es por eso que es necesario estudiar su aplicación de manera que permita crear nuevas texturas y aportar mejoras nutricionales (Sanguansri & Augustin, 2006). Sin embargo, también deben hacerse estudios sobre el efecto que puedan tener en su paso por el tránsito gastrointestinal y hacer una evaluación sobre la nanotoxicidad (Chau, Wu, & Yen, 2007)

Las NFC se obtienen en forma de un gel altamente viscoso con un contenido porcentual de sólidos bajo. Este material se desarrolló hace más de 30 años por Turback (U.S.A. Patente nº 4,487,634, 1984) y en ese entonces se investigó su uso como aditivo alimentario en suspensiones, emulsiones de aceite en agua, aderezos, emulsiones cárnicas para la producción de embutidos y natas batidas para postre. Sin embargo, el costo de producción de NFC era muy elevado, por lo tanto, no se comercializó como aditivo alimentario. En

cambio, ahora, se desarrollaron pre-tratamientos que disminuyen los costos de producción y se ha estudiado su aplicación en otros productos alimenticios, cómo es el pan.

Existe una carencia importante de estudios orientados a caracterizar las propiedades funcionales de las nanofibras de celulosa y su efecto sobre diferentes matrices alimentarias. En el caso de los productos horneados, el trabajo realizado por Ström y col. (2013) revela que el efecto de las nanofibras es favorable en el pan recién horneado, haciendo que las hogazas sean más suaves, tengan una mejor apariencia por tener una corteza más lisa, tengan un volumen alto y sean uniformes (Ström, Öhgren, & Ankerfors, 2013). Este equipo de investigadores utilizó NFC con un espesor de 50  $\mu\text{m}$  y un largo superior a 100  $\mu\text{m}$ , que utilizó en concentraciones del 1.35% respecto al contenido de harina en la formulación de los panes. Estos estudios no evalúan el efecto de la adición de NFC sobre las propiedades funcionales de interés en las masas panarias y en los procesos de panificación, como propiedades reológicas de las masas, o las propiedades empastado del almidón.

Actualmente, algunos grupos de investigación se encuentran trabajando en el desarrollo de métodos que permitan obtener NFC abaratando costos de producción. Delgado-Aguilar menciona en su artículo que pueden prepararse distintos tipos de NFC siguiendo diferentes pretratamientos: oxidación a través del catalizador TEMPO en condiciones básicas y neutrales, hidrólisis ácida leve, tratamientos enzimáticos y agitación mecánica (Delgado-Aguilar, y otros, 2015). Se busca formar un grupo carboxilo (-COOH) en el alcohol primario de la cadena de celulosa, para así producir una repulsión electrostática entre las fibras, favoreciendo la entrada de agua. De esta forma, se hinchan y se desestructuran mecánicamente al homogenizarlas a altas presiones (entre 300 y 600 bar). El resultado es una solución de NFC y agua en forma de gel.

## **2 OBJETIVOS**

Llevar a cabo un estudio sistemático de las propiedades funcionales de Nano Fibras de Celulosa obtenidas a partir de pasta de eucalipto. Para este objetivo general, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Efectuar una caracterización de los geles de NCF según su comportamiento reológico y analizar el efecto que tiene su adición sobre las masas panarias a través de ensayos de reología fundamental y estudio de las propiedades de gelificación.

2. Comprobar la funcionalidad de las NFC mediante la adición de una matriz alimentaria, en este caso pan. Para ello, estudiar los efectos que tiene en su textura y en sus propiedades morfogeométricas.

### **3 MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Materiales**

Las NFC utilizadas fueron proporcionadas por el grupo LEPAMAP del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Girona. Se obtuvieron a partir de una pasta blanqueada de eucalipto, aplicando una técnica química de oxidación con hipoclorito de sodio, utilizando el reactivo TEMPO como catalizador (Delgado-Aguilar, y otros, 2015) (Isogai, Saito, & Fukuzumi, 2011). La superficie específica de las NFC fue de 160,2 m<sup>2</sup>/g y el diámetro medio fue de 15.6 nm. Los geles tenían un contenido de NFC del 1,95% y del 1,75% (p/p).

Para la elaboración de masas y panes se utilizó harina acondicionada de trigo de gran fuerza suministrada por Emilio Esteban (Valladolid, España). El contenido de proteína es del 14,41% y de gluten seco del 12,46%. La humedad se midió utilizando el método aprobado 44-19 (AACC, 1995) que se describe posteriormente y se determinó un valor del 10,58%. Otros ingredientes fueron sal común obtenida del mercado local, mejorante panario, levadura de panadería seca instantánea “European” (Estambul, Turquía), y agua de la red local.

#### **3.2 Métodos**

##### **3.2.1 Propiedades de empastado de geles y masas**

Se midieron las propiedades empastado, tanto de soluciones de NFC en agua que formaron geles, como en pastas de harina con adiciones de NFC en distintas proporciones. Para ello se utilizó el equipo Rapid ViscoTM Analyser (RVA) (Newport Scientific Pty Ltd., Australia) siguiendo el método estándar 61.02.01 que consiste en calentar una pasta hasta alcanzar los 50°C y mantenerla durante 1 minuto, luego incrementar la temperatura a 95 °C y mantenerla durante 2,5 minutos y finalmente enfriarla a 50 °C para mantenerla durante 2 minutos (AACC, 2012). La velocidad de rotación de la pala es de 960 rpm durante los primeros 10 segundos para homogenizar la muestra y luego se mantiene a 160 rpm durante todo el test. El equipo mide la viscosidad de la mezcla.



Los geles de NFC se prepararon a partir de una solución concentrada de 1,95% de NFC que se diluyó en agua destilada hasta alcanzar las concentraciones deseadas de 0,5%, 1,0% y 1,5%. Se preparó cada una agitando las mezclas con la ayuda de un equipo Ultra Turrax® IKA T25 digital a 10 000 rpm durante 5 minutos. Se pesaron 28,0 g de cada solución en un vaso de aluminio cilíndrico y se procedió con la medición.

En el caso de las pastas, se siguió el método oficial que indica que deben añadirse 2,89 g de harina a 25,11 g de agua. Para añadir las NFC, se consideró que estas venían en una solución en agua (en forma de gel) a una concentración del 1,95%. Entonces se diluyeron en agua destilada hasta alcanzar la cantidad necesaria para trabajar a concentraciones de 0,5%, 1,0%, y 1,5% sobre la base de harina seca, ajustando la proporción agua/harina que requiere el ensayo. La dilución se realizó siguiendo el procedimiento anterior. Todas las muestras se analizaron por duplicado. Se obtuvieron curvas que relacionan la viscosidad (cP) con el tiempo (s), a partir de la cual se consiguen los parámetros de viscosidad y temperatura de empastado, viscosidad máxima, punto de estabilidad, viscosidad de caída, punto de inicio de la retrogradación y viscosidad final.

### **3.2.2 Análisis reológico de geles y masas**

Se estudió el comportamiento reológico estacionaria de soluciones de NFC y agua en forma de geles, y de las masas elaboradas a partir de harina, agua y NFC utilizando un reómetro de esfuerzo controlado RheoStress 1 (Thermo Haake C25P, Karlsruhe, Germany). Las mediciones se efectuaron a través del programa informático Rheowin Pro Job Manager. Se utilizaron sensores de platos de titanio paralelos de 60 mm de diámetro (pp 60 Ti) con superficie rugosa para evitar el deslizamiento de las muestras durante las pruebas.

Los geles se prepararon de la misma forma que para los análisis RVA. Las masas se prepararon en las siguientes proporciones por cada 100 g harina:

- 75% de agua
- 1,8% de sal
- 0,5 a 1,5% de NFC

Se consideró el agua que aportan las soluciones de NFC en su estado original (al 1,95 y 1,75%) y la humedad de la harina, restando estos valores de la cantidad total de agua requerida en la formulación. Las soluciones en forma de gel se diluyeron en el agua hasta alcanzar las concentraciones de 0,5%, 1,0% y 1,5% de NFC sobre el contenido de harina seca. El procedimiento de dilución de los geles fue el mismo que el que se utilizó para las

pruebas RVA. El procedimiento de preparación de masas es el mismo del que se utilizó para la elaboración de masas de pan y se describe en el siguiente apartado. La diferencia es que, para obtener lecturas estables, no se incluye levadura ni mejorante en la formulación.

La masa se separó en trozos que se aplanaron sobre una placa de vidrio con rieles, utilizando un rodillo que se movía 10 veces a lo largo de los rieles. Todas las superficies de los instrumentos estaban cubiertas de aceite para evitar que la masa se pegue. Las láminas obtenidas tenían un grosor aproximado de 5 mm. Con la ayuda de un sacabocados, se cortaron discos de masa de 55 mm de diámetro que se colocaron ordenadamente sobre bandejas aceitadas, para luego introducirlos en una cámara que mantenía la temperatura a 20 °C. Las muestras se colocaron entre los platos para realizar los ensayos.

Durante los ensayos, se mantuvo una temperatura de operación constante de 20 °C y la distancia entre los platos para la medición de geles fue de 1 mm y de 3 mm en el caso de las masas. Para evitar la pérdida de humedad, después de ajustar el espacio entre platos, se retiró el exceso de gel o de masa inmediatamente utilizando una espátula. Tanto para masas como para geles, las partes que quedaron en contacto directo con el aire, se cubrieron con aceite de vaselina (Panreac Química SA, Castellar del Vallés, España).

Se realizaron mediciones de geles a concentraciones del 0,5%, 1,0% y 1,5% de NFC respecto al contenido de agua. Por otro lado, se midieron masas hidratadas al 75% con concentraciones de NFC del 0,5%, 1,0% y 1,5% respecto al contenido de harina y una masa control sin contenido de NFC. Cada prueba se realizó por duplicado. En primer lugar, luego de dejar reposar la masa durante 8,33 min, se hizo un barrido de esfuerzos de 0 a 100 Pa a una frecuencia constante de 1 Hz para determinar la zona viscoelástica lineal (LVR). Con los datos obtenidos, se estableció que el esfuerzo necesario a aplicar para el barrido de frecuencias posterior sería de 1 Pa para los geles y de 50 Pa para las masas. Posteriormente, se realizaron ensayos de barrido de frecuencias entre 1 y 10 Hz. Los datos obtenidos se ajustaron a una ecuación de la ley de la potencia, de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$G'(\omega) = G'_1 \cdot \omega^a$	$G''(\omega) = G''_1 \cdot \omega^b$	$\tan\delta(\omega) = \left(\frac{G''(\omega)}{G'(\omega)}\right) = \left(\frac{G''_1}{G'_1}\right) \cdot \omega^{(b-a)} = (\tan\delta) \cdot \omega^c$
------------------------------------	--------------------------------------	---

donde  $G'_1$  representa el módulo elástico,  $G''_2$  representa el módulo viscoso y  $\tan\delta$  representa la pérdida a la frecuencia constante. Los exponentes a, b y c reflejan la dependencia de los módulos y la tangente de pérdida con la variación de frecuencia.

Finalmente, se realizaron ensayos de deformación progresiva y relajación (creep – recovery), aplicando un esfuerzo constante (50 Pa para las masas y 1 Pa para los geles) durante 2,5 min, para luego retirarlo y analizar la recuperación durante 5,0 min. Se obtuvieron los datos de la deformación en función del esfuerzo en términos de la capacitancia elástica (J), los cuales se ajustaron al modelo de cuatro parámetros de Burger:

$$J_c(t) = J_0 + J_1 \left( 1 - \exp\left(\frac{-t}{\lambda_1}\right) \right) + \frac{t}{\mu_0}$$

donde  $J_c$  es la capacitancia elástica en el ensayo de deformación progresiva,  $J_0$  es la capacitancia elástica instantánea,  $J_1$  es la capacitancia viscoelástica,  $\lambda_1$  es el tiempo de retardo y  $\mu_0$  es la viscosidad en estado estacionario (Bockstaelea, Leyna, Eeckhouta, & Dewettinckb, 2011). La ecuación de Burger utilizada para ajustar la etapa de recuperación está en términos de  $J_r$  (capacitancia de recuperación) y se describe a continuación:

$$J_r(t) = J_{max} - J_{r0} + J_{r1} \left( 1 - \exp\left(\frac{-t}{\lambda_1}\right) \right)$$

Donde  $J_{max}$  es la capacitancia máxima obtenida al final del ensayo de deformación,  $J_{r0}$  es la capacitancia de la recuperación elástica instantánea,  $J_{r1}$  es la recuperación elástica retardada y  $\lambda_1$  es el tiempo de retardo.

### 3.2.3 Formulación y elaboración de pan

El pan se elaboró utilizando los materiales las siguientes proporciones por cada 100 g de harina:

- 2,0 % de levadura
- 1,8% de sal
- 0,5% de mejorante panario.

Como referencia, se elaboró una masa control con un contenido de agua del 75% sobre el peso de la harina seca. Se utilizaron concentraciones de fibra del 0,5%, 1,0% y 1,5% sobre el peso de la harina seca, que se obtuvieron de disoluciones de 1,75 o 1,95% de NFC, corrigiendo la hidratación de la masa en función de la adición de la disolución de NFC bajo

las mismas consideraciones de la elaboración de masas para el estudio reológico. Las soluciones fueron pre-mezcladas con el agua siguiendo el procedimiento descrito para la preparación de geles para ensayos RVA.

Al observarse que la adición de NFC alteraba la consistencia y las propiedades reológicas de las masas, se buscó igualar las características de la masa control adicionando mayor proporción de agua y realizando mediciones de barrido de frecuencia a 1 Hz, usando los puntos de medición de  $G^*$  (módulo complejo). Este procedimiento se tomó de trabajos previos similares (Hager, y otros, 2011) (Ronda, Pérez-Quirce, Angioloni, & Collar, 2013). Luego de varias iteraciones, se determinó que, para alcanzar una humedad equivalente, los niveles de adición de agua serían los siguientes:

**Tabla 1.** Humedad de las masas empleadas para panificación

<b>Concentración de NFC</b>	<b>Humedad</b>
0,0% (Control)	75%
0,5%	82%
1,0%	88%
1,5%	93%

Para la elaboración del pan se pesaron los ingredientes en una balanza Cobos. Los ingredientes secos se pusieron en un bol para mezclarlos en la amasadora KitchenAid modelo 5KPM% (USA) con una varilla en forma de gancho durante 1 minuto a velocidad 2, para luego añadir la solución NFC – agua en forma de gel (preparada como se describe en el apartado anterior) durante el siguiente minuto. Se buscaba que la suma de la temperatura ambiente del obrador, la de la harina y la de la solución estuviera entre los 52 y 56 °C ajustando la temperatura de la disolución, de manera que la masa alcanzara una temperatura final entre 24 y 26 °C al final del proceso de amasado. Durante los siguientes 8 minutos se subió la velocidad a 4, haciendo una pausa a los 4 minutos para limpiar la masa que quedaba adherida a las paredes del bol. La masa obtenida se dividió en piezas de 200 g que se colocaron en moldes de aluminio.

Los moldes se introdujeron en una fermentadora de la marca Sveba Dahlen (Fristad, Sweden) a 28 °C y 80% de humedad durante 60 minutos. Luego, pasaron a un horno eléctrico giratorio de la marca Sveba Dahlen (Fristad, Sweden) a 170 °C durante 20 minutos. Se obtuvieron tres piezas de cada elaboración, dos para determinar los parámetros de calidad del pan el día 1 y una para analizar su envejecimiento el día 8, como se explicará

posteriormente. Luego de alcanzar la temperatura ambiente, los panes se envasaron en bolsas plásticas.

### **3.2.4 Caracterización de panes**

#### **3.2.4.1 Aspecto visual**

Para poder evaluar el aspecto visual, se tomaron fotografías de las hogazas de pan enteras (cara superior y lateral) y de sus rebanadas, utilizando una cámara fotográfica digital de la marca Canon, modelo PowerShot SX410 IS. Estas fotografías se hicieron sobre un fondo negro cuadriculado, utilizando iluminación artificial de luz blanca.

#### **3.2.4.2 Peso**

Los panes horneados se pesaron en una balanza marca COBOS (Barcelona, España). Se calculó la diferencia entre el peso de la masa cruda (200 g) y la pieza cocida, para luego dividirla por el peso de la masa y así determinar la pérdida de peso porcentual.

#### **3.2.4.3 Volumen**

El volumen de las piezas de pan enteras se midió el día 1 por duplicado utilizando un analizador de volumen VolScan (Stable MycroSystems, UK). Los datos se obtuvieron utilizando el software VolScan. Con el cociente entre este dato en ml y el de la masa de pan en g, se determinó el volumen específico.

#### **3.2.4.4 Color**

Se realizó una evaluación colorimétrica tanto en la corteza, cómo en la miga de los panes utilizando un espectrofotómetro CN-508i de marca Minolta (Osaka, Japón), con un iluminador estándar D65 y un observador estándar 2°. Se tomaron cuatro medidas en la corteza y cuatro en la miga de cada elaboración. Los resultados se expresaron en el espacio de color CIE L\*a\*b\*, a partir de los cuales se calculó el tono (h) y la saturación o croma (C\*) para transformarlos al espacio de color L\* C\* h.

#### **3.2.4.5 Textura**

Para medir la textura, se usó un texturómetro universal TA-TX2 de Stable Microsystems (Surrey, UK) con una sonda cilíndrica de aluminio de 20 mm (P20) de diámetro y el software Texture Expert. Se efectuó un ensayo de doble compresión Texture Profile Analysis (TPA) sobre rebanadas de pan de 20 mm de espesor tomadas del centro de los panes, para

someterlas a una deformación del 50% a una velocidad de 1mm/s, con un tiempo de espera de 30 s entre compresiones. Los parámetros obtenidos fueron la dureza (fuerza máxima del primer ciclo de compresión), elasticidad (tasa a la cual un material deformado regresa a su condición inicial después de quitar la fuerza dominante), cohesividad (deformación sufrida antes de romperse), masticabilidad y resiliencia (capacidad de recuperación instantánea). El análisis se hizo al día 1 y el día 8 para evaluar el envejecimiento.

#### **3.2.4.6 Humedad**

Se midió la humedad, tanto de la harina seca, como de la miga de los panes a día 1 siguiendo el método aprobado 44-19 (AACC, 1995) que consiste en desecar 2 g de muestra en una estufa de ventilación forzada (serie FED 115, WTB Binder, Tuttlingen Germany) dentro de capsulas metálicas durante una hora. Posteriormente, se deja la cápsula en un desecador con sílica gel hasta que alcance la temperatura ambiente y se pesa la muestra seca. La diferencia de pesos refleja el contenido de agua que permite calcular la humedad.

#### **3.2.4.7 Envejecimiento**

Los panes que serían sometidos a mediciones de textura el día 8 se conservaron a 4 °C en bolsas de congelación. Se sacaron del frigorífico una hora antes de realizar los ensayos para que puedan alcanzar la temperatura ambiente.

#### **3.2.5 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos se analizaron utilizando el programa estadístico Statgraphics Centurion XVII – X64 (StatPoint Technologies Inc, Warrenton, USA). Se realizó un ajuste de los ensayos de deformación – relajación (creep recovery) haciendo una regresión no lineal mediante el método de estimación de Marquardt. Los datos obtenidos de las pruebas repetidas de este ajuste, los del RVA (de geles y de masas), los de textura, propiedades morfogeométricas y color se procesaron mediante un análisis de varianza ANOVA y la prueba Fisher LSD para describir las diferencias significativas entre las medias a un nivel de confianza del 95%.

### **4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Para determinar el comportamiento de las NFC a diferentes niveles de concentración (0,5, 1,0 y 1,5%), tanto en agua (formando geles), como en pastas y masas de harina y agua, se consideraron las propiedades de empastado y las propiedades reológicas. Para analizar el efecto que tienen en la elaboración de panes, se estudiaron las propiedades

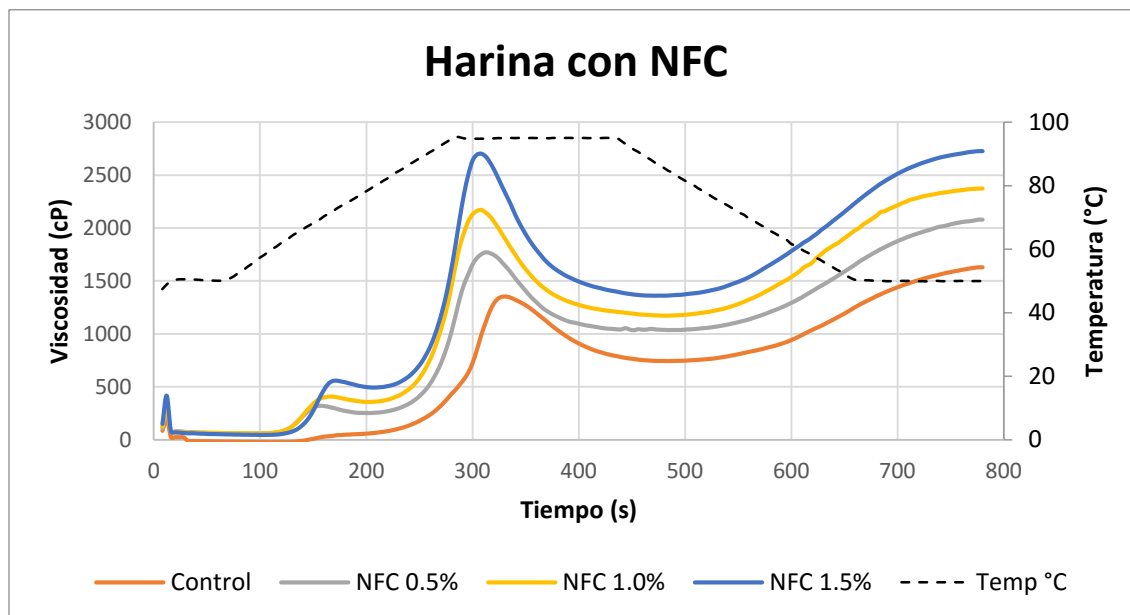
morfogeométricas, de textura y el envejecimiento de los mismos, tanto de panes control, como de panes con concentraciones del 0,5, 1,0 y 1,5% NFC (% p/p sobre harina seca). Las dosis de agua empleadas para la elaboración se adaptaron a cada concentración de NFC como se describió en el apartado 3.2.3.

Luego de realizar análisis estadísticos, los resultados se discuten a continuación, considerando los casos más relevantes en los que los parámetros hayan sido afectados significativamente ( $p < 0.05$ ) por la adición de NFC. Se empleó el método ANOVA, que permitió comparar las medias de las variables dependientes para los diferentes niveles de concentración de NFC. Luego se realizó una prueba de rangos múltiples para definir cuáles medias son diferentes de otras.

#### **4.1 Propiedades de empastado de los geles de NFC y las masas panarias**

Tras someter los geles de diferentes concentraciones de NFC en agua a un análisis de comportamiento de empastado, se determinó que éstos no muestran un perfil de viscosidades característico cuando son sometidos al ciclo de calentamiento/enfriamiento propio del ensayo RVA. La viscosidad de los geles evoluciona ligeramente con las variaciones de tiempo y temperatura, como se puede ver en la gráfica de la figura del anexo A, evidenciándose que éstos no experimentan un nuevo proceso de gelatinización ni retrogradación durante el ensayo. De este análisis, únicamente se puede concluir que la viscosidad de los geles se incrementa con la concentración. En el caso de un incremento de 0,5 a 1,0%, la viscosidad promedio aumentó un 70% (de 391 a 1297 cP), mientras que cuando la concentración se incrementó de 1,0 a 1,5%, la viscosidad promedio aumentó un 38% (de 1297 a 2085 cP).

En el caso de muestras de harina aditivadas con NFC en las concentraciones indicadas, si se puede ver un comportamiento de empastado que es afectado por los incrementos de concentración, como se ve en las curvas de la Figura 1. Comparando con la pasta control, la adición de NFC supuso un incremento en la viscosidad de las muestras.



**Figura 1.** Perfiles de viscosidad de harina de trigo con adiciones progresivas de NFC.

A partir de estos perfiles de viscosidad, se determinaron los valores de los parámetros de viscosidad presentados en la tabla a continuación, tomando como referencia los cambios en la pendiente.

**Tabla 1.** Parámetros de viscosidad de pastas de harina de trigo con adición de diferentes porcentajes de NFC determinados por el análisis de propiedades de empastado del RVA.

NFC (%)	Temperatura empastado (°C)	Viscosidad empastado (cP)	Viscosidad máxima (cP)	Estabilidad (cP)	Viscosidad de caída (cP)	Retrogradación (cP)	Viscosidad final (cP)
0.00	86.93 c	143.50 a	1356.00 a	611.50 a	744.50 a	885.00 a	1629.50 a
0.50	84.68 b	298.50 b	1771.50 b	744.00 b	1027.50 b	1052.50 b	2080.00 b
1.00	83.20 a	392.00 c	2172.00 c	999.00 c	1173.00 c	1201.00 c	2374.00 c
1.50	84.08 b	526.50 d	2703.00 d	1343.00 d	1360.00 d	1367.00 d	2727.00 d
E. E.	0.16	11.21	13.17	25.87	32.14	21.12	19.06

Valores con letras distintas en una misma columna indican que presentan diferencias estadísticas significativas entre las medias ( $p < 0,05$ ).

La temperatura de empastado es aquella en la que se inicia el proceso de gelatinización del almidón. Su valor disminuye significativamente al añadir NFC, llegando a bajar hasta 4 °C cuando se adiciona la máxima concentración. Cuando los gránulos de almidón se calientan por encima de este punto, absorben gran cantidad de agua y la viscosidad sube (Graham & Ross, 2007). A esta temperatura se mide la viscosidad de empastado (cP), que se incrementa en un 25% aproximadamente cada vez que se adiciona 0,5% de NFC. Del mismo modo, todos los datos de viscosidad obtenidos presentan diferencias significativas que van aumentando en relación directa con la adición de NFC.



El dato de la viscosidad máxima (cP) refleja la capacidad de la mezcla para retener agua. La viscosidad de caída (cP) es el valor mínimo de la viscosidad antes de empezar la retrogradación. La estabilidad (cP) es el tramo de temperatura constante entre la viscosidad máxima y la de caída, representándose con la diferencia entre estos dos valores. Cuando la mezcla se enfría y termina la medición, se obtiene el dato de la viscosidad final (cP), al que se le resta la viscosidad de caída para obtener el dato de la viscosidad de retrogradación. En este tramo se lleva a cabo un reordenamiento de las moléculas de almidón, en especial de las de amilosa, lo que conlleva a la formación de un gel (Rodríguez-Sandoval, Sandoval-Aldana, & Fernández-Quintero, 2007).

Cabe resaltar que, previamente al punto del que se toma la viscosidad máxima, en las pastas a las que se añade NFC, se genera un pequeño pico con un ascenso y descenso de la temperatura. Para determinar el origen de este pico, se planteó la hipótesis de que podía deberse a que el gel de NFC no estuviese mezclándose adecuadamente con la harina. Entonces, se hicieron variaciones en el método de preparación de la mezcla, agitándola previamente con el equipo Ultra Turrax. Con el nuevo método se logró eliminar este pico, pero surgieron variaciones en la relación entre el incremento de concentración de NFC y el incremento de viscosidad, atribuible a la incorporación de aire en la mezcla durante el agitado y a la decantación de la harina durante la preparación de la muestra. Entonces, se optó por mantener el método sin agitación previa, pero se tuvo especial cuidado en el cálculo de la viscosidad máxima para evitar confundirla con este punto, ignorando los cambios de pendiente del pico previo.

En todos los parámetros obtenidos se observa un salto entre los valores del control y la muestra de harina aditivada con NFC con 0,5% de NFC, pero después la variación es directamente proporcional al porcentaje de NFC añadido, mostrando una relación de dependencia. Los datos obtenidos nos muestran que, al elevar la concentración, la viscosidad de la muestra de harina aditivada con NFC sube y por lo tanto la velocidad de retrogradación también. El incremento de la viscosidad y la disminución de la temperatura de empastado al añadir fibras es un comportamiento común que se refleja en trabajos como los de Yildiza y col. (2013) que analiza las propiedades de empastado en sistemas de almidón de trigo con fibra dietética (Yildiza, y otros, 2013) y el de Sun y col. (2013) (Sun, Wu, Bu, & Xiong, 2015) que analiza el efecto de la cantidad y el tamaño de partícula de fibras de trigo en geles de almidón. Se atribuye este incremento a la capacidad de retención

de líquidos que tienen las fibras, que hace que se hinchen capturando el agua del medio de los gránulos de almidón

Sin embargo, el efecto de la adición de otras fuentes de fibra fue contrario cuando se emplearon harinas diferentes de la harina de trigo, ya que trabajos como el de Ronda (Ronda, Pérez-Quirce, Angioloni, & Collar, 2013) demuestra que al añadir fibras dietéticas viscosas (geles de hidroxipropilmetilcelulosa HPMC y  $\beta$ -glucanos de cebada) en harina de arroz se tiene un efecto contrario, es decir, disminuyeron los valores de la viscosidad. En este caso las fibras, en especial las que derivan de la celulosa, compiten con el almidón por el agua y tienen ventaja por tener mayor afinidad. La reducción de agua disponible en el sistema hace que los gránulos de almidón no puedan absorberla y, por lo tanto, bajan la viscosidad máxima alcanzada por las pastas.

## **4.2 Reología de los geles de NFC y las masas panarias**

Se realizaron ensayos reológicos fundamentales a geles de NFC de diferentes concentraciones para estudiar sus propiedades viscoelásticas. Por otro lado, se aplicaron los mismos ensayos con diferentes parámetros a masas de pan con NFC, considerando que existen estudios previos que demuestran una buena correlación entre estas propiedades reológicas y los parámetros de calidad del pan (Dobraszczyka & Morgensternb, 2003).

### **4.2.1 Barrido de frecuencias**

El coeficiente  $G_1'$  representa el módulo elástico y el  $G_1''$ , el viscoso, ambos a una frecuencia de 1 Hz. Los exponentes a y b cuantifican la variación de los módulos dinámicos con la frecuencia. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2.

En todos los casos, el módulo elástico  $G'$  es mayor al viscoso  $G''$ , por lo tanto, los valores de  $\tan\delta$  son menores a 1. Esto que revela los geles y las masas tienen un comportamiento viscoelástico, en el que predomina la componente elástica sobre la viscosa, como se reportó previamente en otros trabajos (Dobraszczyka & Morgensternb, 2003) (Hager, y otros, 2011).

**Tabla 2. Valores medios y grupos homogéneos obtenidos para los parámetros reológicos de barrido de frecuencias, correspondientes geles de NFC y a masas elaboradas con NFC**

Factor	G <sub>1</sub> ' (Pa)	a (10 <sup>-3</sup> )	G <sub>1</sub> '' (Pa)	b (10 <sup>-3</sup> )	tan δ <sub>1</sub> (10 <sup>-3</sup> )	c (10 <sup>-3</sup> )
<b>GELES</b>						
0,5% NFC	38.9 a	65 ab	5.7 a	147.5 c	145.4 c	82.3 c
1,0% NFC	244 b	59 a	25.4 b	75.7 a	104.5 a	17.0 a
1,5% NFC	688 c	72 b	83.4 c	126.1 b	121.4 b	53.8 b
E. E.	22.1	2.7	2.9	2.9	0.7	2.9
<b>MASAS</b>						
Control	8017 a	182.4 a	2404 a	230 a	299.9 a	47.7 a
0,5% NFC	17470 b	183.0 ab	5061 b	226 a	289.7 a	43.4 a
1,0% NFC	19580 bc	191.3 b	5893 bc	222 a	301.2 a	30.4 a
1,5% NFC	21925 c	186.5 ab	6628 c	226 a	302.2 a	39.8 a
E. E.	899	2.2	263	4.7	3.5	5.8

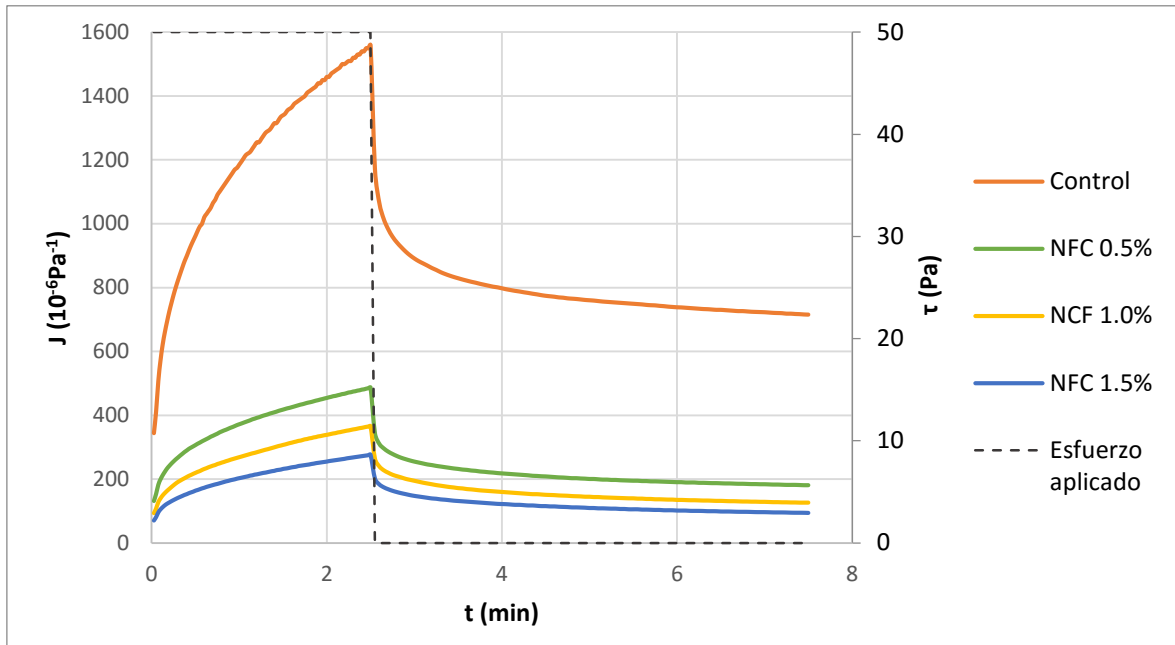
Valores con letras distintas en una misma columna indican que presentan diferencias estadísticas significativas entre las medias (p<0,05). NFC: Nanofibras de Celulosa. E. E. Error Estandard

En el caso de los geles, los módulos se elevan significativamente cuando el contenido de NFC sube, lo que significa que la consistencia de los geles es mayor. Los exponentes a, b y c no presentan un comportamiento relacionado con el incremento de la concentración, por lo tanto, no tiene un efecto predecible sobre la dependencia con la frecuencia.

En el caso de las masas, ambos módulos revelaron dependencia con la adición de NFC y mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ellas, a excepción de la adición de 1,0% de NFC en masas que pertenece al mismo grupo de su predecesor y su sucesor. Sin embargo, no existen diferencias significativas en la relación entre los módulos (tanδ) ni entre los exponentes a, b y c. Entonces, la adición de NFC eleva la consistencia de las masas, pero no tiene un efecto sobre la estructura de las mismas, ni sobre la tendencia de la variación de los módulos dinámicos con respecto a la frecuencia.

#### 4.2.2 Deformación progresiva y relajación (Creep-recovery)

Tras realizar un ensayo de deformación progresiva y relajación en la región viscoelástica de los geles y masas con NFC, se obtuvieron curvas con un comportamiento típico, es decir, que tiene un comportamiento intermedio entre un fluido viscoso y un sólido elástico. Debido a que los ensayos se realizaron en la zona viscoelástica lineal, las curvas obtenidas en la zona de deformación y de relajación siguieron un total paralelismo y los parámetros de ajuste de ambos segmentos resultaron totalmente equivalentes (Figura 1).



**Figura 1.** Perfiles de viscosidad propios de los ensayos creep-recovery para masas de harina de trigo con adiciones progresivas de NFC.

Se realizaron ajustes a las ecuaciones de Burger mencionadas en el apartado 3.2.2 (Análisis reológico de geles y masas) al ser los más adecuados para la predicción de los datos experimentales obtenidos. Los valores de los coeficientes  $R^2$  de los ajustes fueron superiores a 0.91 en el caso de la etapa de deformación progresiva y superiores a 0.95 en la etapa de relajación. Los datos obtenidos se resumen en la tabla a continuación:

**Tabla 3. Valores medios y grupos homogéneos para los parámetros obtenidos en los ensayos de deformación progresiva y de relajación, correspondientes a geles de NFC y a masas aditivadas con NFC**

Factor	Deformación progresiva			Relajación			
	$J_{0c}$ ( $10^{-6} Pa^{-1}$ )	$J_{1c}$ ( $10^6 Pa^{-1}$ )	$\lambda_c$ ( $10^6 s$ )	$\mu_{0c}$ ( $10^{-3}$ )	$J_{r0}$ ( $10^{-4} Pa^{-1}$ )	$J_{r1}$ ( $Pa^{-1}$ )	$\lambda_r$ ( $10^{-4} s$ )
<b>GELES</b>							
0,5% NFC	662980 c	0,00003 a	-0,000008 b	201,6 a	4546,4 c	0,71 a	10367 c
1,0% NFC	23297 b	364 b	-112 a	307,5 b	189,9 b	0,009 b	7140 b
1,5% NFC	4780 a	364 b	-112 a	307,6 b	38,3 a	0,001 c	3210 a
E. E.	2150	0,0000002	0,04	3,3	06,6	0,0008	579
<b>MASAS</b>							
Control	733 a	362 a	-111 a	306,9 a	4,80 d	0,78 c	4,8 a
0,5% NFC	241 b	361 a	-110 ab	305,0 a	1,76 c	1,05 b	1,8 b
1,0% NFC	167 c	363 a	-111 ab	305,8 b	1,25 b	1,11 b	1,3 b
1,5% NFC	125 d	364 a	-112 b	307,6 b	0,94 a	1,20 a	0,9 c
E. E.	5	1,3	0,5	0,2	0,045	0,02	0,05

Valores con letras distintas en una misma columna indican que presentan diferencias estadísticas significativas entre las medias ( $p < 0,05$ ).

En el caso de los geles, los parámetros obtenidos presentan un salto muy elevado entre la concentración del 0,5 y las demás. Por ejemplo, la disminución de  $J_{0c}$  entre el gel con 0,5% de NFC y el del 1,0% es del orden del 2845%. En el caso de las masas, existe un salto significativo entre la masa control y las que contiene NFC. Posteriormente, la disminución de los valores es proporcional al porcentaje de NFC añadido.

En general, se ve que los valores de los parámetros del ensayo CR disminuyen conforme se incrementa la dosis de fibras. La disminución de la capacitancia elástica instantánea  $J_{0c}$  significa que incrementa la resistencia de las masas a ser deformadas. Ronda et al (2013) obtuvo resultados similares con la adición de fibras dietéticas en masas sin gluten (Ronda, Pérez-Quirce, Angioloni, & Collar, 2013). Se atribuye este efecto a que la celulosa puede contribuir a la rigidez de las moléculas en las soluciones, mientras que los bloques adyacentes a los enlaces  $\beta$ -1,4-glucosídicos pueden tener una tendencia a la agregación entre cadenas, promoviendo un descenso en la solubilidad a través de los fuertes lazos de hidrógeno que se presentan a lo largo de las porciones de celodextrina (Lazaridou & Biliaderis, 2007). El resto de los parámetros en la etapa de deformación progresiva no presentan diferencias, lo que significa que las NFC no repercuten en la respuesta elástica. Los parámetros de recuperación presentan mayores disminuciones conforme se añade mayor cantidad de fibra. Comparando con el control,  $J_{r0}$  disminuye 2,7 veces tras la primera adición de fibra y hasta 5,1 veces cuando se llega al 1,5%. Nuevamente, la rigidez de las moléculas se vería afectada por las NFC, afectando en la recuperación de las masas a su forma original

En su estudio de la adición de otro tipo de fibras (procedentes de avena, manzana, guisantes y limón) a masas de harina de trigo, (Yildiza, y otros, 2013) hicieron estudios reológicos que ajustaron a los modelos de Maxwell y Peleg. Tras la interpretación de las constantes de deformación progresiva y relajación calculadas, llegan a la conclusión de que al añadir fibras se cambian las propiedades reológicas de manera significativa según su concentración. Sin embargo, en su caso, los parámetros aumentan proporcionalmente a la adición de fibra.

### **4.3 Propiedades de los panes**

En la Tabla 3 se muestran los valores medios y grupos homogéneos del volumen específico, pérdida de peso, humedad y color obtenidos tras la medición de panes con NFC. Los resultados se discuten a continuación.

### 4.3.1 Volumen específico y pérdida de peso

**Tabla 4.** Datos obtenidos de la medición de volumen específico, pérdida de peso, humedad y color de panes con NFC.

%NFC	Pérdida peso (%)	Vol, específico (mL/g)	Humedad (%)	Corteza			Miga		
				L*	h	C*	L*	h	C*
0	14,23 a	2,84 a	46,57 a	59,87 a	69,52 a	32,06 c	68,45 bc	87,41 a	12,17 a
0,5	14,15 a	2,58 b	49,44 b	65,31 b	74,07 b	24,95 a	69,47 c	88,51 b	11,91 a
1	14,15 a	2,36 c	50,14 c	65,80 b	77,85 c	31,02 bc	66,04 a	91,46 c	15,47 b
1,5	14,48 a	2,23 d	51,83 c	64,59 b	78,36 c	29,92 b	67,59 bc	91,55 c	15,16 b
E. S.	0,20	0,03	0,12	0,50	0,66	0,46	0,48	0,29	0,20

Valores con letras distintas en una misma columna indican que presentan diferencias estadísticas significativas entre las medias ( $p < 0,05$ ). NFC: Nanofibras de Celulos. L\*: luminosidad, h:tono, C\*:croma.

El porcentaje de pérdida de peso no varía con la adición de NFC, pero sí el volumen específico que presenta una reducción significativa. La reducción de tamaño también puede verse en las fotografías de la figura 2. Este comportamiento ya se observó en trabajos previos (Gómez, Ronda, Blanco, Caballero, & Apesteguía, 2003) (Pomeranz, Shogren, Finney, & Bechtel, 1977) y se atribuye a la interacción entre las fibras y el gluten, que conllevan a un descenso en la capacidad de retención del gas producido durante la fermentación. Antes se mencionó que existe una disminución de la capacitancia elástica instantánea  $J_{0c}$  que hace que se incremente la resistencia de las masas a ser deformadas. Este puede impedir la expansión y ser otro motivo para la disminución. El volumen desciende en mayor proporción a medida que el contenido de NFC aumenta.

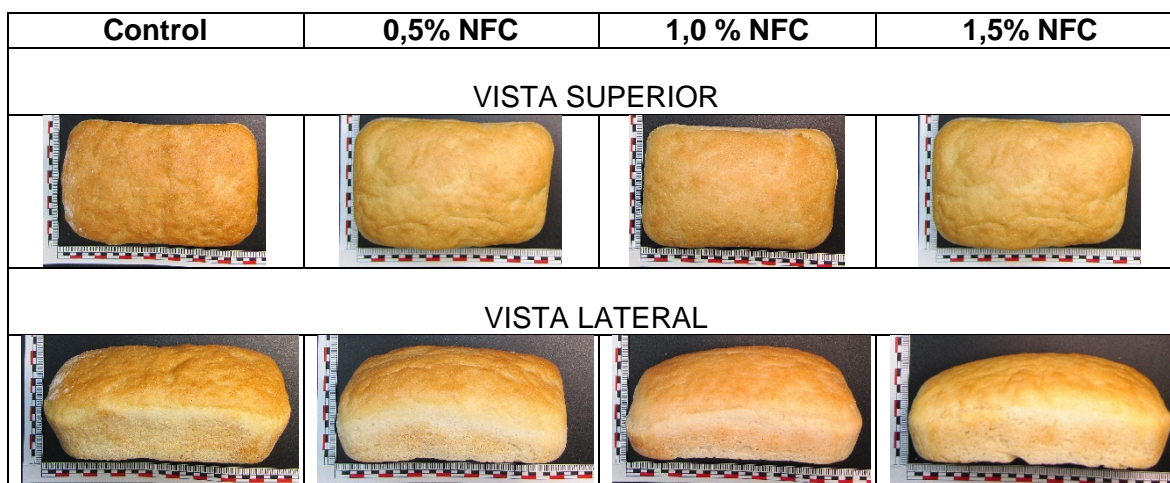
### 4.3.2 Humedad

Los panes con NFC presentaron un contenido de agua significativamente mayor al del control, incrementando su valor hasta en un 5,26% para el caso del pan con 1,5% de NFC. Este incremento puede deberse a los niveles de agua incorporados para alcanzar la humedad equivalente, pero no muestra una correlación lineal con esta adición.

### 4.3.3 Color

Como se vé en la Tabla 4, el color de la corteza es significativamente más claro (niveles de L\* más altos) al añadir NFC a los panes control, pero no aumenta con el incremento de concentración de las fibras. El valor de C\* (saturación o croma) no tiene relación con la adición de NFC, mientras que h (tono) si aumenta progresiva y significativamente, tanto en la miga, como en la corteza. Esto significa que el color va cambiando de un tono rojizo (menor a 90) a un tono amarillento (cercano a 90). Los resultados pueden apreciarse visualmente en las fotografías de la Figura 2.

En el estudio realizado por (Gómez, Ronda, Blanco, Caballero, & Apesteguía, 2003) la adición de fibras no tiene un efecto significativo en el color de los panes. El efecto que tienen las NFC puede deberse a que las fibras debiliten las reacciones de Maillard (Hager, y otros, 2011) y al incremento en el contenido de agua que queda retenida por las mismas fibras (Ronda, Perez-Quirce, Lazaridou, & Billiaderis, 2015). En el caso de la miga, los niveles de L\* no parecen tener una correlación con el porcentaje de NFC. Generalmente, el color de la miga mantiene el color de los ingredientes, ya que ésta no alcanza las temperaturas que alcanza la corteza.



**Figura 2. Fotografías de los panes**

#### 4.3.4 Textura de la miga

Siguiendo el método explicado en el 3.2.4.5 (Textura), se midieron las propiedades texturales de los panes con diferentes dosis de NFC a las 24 horas de su elaboración. Los resultados pueden verse en la Tabla 5, a continuación, y de manera gráfica en la Figura 3, representada en las barras rojas.

**Tabla 5:** Propiedades texturales de los panes.

%NFC	Dureza día 1 (N)	Dureza día 8 (N)	Incremento de la dureza (N)	Elasticidad (N)	Cohesividad	Masticabilidad	Resiliencia
0	9,37 a	12,85 a	3,48 a	0,79 a	0,42 a	3,07 a	0,19 a
0,5	12,21 b	19,68 b	7,48 b	0,84 b	0,43 a	4,37 b	0,20 bc
1	11,98 b	20,74 b	8,77 b	0,87 bc	0,43 a	4,46 b	0,20 bc
1,5	14,79 c	23,26 c	8,48 b	0,90 c	0,45 a	5,99 c	0,22 c
E. S.	0,26	0,43	0,43	0,010	0,010	0,13	0,010

Valores con letras distintas en una misma columna indican que presentan diferencias estadísticas significativas entre las medias ( $p < 0,05$ ).

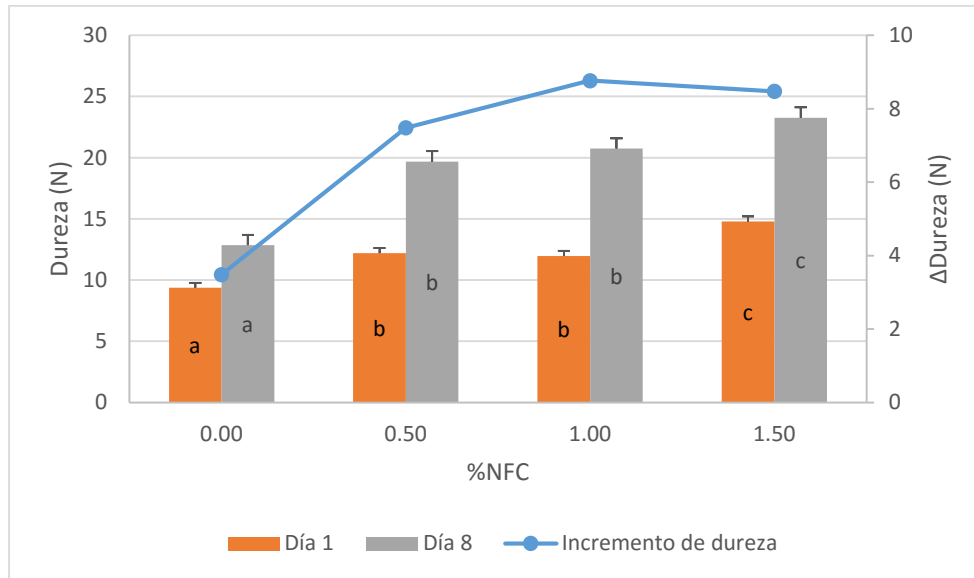
La dureza de la miga aumenta significativamente con la adición de NFC, hasta en un 37% respecto al control en el caso del pan con dosis máxima. Eso puede estar relacionado con la disminución de volumen y el mantenimiento del peso comentado anteriormente, lo que supone un menor desarrollo de los alveolos y un menor volumen de aire en el interior, haciendo que el pan sea más compacto y presente una mayor dureza. El efecto fue estudiado por otros autores (Gómez, Ronda, Blanco, Caballero, & Apesteguía, 2003) y se atribuye a un engrosamiento de las paredes que rodean las burbujas de aire en la corteza.

La elasticidad se eleva significativamente con la adición de NFC, lo que significa que la tasa a la cual el material regresa a su forma original es mayor con la adición de NFC. La resiliencia y la cohesividad son propiedades deseables que también se relacionan con la capacidad instantánea y retardada de la miga de recuperarse luego del ciclo de compresión (Ronda, Perez-Quirce, Lazaridou, & Billiaderis, 2015). Pese a que la cohesividad no tiene variación, la resiliencia si presenta un incremento significativo con la adición progresiva de NFC. La masticabilidad está directamente relacionada con los anteriores parámetros (se calcula multiplicando la dureza x cohesividad x elasticidad), por lo que se esperaba el comportamiento similar que tiene.

#### **4.3.5 Envejecimiento**

Para determinar qué efecto tienen las NFC en el envejecimiento de los panes, se tomaron mediciones de la dureza a los 8 días de la elaboración y se compararon con las tomadas el día 1. Los resultados pueden verse de manera gráfica en la figura que se muestra a continuación, donde las barras representan los valores promedio obtenidos, señalando las letras de los grupos a los que pertenecen y los límites dentro de los cuales se encuentran los valores. El nivel de concentración 0.0% representa al pan control. También se graficó una línea en el eje secundario que muestra la diferencia de las durezas obtenidas tras 1 y 8 días después de su elaboración ( $\Delta D$ ). Los datos se encuentran en la Tabla 5.





**Figura 3. Evolución de la dureza de la miga del pan en función del tiempo de almacenamiento y la concentración de NFC**

Se observa una relación proporcional entre el incremento en la dureza de la miga al añadir NFC en mayores cantidades, demostrando que existe un efecto importante entre la adición de fibra y la vida útil del pan. La adición de nanofibras conlleva un envejecimiento más importante de la miga del pan, aumentando en un 53% en relación al control, en el caso de las muestras aditivadas con un 0,5% (p/p en base harina). Posteriormente, no existen diferencias significativas entre los valores del envejecimiento a diferentes concentraciones de NFC.

Este comportamiento es contrario al que se espera por la adición de fibras a panes, como el observado por (Gómez, Ronda, Blanco, Caballero, & Apesteguía, 2003), quienes demostraron que la incorporación de diferentes tipos de fibras, retrasa notablemente el endurecimiento de los panes durante el almacenamiento. Este efecto se relaciona con la capacidad de retención de agua que tienen las fibras, lo que impide pérdidas de agua durante el almacenamiento. También se relaciona con la posible interacción entre las fibras y el almidón, lo que genera un retraso en la retrogradación del almidón. Entonces, se determina que las NFC no tienen estos comportamientos típicos de una fibra.

## 5 CONCLUSIONES

Del estudio de geles de NFC a diferentes concentraciones y de su incorporación en masas de harina de trigo, se concluyó que éstas tienen diversos efectos en las propiedades tecnológicas. El estudio RVA demostró que elevan la viscosidad de los geles y de las

masas, mientras que disminuyen la temperatura de empastado significativamente. El estudio reológico demostró que elevan la consistencia de los geles y masas, pero no tienen efecto sobre su estructura de las mismas. Los ensayos CR muestran que incrementa la resistencia de las masas a ser deformadas. Incremento en la resistencia a la deformación de los geles de almidón de trigo, como se reveló a través de pruebas RVA, de reología y TPA.

La adición de fibras en productos de panadería alteró las propiedades reológicas de la masa y, por lo tanto, la calidad final de los productos. Mostraron un efecto en la reducción del volumen específico y del contenido de agua. También influyeron en el color, presentando un color de la corteza sea significativamente más claro. La dureza de la miga aumenta y se reduce el tiempo de vida útil del pan.

Estos resultados se pueden atribuir a la posible interacción entre las fibras y el almidón, lo que genera una aceleración en la retrogradación del almidón que se puede ver en el incremento de la viscosidad de retrogradación y en la disminución de la vida útil de los panes. La fibra compite con el almidón por el agua debido a su carácter hidrofílico, posibilitando un incremento significativo de los fenómenos de retrogradación del almidón y, con ello, de la dureza de la miga durante el almacenamiento del producto.

## **6 AGRADECIMIENTOS**

Se agradece al grupo LEPAMAP del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Girona por su aportación de las muestras de NFC. Un agradecimiento especial a Sandra Pérez-Quirce por su asesoría y colaboración durante todo el proyecto.

## **7 BIBLIOGRAFÍA**

AACC. (1995). *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists* (9na ed.). Minneapolis, USA: American Association of Cereal Chemists.

AACC. (2012). *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists, methods, 61.02.01 (RVA), 88-04 (WHC)* (11va ed.). Minnesota: American Association of Cereal Chemists.

Bockstaele, F. V., Leyna, I. D., Eeckhout, M., & Dewettinck, K. (2011). Non-linear creep-recovery measurements as a tool for evaluating the viscoelastic properties of wheat flour dough. *Journal of Food Engineering*, 50-59.

Estudio de las propiedades funcionales de nano fibras de celulosa y su aplicación en panificación

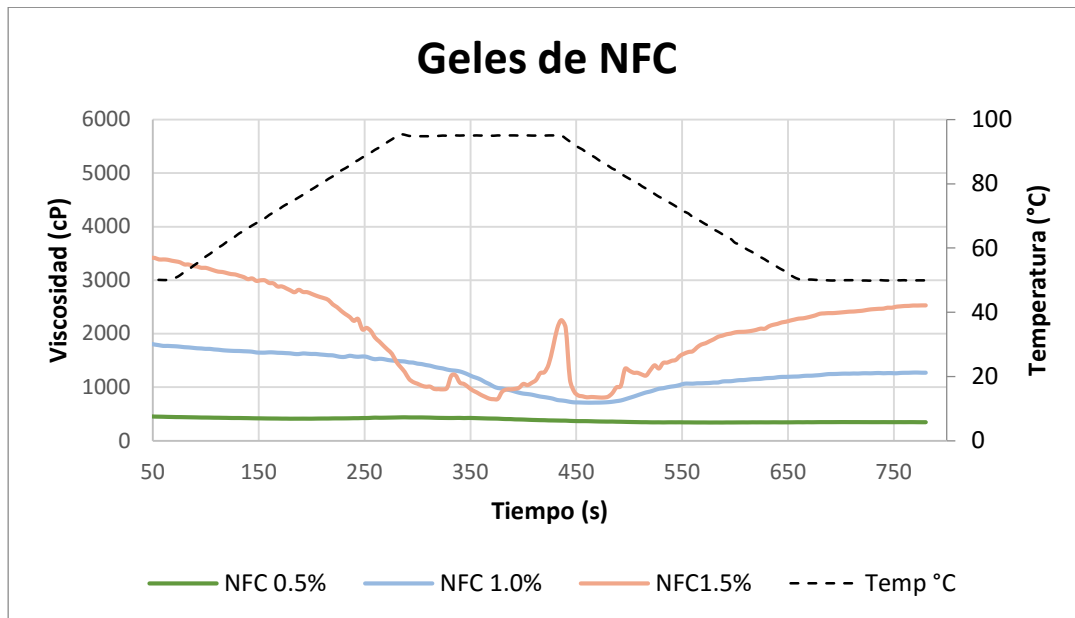
- Chau, C.-F., Wu, S.-H., & Yen, G.-C. (2007). The development of regulations for food nanotechnology. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 269–280.
- Delgado-Aguilar, M., González, I., Tarrés, Q., Alcalà, M., Pèlach, M. A., & Mutjé, P. (2015). Approaching a Low-Cost Production of Cellulose Nanofibers for Papermaking Applications. *BioResources*, 5345-5355.
- Dobraszczyka, B., & Morgensternb, M. (2003). Rheology and the breadmaking process. *Journal of Cereal Science*, 38(3), 229–245.
- EFSA NDA Panel. (2010). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, 8(3), 77. Recuperado el Mayo de 2016, de <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1462>
- Gómez, M., Ronda, F., Blanco, C. A., Caballero, P. A., & Apesteguía, A. (2003). Effect of dietary fibre on dough rheology and bread quality. *European Food Research and Technology*, 51-56.
- Graham, B. C., & Ross, A. (2007). *The RVA handbook*. AACCI international.
- Gray, J. (2006). *Fibra dietética. Definición, análisis, fisiología y salud*. Bruselas: International Life Sciences Institute Europe.
- Hager, A.-S., Ryan, L. A., Schwab, C., Gänzle, M. G., O'Doherty, J. V., & Arendt, E. K. (2011). Influence of the soluble fibres inulin and oat  $\beta$ -glucan on quality of dough and bread. *European Food Research and Technology*, 232(3), 405–413.
- Hasnaouia, N., Watheleta, B., & Jiménez-Araujob, A. (2014). Valorization of pomegranate peel from 12 cultivars: Dietary fibre composition, antioxidant capacity and functional properties. *Food Chemistry*, 160, 196–203.
- Isogai, A., Saito, T., & Fukuzumi, H. (2011). TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale*, 3, 71-85.
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H., & Bohn, A. (2005). Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition*, 44, 3358-3393.
- Lazaridou, A., & Biliaderis, C. G. (2007). Molecular aspects of cereal beta-glucan functionality: physical properties, technological applications and physiological effects. *Journal of Cereal Science*, 46(2), 101-118.

- Martín, M. E., Miján, B., Pérez, A., Redondo, A. M., & Sáenz, P. (2007). *Pan y Cereales*. Madrid: Dirección General de Salud Pública y Alimentación.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. (28 de Mayo de 2016). *Informe del consumo de alimentación en España 2015*. Obtenido de [http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informeconsumoalimentacion2015\\_tcm7-422694.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informeconsumoalimentacion2015_tcm7-422694.pdf)
- Mudgil, D., Barak, S., & Khatkar, B. (2016). Optimization of bread firmness, specific loaf volume and sensory acceptability of bread with soluble fiber and different water levels. *Journal Of Cereal Science*, 186-191.
- Onyango, C., Unbehend, G., & Lindhauer, M. G. (2009). Effect of cellulose-derivatives and emulsifiers on creep-recovery and crumb properties of gluten-free bread prepared from sorghum and gelatinised cassava starch. *Food Research International*, 949-955.
- Pomeranz, Y., Shogren, M., Finney, K., & Bechtel, D. (1977). Fiber in breadmaking-effects on functional properties. *Cereal Chemistry*, 54(25).
- Rodríguez-Sandoval, E., Sandoval-Aldana, A., & Fernández-Quintero, A. (2007). Evaluación de la retrogradación del almidón en harina de yuca precocida. *Revista Colombiana de Química*, 36, 13-30.
- Ronda, F., Pérez-Quirce, S., Angioloni, A., & Collar, C. (2013). Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behaviour of gluten-free formulated rice doughs: A fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids*, 252-262.
- Ronda, F., Perez-Quirce, S., Lazaridou, A., & Billiaderis, C. (2015). Effect of barley and oat  $\beta$ -glucan concentrates on gluten-free rice-based doughs and bread characteristics. *Food Hydrocolloids*, 48, 197-207.
- Sanguansri, P., & Augustin, M. A. (2006). Nanoscale materials development - a food industry perspective. *Food Science & Technology*, 17, 547 - 556.
- Ström, G., Öhgren, C., & Ankerfors, M. (2013). Nanocellulose as an additive in foodstuff. *Innventia Report*, 1-28.

- Sun, Q., Wu, M., Bu, X., & Xiong, L. (2015). Effect of the Amount and Particle Size of Wheat Fiber on the Physicochemical Properties and Gel Morphology of Starches. *PLoS ONE*, 6(10), 1-11.
- Thomas, S., Viakh, P., & Mathew, A. (2013). *Advances in Natural Polymers, Composites and Nanocomposites*. Berlin: Springer.
- Turbak, A. F., Snyder, F., & Sandberg, K. R. (1984). *U.S.A. Patente n° 4,487,634*.
- U.S. Food and Drug Administration*. (25 de Octubre de 2015). Recuperado el 21 de Mayo de 2016, de <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/SCOGS/ucm260473.htm>
- Wanga, J., Rosella, C. M., & Barbera, C. B. (Noviembre de 2002). Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*, 79(2), 221-226.
- Yildiza, Ö., Yurta, B., Baştürka, A., Tokera, Ö. S., Yilmazb, M. T., Karamanc, S., & Dağlıoğlud, O. (2013). Pasting properties, texture profile and stress–relaxation behavior of wheat starch/dietary fiber systems. *Food Research International*, 53, 278–290.

## ANEXOS

### A. Curvas de viscosidad de geles de NFC



**Figura 4.** Perfiles de viscosidad de soluciones de agua con adiciones progresivas de NFC en forma de geles.