

**Der Ohannesian, Martín**

## **Efecto de la incorporación de frutos rojos deshidratados con alta capacidad antioxidante sobre los principales atributos de calidad de pan**

---

**Tesis para la obtención del título de posgrado de  
Magíster en Tecnología de los Alimentos**

Directora: Bustos Shmidt, Mariela Cecilia

Documento disponible para su consulta y descarga en Biblioteca Digital - Producción Académica, repositorio institucional de la Universidad Católica de Córdoba, gestionado por el Sistema de Bibliotecas de la UCC.



Esta obra está bajo licencia 2.5 de Creative Commons Argentina.  
Atribución-No comercial-Sin obras derivadas 2.5





**UNIVERSIDAD  
CATÓLICA DE CÓRDOBA**

---

*Universidad Jesuita*

**Facultad de Ciencias Químicas**

**Efecto de la incorporación de frutos rojos  
deshidratados con alta capacidad antioxidante  
sobre los principales atributos de calidad de pan**

**Tesis de la Facultad de Ciencias Químicas  
de la Universidad Católica de Córdoba conforme  
a los requisitos para obtener el título de Magíster en Tecnología  
de los Alimentos**

**por**

**Martín Der Ohannesian**

**Córdoba  
2017**

### **Director de Trabajo Final**

Dra. Mariela C. Bustos Shmidt  
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba (ICYTAC)  
CONICET – UNC

### **Co-Director de Trabajo Final**

Dra. María Eugenia Steffolani  
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba (ICYTAC)  
CONICET – UNC

### **Comisión de Trabajo Final**

Dr. Pablo D. Ribotta  
Instituto Superior de Investigación, Desarrollo y Servicios en Alimentos  
(ISIDSA – UNC)

Dr. Nelson R. Grosso  
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba (ICYTAC)  
CONICET – UNC

Dra. Yanina E. Rossi  
Centro de Investigaciones y Transferencia de Villa María (CIT Villa María)  
CONICET – UNVM

# ÍNDICE GENERAL

Lista de Abreviaturas.....	vii
Índice de Figuras .....	viii
Índice de Tablas.....	x
Resumen .....	xi
Summary.....	xii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Frutos rojos en Argentina .....	2
Compuestos de interés en frutos rojos .....	3
Deshidratación de frutos rojos .....	7
Importancia del pan en la alimentación .....	8
Harina de trigo .....	8
Proteínas.....	10
Almidón .....	13
Polisacáridos no almidonosos .....	14
Lípidos .....	15
Enzimas.....	16
Elaboración de pan.....	16
Incorporación de mora y frambuesa deshidratada en pan de molde.....	18
<b>OBJETIVOS</b> .....	20
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	22
<b>MATERIALES</b> .....	23
<b>MÉTODOS</b> .....	23
Caracterización química de mora y frambuesa .....	23
Deshidratación de mora y frambuesa .....	24
Estudio del efecto de diferentes métodos y condiciones de deshidratación sobre el color de mora y frambuesa .....	25
Estudio del efecto de diferentes métodos y condiciones de deshidratación sobre el contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante de mora y frambuesa .....	26
Elaboración de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa.....	29

Estudio del efecto de la incorporación de mora y frambuesa sobre la calidad tecnológica de pan de molde .....	31
Estudio del efecto de la incorporación de mora y frambuesa sobre la velocidad de endurecimiento de la miga de pan de molde durante el almacenamiento .....	34
Estudio de la evolución del contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante durante la elaboración y almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa .....	34
Análisis estadístico .....	35
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>36</b>
<b>CAPÍTULO 1: Obtención y caracterización de mora y frambuesa deshidratada.....</b>	<b>37</b>
Caracterización química de mora y frambuesa .....	38
Evaluación del efecto de diferentes métodos y condiciones de deshidratación sobre el color de mora y frambuesa .....	38
Evaluación del efecto de diferentes métodos y condiciones de deshidratación sobre el contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante de mora y frambuesa .....	40
<b>CAPÍTULO 2: Efecto de la incorporación de mora y frambuesa deshidratada sobre la calidad tecnológica de pan de molde.....</b>	<b>43</b>
Volumen específico.....	44
Perfil de textura .....	45
Color de la miga y la corteza.....	48
Estructura de la miga.....	51
Estudio del efecto de la incorporación de mora y frambuesa sobre la velocidad de endurecimiento de pan de molde durante el almacenamiento.....	54
<b>CAPÍTULO 3: Efecto del procesamiento y almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa deshidratada sobre el contenido de polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante .....</b>	<b>56</b>
Evolución del contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante durante la elaboración de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa.....	57
Evolución del contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante durante el almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa.....	64
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>68</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>72</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

A: Etapa de amasado

AACC: American Association Cereal Chemists

ABTS: [ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)]

AOAC: Association of Analytical Communities

C: Etapa de cocción

F1: Etapa de inicio de fermentación

F130: Frambuesa deshidratada en estufa a 130 °C

F2: Etapa intermedia de fermentación

F3: Etapa final de fermentación

F50: Frambuesa deshidratada en estufa a 50 °C

F65: Frambuesa deshidratada en estufa a 65 °C

FF: Frambuesa fresca

FL: Frambuesa liofilizada

FRAP: Poder antioxidante reductor del hierro

HMW-GS: Subunidades de glutenina de alta masa molecular

I: Etapa de mezclado de harina con fruta

IQF: Congelación Rápida Individualizada

LMW-GS: Subunidades de glutenina de baja masa molecular

M130: Mora deshidratada en estufa a 130 °C

M50: Mora deshidratada en estufa a 50 °C

M65: Mora deshidratada en estufa a 65 °C

MF: Mora fresca

ML: Mora liofilizada

PC: Pan control

PF65: Pan con 5 % de polvo de frambuesas secadas en estufa a 65° C

PFF: Pan con 5% (en base seca) de pulpa de moras frambuesas frescas

PFL: Pan con 5% de polvo de moras frambuesas liofilizadas

PM65: Pan con 5% de polvo de moras Boysen secadas en estufa a 65° C

PMF: Pan con 5% (en base seca) de pulpa de moras Boysen frescas

PML: Pan con 5% de polvo de moras Boysen liofilizadas

SAGyP: Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

TPTZ: 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina

USDA: United States Department of Agriculture

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Zonas de producción de los frutos rojos de mayor relevancia en Argentina ..	3
Figura 2. Moras Boysen y frambuesas .....	6
Figura 3. Estructura del grano de trigo .....	9
Figura 4. Esquema general de la estructura de la red de gluten .....	12
Figura 5. Organización de las regiones amorfas y cristalinas del almidón .....	13
Figura 6. Moras y frambuesas liofilizadas.....	24
Figura 7. Proceso de obtención de moras y frambuesas deshidratadas en estufa.....	25
Figura 8. Representación gráfica del espacio Cie-Lab .....	26
Figura 9. Elaboración de pan de molde pre-cocido con incorporación de fruta.....	30
Figura 10. Curva característica de análisis de perfil de textura.....	32
Figura 11. Análisis de imágenes de rodaja de pan para evaluación de la estructura de la miga .....	33
Figura 12. Parámetros de color L*, a* y b* de mora y frambuesa deshidratada por liofilización, a 50 °C, a 65 °C y a 130 °C.....	39
Figura 13. Contenido de polifenoles totales, antocianinas, actividad antiradicalaria y poder reductor en mora y frambuesa deshidratadas por liofilización, a 50 °C, a 65 °C y a 130 °C .....	41
Figura 14. Volumen específico de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	45
Figura 15. Firmeza de la miga de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	46
Figura 16. Cohesividad de la miga de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	47
Figura 17. Masticabilidad de la miga de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	48
Figura 18. Parámetro de color L* de la corteza y miga de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	49
Figura 19. Parámetro de color a* de la corteza y miga de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	50
Figura 20. Parámetro de color b* de la corteza y miga de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	51



Figura 21. Rodajas de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	52
Figura 22. Número de alvéolos por unidad de superficie, tamaño de alvéolos, fracción de área y uniformidad de la miga de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C.....	53
Figura 23. Firmeza de la miga de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C, almacenados a temperatura ambiente .....	54
Figura 24. Evolución del contenido de polifenoles totales durante el proceso de panificación de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	58
Figura 25. Evolución del contenido de antocianinas durante el proceso de panificación de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	60
Figura 26. Evolución de la actividad antiradicalaria durante el proceso de panificación de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	61
Figura 27. Evolución del poder reductor durante el proceso de panificación de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C .....	62
Figura 28. Evolución del contenido de polifenoles totales durante el almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C. ....	64
Figura 29. Evolución del contenido de antocianinas durante el almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C. ....	65
Figura 30. Evolución de la actividad antiradicalaria durante el almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C. ....	66
Figura 31. Evolución del poder reductor durante el almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa en tres condiciones: fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C. ....	67

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Formulación de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C.....	29
Tabla II. Composición centesimal de mora Boysen y frambuesa .....	38
Tabla III. Contenido de polifenoles totales, antocianinas, actividad antiradicalaria y poder reductor de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa listos para consumo.....	63

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la incorporación de mora Boysen (*Rubus ursinus* × *idaeus*) y frambuesa (*Rubus idaeus* sp.) deshidratadas en panes precocidos a fin de incrementar la calidad nutricional. Para ello se analizó la calidad tecnológica, la estructura de la miga, la velocidad de endurecimiento y la evolución de la capacidad antioxidante a lo largo del proceso de panificación y del almacenamiento de los panes enriquecidos. En primer lugar, se evaluaron distintas condiciones de deshidratación de los frutos rojos sobre el contenido de polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante para determinar aquella que mejor conserve dichas propiedades. Se elaboraron panes con 5% de sustitución de harina de trigo por fruta fresca, liofilizada y deshidratada en estufa, utilizando un pan sin agregados como control. La deshidratación a 65 °C fue la que mantuvo las mejores propiedades. Los panes elaborados presentaron 20% de disminución del volumen específico, y los panes con mora fueron los menos firmes. Las cortezas de los panes con fruta presentaron una luminosidad similar al control y fueron menos rojizas y amarillas, mientras que las migas fueron más rojizas. La estructura de la miga de los panes con frutas presentó una mayor cantidad de alveolos de menor tamaño que el control. La velocidad de endurecimiento fue menor al control hasta las 72 horas de almacenamiento en los panes con incorporación de mora deshidratada. Durante la elaboración de los panes el amasado y la fermentación fueron los procesos que más afectaron las propiedades antioxidantes. Durante el almacenamiento el contenido de polifenoles, actividad anti-radicalaria y poder reductor se vieron mínimamente afectados. En conclusión, es posible obtener panes de buena calidad tecnológica con un alto contenido de polifenoles totales y alta capacidad antioxidante con la incorporación de 5% de mora deshidratada a 65 °C mientras que con frambuesa deshidratada también resultan panes aceptables, pero con menor actividad antioxidante.

**Palabras clave:** mora, frambuesa, panes pre-cocidos, capacidad antioxidante.

## SUMMARY

### **Effects of the incorporation of dehydrated berries with high antioxidant capacity on the main quality attributes of bread**

The aim of this work was to study the effect of incorporating dehydrated boysenberry (*Rubus ursinus* × *idaeus*) and raspberry (*Rubus idaeus* sp.) in pre-baked bread to enhance its nutritional quality. In order to do this, we analyzed the technological quality, crumb structure, staling, and evolution of antioxidant capacity for the bread-making process and storage of the berry-enriched bread. First, we evaluated the different berries dehydration conditions considering the content of polyphenols, anthocyanin and antioxidant capacity in order to determine the condition that best preserved these properties. The bread was made replacing 5% of wheat flour with fresh, lyophilized, and hot-air dehydrated fruit. Bread with no fruit addition was used as control. The dehydration of berries at 65 °C best kept the properties. The loaves made presented 20% decrease of specific volume. The loaves made with blackberry were the less firm. The crust of the enriched bread showed similar lightness than the control bread, with less redness and yellowness, whereas the crumb showed a significant increase in redness. The enriched bread crumb presented more and smaller gas cells than the control bread. Staling was slower up to 72 hours storage in the case of the bread with dehydrated blackberry. During the bread-making process, kneading and fermentation were the steps that affected antioxidant properties the most. During storage, the content of polyphenols, anti-radical activity and reducing power were not seriously affected. As a conclusion, it is possible to produce bread with good technological quality and with a high quantity of total polyphenols and high antioxidant capacity through the incorporation of 5% blackberry, dehydrated at 65 °C, whereas the incorporation of dehydrated raspberry also results in breads with acceptable technological quality with less antioxidant capacity.

**Keywords:** boysenberry, raspberry, pre-baked bread, antioxidant capacity

# INTRODUCCIÓN

Los denominados frutos rojos comprenden un grupo de especies frutales de poco desarrollo aún, pero de una importancia económica creciente. En este grupo se encuentran las denominadas *berries*, entre ellas frambuesas, frutillas, arándanos, moras, zarzamoras y grosellas. Se tratan de especies en su mayoría introducidas en Argentina, de adaptación firme a su ambiente y muy requeridas en los mercados externos de alto poder adquisitivo. En este sentido, nuestro país posee características agroecológicas diferenciales que le permiten obtener fruta de alta calidad, incluidas las berries, destinadas principalmente a exportación a Rusia, Brasil, España y Holanda y a su vez Italia, Estados Unidos, Alemania y Francia están dentro de los 10 compradores mundiales (Agencia Argentina de Inversiones y Comercio Internacional, 2017).

Cabe destacar que el consumo mundial de frutas finas registra un aumento creciente ya que son alimentos con excelentes propiedades nutritivas y terapéuticas, además de presentar colores, formas y sabores muy atractivos.

### **Frutos rojos en Argentina**

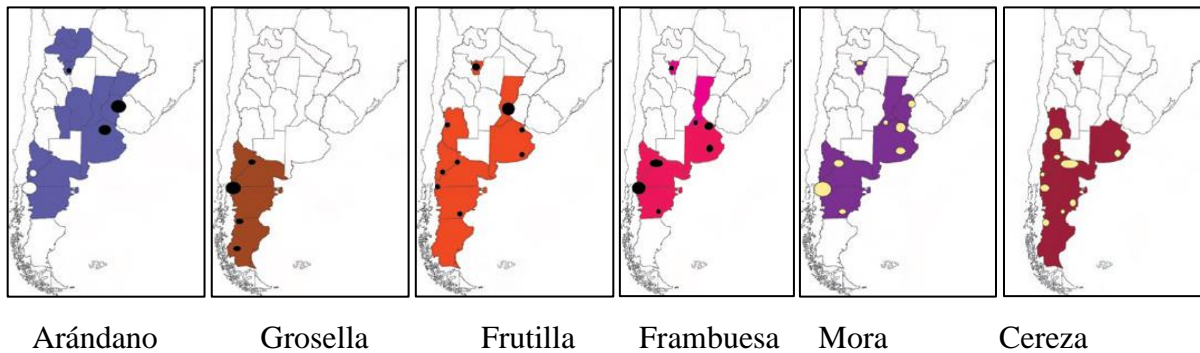
En el mercado local, el principal canal para estas frutas es la industria de alimentos, que las demanda congeladas y en conserva, para transformarlas en confituras, salsas, jugos concentrados, deshidratados, licores y aguardientes, entre otros. Otro importante canal es el sector gastronómico, a través de restaurantes, servicios de catering, repostería y heladerías, que demanda principalmente fruta congelada (SAGyP, 2017).

#### Producción

En Argentina, más del 77% de la superficie cultivada con mora y frambuesa se concentra en territorio patagónico (Figura 1):

- Comarca Andina del Paralelo 42° (El bolsón, El Hoyo, Epuyén y Lago Puelo).
- Valle Inferior del Río Chubut. Alto Valle del Río Negro y Neuquén (Plottier, Senillosa, San Martín de los Andes).
- Santa Cruz (Los Antiguos).

También existen plantaciones de frambuesa y mora en Tucumán (Tafí Viejo), en Santa Fe (Santa Isabel), y el norte de Buenos Aires (Arrecifes, Baradero, Zárate, Lima y Tandil). Asimismo, se producen moras en Entre Ríos (Concordia y Nogoyá) (Cluster Patagónico de Frutas Finas, 2013).



**Figura 1.** Zonas de producción de los frutos rojos de mayor relevancia en Argentina.

Fuente: Mministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.

Se trata de producciones intensivas en mano de obra y capital, que generan alta rentabilidad en pequeñas superficies y son movilizadoras de las economías locales y regionales.

Las características de perechibilidad de estas frutas imponen requerimientos muy específicos en la post-cosecha y en la logística de su transporte. Esto genera diferencias en términos de valor agregado que, en orden ascendente, comprenden a la fruta caliente, congelada en bloque, congelada individualmente (IQF) y la fruta en fresco (Bruzzone, 2009; Cluster Patagónico de Frutas Finas, 2013). Así mismo, resulta casi inevitable que un porcentaje importante del cultivo de frutos rojos se dañe durante la cosecha generando pérdidas considerables y quedando restringido su uso a la elaboración de jaleas, limitando la posibilidad de su aprovechamiento para la producción de alimentos funcionales de alto valor nutricional.

En un informe realizado por la Unión Industrial Argentina en 2006 y 2008, se destaca que un importante porcentaje de la producción no está en condiciones de ser exportado, no sólo por los problemas fitosanitarios en la producción de frutas finas en algunas zonas, sino también por la corta duración de la fruta una vez cosechada debido, principalmente, a su alta tasa respiratoria, textura blanda, susceptibilidad al ataque fúngico y poca resistencia a la manipulación y transporte (UIA, 2006; 2008).

### **Compuestos de interés en frutos rojos**

Los frutos rojos han sido reconocidos en los últimos años por su contenido en sustancias beneficiosas para la salud. Además de ser una buena fuente de vitamina C, fibra alimentaria, y minerales, estas frutas contienen altos niveles de fitoquímicos (Battino *et al.*,

2009). Los fitoquímicos son sustancias biológicamente activas que se encuentran en los alimentos de origen vegetal. No son nutrientes esenciales para la vida (por lo menos a corto plazo), aunque podrían ejercer un efecto protector en la salud a largo plazo. Los frutos rojos son una buena fuente de estos fitoquímicos, en particular de polifenoles (Beattie *et al.*, 2005), sintetizados en gran cantidad por la planta, como producto de su metabolismo secundario. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales, mientras que otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos (Quiñones *et al.*, 2012)

Los polifenoles poseen una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. De acuerdo al número de anillos fenólicos y de los elementos estructurales que presentan, se pueden dividir en varias clases: ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, antocianinas, proantocianinas, flavonoides, flavonas, isoflavonas, estilbenos y lignanos (Manach *et al.*, 2004). Por consiguiente, la naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos; englobando más de 8.000 compuestos distintos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

En las plantas se presentan en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos. Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (Bravo, 1998).

Los polifenoles contribuyen en las características organolépticas de las frutas y verduras, al intervenir en gran medida en el color y en el sabor que estas poseen. En particular, los flavonoides son los responsables de gran parte del color de los alimentos. Particularmente, las antocianinas son las que aportan color rosa, escarlata, rojo, malva, azul y violeta en los vegetales, zumos de frutas y vinos. Las antocianinas son compuestos muy inestables, por lo que la pérdida de su color se puede producir durante el procesado, almacenamiento y congelación de las distintas frutas y vegetales (Mazza *et al.*, 1994).

Por otro lado, el pardeamiento de las frutas y vegetales también está relacionado con el contenido en compuestos fenólicos. Así, la formación de pigmentos amarillos y marrones



durante la manipulación y procesado de los alimentos vegetales está controlada por los niveles de polifenoles, la presencia de oxígeno y la actividad de la polifenoloxidasas (McEvily *et al.*, 1992). Esta enzima contiene cobre y cataliza la reacción entre un grupo fenol y el oxígeno para dar agua y quinona, compuesto responsable de los pigmentos amarillos y marrones (Spanos *et al.*, 1992).

Los compuestos fenólicos no sólo contribuyen sustancialmente a las características sensoriales sino también a la capacidad antioxidante altamente reconocida y frecuentemente asociada a efectos beneficiosos para la salud (Manzocco *et al.*, 2001).

Los fitoquímicos descritos muestran, en su mayoría, una gran capacidad para captar radicales libres. Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una reacción en cadena. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero por su alta reactividad produce un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos (Lü *et al.*, 2010). Estas reacciones se dan constantemente en las células, proceso que debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante. Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones, los que son captados por los radicales libres (Finkel & Holbrook, 2000)

Especies reactivas del oxígeno es el término que se aplica colectivamente a las moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes o son fácilmente convertidos a radicales. Cuando el aumento de estos compuestos sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se produce el estrés oxidativo, a través del cual se induce daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. El estrés oxidativo se presenta en diversos estados patológicos en los cuales se altera la funcionalidad celular, contribuyendo o retroalimentando el desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer (Gutteridge & Halliwell, 1999). La capacidad que poseen los polifenoles de captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, le otorgan propiedades biológicas como anticancerígenos, antiinflamatorios, antitrombóticos y antineurodegenerativos (Ding *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2012; Kuskoski *et al.*, 2005).

En el marco del presente proyecto de tesis, los dos frutos rojos seleccionados obedecen no sólo a que son variedades con potencialidad de crecimiento en nuestro país, sino también a las propiedades beneficiosas para la salud que resulta de su consumo.

### Mora Boysen

Las moras Boysen (*Rubus ursinus* × *idaeus*) (Figura 2) son un híbrido entre dos especies (*Rubus ursinus* y *Rubus idaeus*). Son ampliamente reconocidas por su contenido en vitamina C, carotenoides y fibra alimentaria, pero fundamentalmente por ser una excelente fuente de antioxidantes naturales (Bowen-Forber *et al.*, 2010). Algunas de las razones de su popularidad en la dieta se deben a su efecto antiinflamatorio y anticancerígeno (Byamukama *et al.*, 2005).



**Figura 2.** Moras Boysen (izquierda) y frambuesas (derecha).

### Frambuesa

La frambuesa (*Rubus idaeus* sp.) (Figura 2) ha sido destacada por su contenido en antocianinas y cianidinas (Beekwilder *et al.*, 2005), y vinculada con propiedades farmacológicas resultantes de la presencia de flavonoides, lo que lleva a su frecuente uso como antiinflamatorio, como antimicrobiano frente a la flora intestinal no beneficiosa. Además se le han atribuido actividad anticancerígena (Liu *et al.*, 2002; Seeram *et al.*, 2006).

En particular, los polifenoles de origen vegetal consumidos en la dieta son cada vez más reconocidos por su efectividad como agentes protectores frente al estrés oxidativo, el cual está involucrado en la patogénesis del envejecimiento y varias enfermedades degenerativas como enfermedad cardiovascular y algunos tipos de cáncer (Arts & Hollman 2005; Halliwell *et al.*, 2005) tal como se expuso anteriormente. En este punto, es fundamental evaluar la pérdida de estos compuestos durante el procesamiento en virtud de evaluar el efecto beneficio para la salud que pudiera resultar de su consumo, teniendo en cuenta la estabilidad y biodisponibilidad a fin de poder estimar el efecto funcional que pudiera tener asociado un producto elaborado con la incorporación de este tipo de ingredientes.

## **Deshidratación de frutos rojos**

Debido a que los frutos rojos tienen una vida útil muy corta, perdiendo rápidamente sus propiedades, es muy importante aplicar tratamientos que permitan aumentar su vida útil y posibilitar su agregado a distintos alimentos. En este sentido, la deshidratación surge como una posibilidad, siendo muy importante evaluar los cambios en las propiedades nutricionales y funcionales que tienen lugar a raíz del mismo y determinar las condiciones que permitan la mejor conservación de dichas características. A su vez este método de conservación está influenciado por diversos factores como el tipo de fruta, las condiciones de deshidratación y el tratamiento previo a la deshidratación (Sablani, 2006, Omolola *et al.*, 2015).

La calidad de las frutas deshidratadas se ve afectada, particularmente debido a que los compuestos polifenólicos y antocianinas son susceptibles de degradarse (Arancibia-Avila *et al.*, 2012), reduciendo la actividad antioxidante. Algunos estudios vinculados a la deshidratación de frutos rojos indican que efectivamente hay degradación de compuestos bioactivos respecto de la fruta fresca pero que es necesario su evaluación (Karam *et al.*, 2016). Otros autores han establecido que la deshidratación por convección disminuye alrededor del 70% de la actividad antioxidante en frambuesa y arándanos (Sablani *et al.*, 2011). Mientras que el uso de bajas temperaturas y exposición al oxígeno generan la degradación de polifenoles y parte de la actividad antioxidante en arándanos deshidratados en horno microondas (Zielinska & Michalska, 2016). Además, las elevadas temperaturas disminuyen el contenido de antocianinas monoméricas y polifenoles en frambuesas deshidratadas mediante calentamiento infrarrojo con una calidad aceptable a 60 °C (Adak *et al.*, 2017).

La liofilización es probablemente la mejor técnica para mantener una calidad elevada de frutas deshidratadas, pero es también una de las más costosas (Marques *et al.*, 2007). Como resultado, es común que se considere que durante la liofilización de los frutos rojos no tienen lugar modificaciones considerables y es la metodología más utilizada para caracterizar estas frutas de elevado contenido acuoso. Por otro lado, la deshidratación por convección es la técnica más económica y ampliamente adoptada en la industria de alimentos, a pesar de que frecuentemente requiere largos tiempos y mayores temperaturas que la liofilización (Karam *et al.*, 2016).

## **Importancia del pan en la alimentación**

A lo largo de los años el pan se ha convertido en un alimento de consumo generalizado, ocupando una posición de gran importancia en la nutrición internacional (Cauvain, 2004; Barrett, 1975). Las proteínas procedentes del trigo poseen menor valor nutricional que las de origen animal debido a que son deficientes en lisina. Sin embargo, el consumo de cereales es recomendable desde el punto de vista nutricional, ya que proporciona a la dieta fibra alimentaria, minerales y vitaminas del complejo B, además de ser un producto bajo en grasa. Debido a estos beneficios, los cereales y sus productos forman parte de base de la pirámide nutricional.

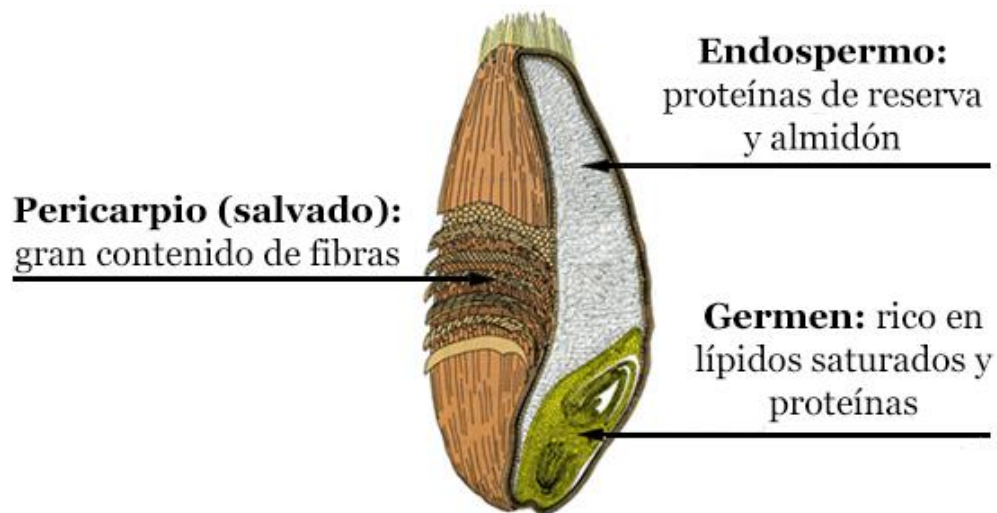
A pesar de las características expuestas no es frecuente el enriquecimiento del pan con ingredientes funcionales. Esto se debe principalmente a su corta vida útil, lo que en principio no justificaría tal agregado. Sin embargo, existen otras metodologías de elaboración de pan, como los panes pre-cocidos, que permiten aumentar la vida útil y por lo tanto las posibilidades de mejorar la calidad nutricional del producto final por el agregado de ingredientes con características distintivas se convierte en una posibilidad concreta.

## **Harina de trigo**

La harina de trigo es el producto obtenido por la molienda gradual y sistemática de los granos de trigo. Existen diversas variedades de trigos, sin embargo, la más importante para la elaboración de productos leudados es el trigo común o pan (*Triticum aestivum*).

El grano de trigo, como todos los cereales, está constituido por una cubierta externa o pericarpio, denominado salvado, que envuelve a la semilla. En el interior de la semilla se encuentra el germen o embrión y el endospermo (Figura 3). Las células que componen las capas más externas del grano, poseen un alto contenido de celulosa y hemicelulosa, el germen básicamente es rico en lípidos no saturados y proteínas, y las células del endospermo almacenan las proteínas de reserva y el almidón (Hoseney, 1994a).

A partir de esto, la harina obtenida como producto de la molienda se encuentra principalmente compuesta por las células rotas del endospermo, las cuales poseen gránulos de almidón incluidos en una matriz proteica constituida principalmente por las proteínas de reserva del trigo (Hoseney, 1994a).



**Figura 3.** Estructura del grano de trigo.

La composición química de la harina de trigo blanca varía respecto del grano entero debido al proceso de molienda, siendo la modificación más relevante la que se produce sobre la proporción de proteínas y almidón (Hoseney, 1994b). La composición en base seca de una harina es aproximadamente un 70% de almidón, 9-18% de proteínas, 2% de lípidos y 2,5% de polisacáridos no almidonosos.

Las propiedades únicas de la harina de trigo que le permite formar una masa viscoelástica al ser mezclada con agua se deben a las características de las proteínas presentes, gliadinas y gluteninas (Shewry *et al.*, 2001; Lindsay *et al.*, 1999). Estas fracciones de proteínas tienen una gran capacidad de absorber agua, hasta prácticamente dos veces su peso, y la habilidad de formar una red deformable, elástica y extensible (gluten) capaz de retener dióxido de carbono durante la fermentación y posterior cocción en la producción de productos panificados. Es importante destacar que las interacciones entre las proteínas no son las únicas de relevancia en la obtención de un producto panificado ya que las proteínas establecen interacciones con otros componentes presentes en la harina, tales como el almidón, los polisacáridos no almidonosos (arabinosilanos, arabinogalactanos) y los lípidos neutros y polares (fosfo y glicolípidos) (Lee *et al.*, 2001; Bettge *et al.*, 2000; Carr *et al.*, 1992).

Si bien la harina se compone de muchos elementos, la discusión generalmente se centra en cuatro de ellos: proteínas, almidón, lípidos y enzimas.

## Proteínas

Comúnmente se clasifica a las proteínas de la harina de trigo en proteínas que no forman gluten y proteínas formadoras de gluten. Las proteínas que no forman gluten representan entre un 15-20% del total de la proteína de trigo. Se encuentran principalmente en las capas externas del grano, en el embrión y en bajas concentraciones en el endospermo. Son monoméricas, metabólicamente activas o estructurales y poseen un buen balance de aminoácidos, ya que contienen proporciones relativamente altas de lisina, triptofano y metionina; tres aminoácidos que se encuentran en baja proporción en la mayoría de los cereales. Su función en la panificación no está clara aún (Veraverbeke *et al.*, 2002).

Las proteínas formadoras de gluten representan entre un 80 - 85% del total de las proteínas del trigo, constituyendo la mayor parte de las proteínas de almacenamiento (Kasarda *et al.*, 1976). Se encuentran en el endospermo del grano de trigo maduro formando una matriz continua alrededor de los gránulos de almidón. Las proteínas del gluten son insolubles en agua o en soluciones salinas diluidas y pueden ser divididas en dos grupos de acuerdo a su funcionalidad:

### Gliadinas

Representan un grupo sumamente polimórfico de proteínas monoméricas que constituyen un tercio de las proteínas de la harina (Lindahl, 1990). Poseen pesos moleculares que varían entre 30.000 y 80.000 y están formadas por un dominio no repetitivo rico en estructura secundaria  $\alpha$ -hélice y por un dominio repetitivo heterogéneo rico en estructura de giro  $\beta$  (Tatham *et al.*, 1985). Se clasifican en  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\omega$ -gliadinas en base a su movilidad en electroforesis a pH ácido (Shewry *et al.* 1986). Las  $\alpha$ - y  $\gamma$ -gliadinas son ricas en residuos de prolina y glutamina, y un dominio C-terminal no repetitivo que posee residuos de cisteínas (Shewry *et al.*, 1990). Las  $\omega$ -gliadinas no contienen residuos de cisteína, por lo que están limitadas para formar interacciones covalentes (Tatham, 1995). Las  $\gamma$ -gliadinas poseen ocho residuos de cisteínas que se encuentran localizados en el dominio C-terminal y forman cuatro enlaces disulfuro intramoleculares, por lo que no son capaces de formar nuevos enlaces covalentes con otras proteínas del gluten. Las  $\alpha$ -gliadinas poseen seis residuos de cisteínas igualmente ubicados como en las  $\gamma$ -gliadinas, que forman tres enlaces disulfuro también intramolecularmente. Sin embargo, estos enlaces disulfuro son importantes para retener el plegado de la estructura de las gliadinas que determina la naturaleza de las interacciones no covalentes con la red de gluteninas (Wrigley *et al.*, 1998). Algunos investigadores proponen

que las gliadinas son las responsables de la cohesividad de las masas (Hoseney, 1994c), aunque otros sugieren que controlan el potencial de volumen de pan (Khatkar *et al.*, 2002).

### Gluteninas

Se encuentran formando agregados proteicos unidos por puentes disulfuro y fuerzas no covalentes intermoleculares. Su masa molecular varía desde 500.000 a más de 10 millones (Wieser *et al.*, 2006). Luego de la reducción de los puentes disulfuro, las subunidades de gluteninas resultantes pueden ser divididas en dos tipos: las subunidades de alta masa molecular (HMW-GS) y las subunidades de baja masa molecular (LMW-GS) (Shewry *et al.*, 1992).

Las LMW-GS son un grupo complejo de proteínas que poseen la habilidad de formar enlaces disulfuro que permiten su incorporación dentro de los polímeros de gluteninas. La mayoría de las LMW-GS contienen entre siete y ocho residuos de cisteína (Grosch *et al.*, 1999; Wieser, 2003), seis residuos están en una posición homóloga a las gliadinas, y por lo tanto tienden a formar puentes disulfuro intramoleculares. Los residuos de cisteínas adicionales no son capaces de formar puentes disulfuro intramoleculares, probablemente por impedimento estérico, por lo que formarían puentes disulfuro intermoleculares formando agregados proteicos entre ellas y con HMW-GS (Pogna *et al.*, 1994).

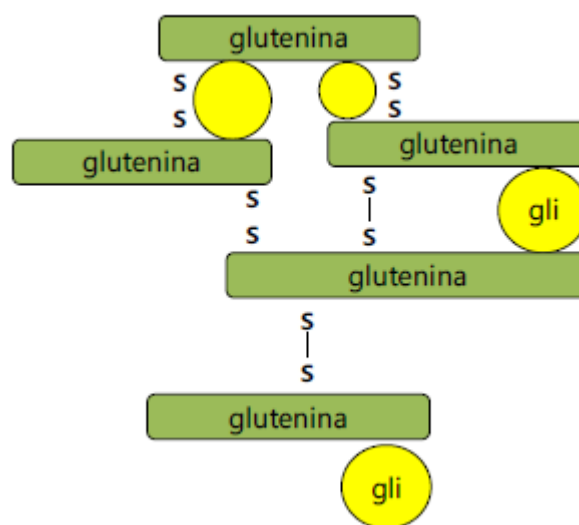
Las subunidades de gluteninas de alta masa molecular (HMW-GS) presentan fuertes similitudes estructurales entre ellas, pero también diferencias características. Una de las diferencias es el comportamiento en la polimerización y se relaciona con el número de grupos sulfhidrilo. En base a esta diferenciación, las HMW-GS son clasificadas en dos subgrupos: subunidades tipo-x y tipo-y. El dominio N-terminal de las subunidades tipo-x contienen cuatro residuos de cisteína y el dominio N-terminal de las subunidades tipo-y contienen cinco residuos de cisteína (Tatham, 1995). Los estudios sobre su estructura muestran a las subunidades de gluteninas de alto peso molecular como moléculas alargadas que posee una estructura  $\beta$ -espiral repetitiva en la región central. Mientras que los dominios N- y C-terminal poseen una estructura similar a las proteínas globulares, presentado  $\alpha$ -hélices y estructura desordenada. En los dominios terminales se encuentran la mayoría de los residuos de cisteínas que proveen de los sitios para la formación de puentes disulfuro intermoleculares.

Se considera, en general, que las gliadinas son las responsables de la viscosidad del gluten, mientras que las gluteninas son las encargadas de conferirle fuerza y elasticidad (Hoseney, 1994c).

### Estructura del gluten

El gluten es una red tridimensional de proteínas entrecruzadas, con una estructura continua y compacta, la cual se mantiene mediante interacciones covalentes, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (Figura 4). A pesar de los numerosos estudios realizados sobre la estructura de las proteínas del gluten y la base molecular existente, su rol en el procesamiento del pan aún no es totalmente comprendido (Shewry *et al.*, 2001). Como se mencionó anteriormente, las subunidades de glutenina de alta masa molecular están presentes en forma de polímeros. La importancia de los puentes disulfuro en estabilizar estos polímeros ha sido extensamente demostrada, y por lo tanto, son considerados esenciales para la viscoelasticidad del gluten.

Otro aporte importante a la formación de la red de gluten son las interacciones hidrofóbicas, ya que aproximadamente el 35% de los aminoácidos poseen cadenas laterales de naturaleza hidrofóbica (Hoseney, 1994d). Las gliadinas contribuyen a la viscosidad del gluten, interactúan principalmente con los polímeros de gluteninas mediante interacciones no covalentes, y las gluteninas, además participan con una gran cantidad de interacciones del tipo puentes de hidrógeno. Todas las interacciones que se establecen en este complejo sistema son muy importantes ya que contribuyen a la viscoelasticidad de la masa (Belton, 1999; Jeffrey *et al.*, 1994; Ewart, 1989).



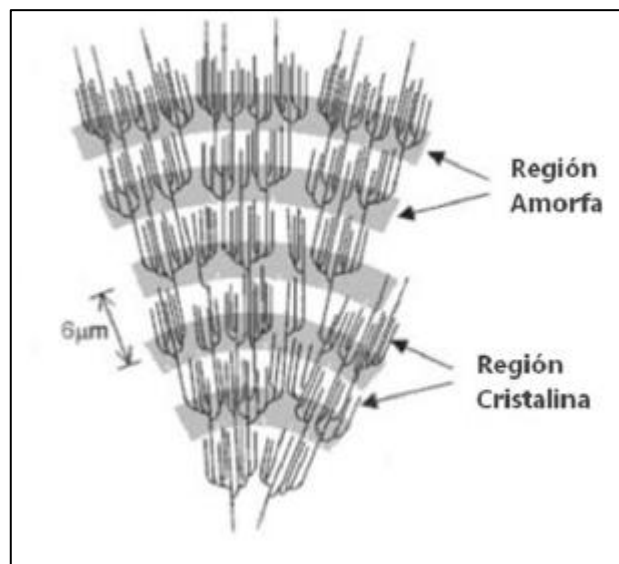
**Figura 4.** Esquema general de la estructura de la red de gluten (S-S: puente de disulfuro, gli: gliadinas).



## Almidón

El almidón es el componente y el carbohidrato mayoritario de las harinas de trigo, ya que representa aproximadamente un 70% de su composición en base seca. En los cereales se acumula en forma de gránulos, los cuales se desarrollan en organelas de doble membrana llamadas amiloplastos.

El almidón es una macromolécula que está compuesta por dos fracciones: la amilosa y la amilopectina. La amilosa es definida como una molécula esencialmente lineal, compuesta por 500-6.000 unidades de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -(1-4), con escasos puntos de ramificación formados por enlaces  $\alpha$ -(1-6) (Shibanuma *et al.*, 1994); y la amilopectina está formada por una cadena central similar a la de la amilosa, pero posee ramificaciones con enlaces  $\alpha$ -(1-6) cada 9 a 20 unidades de D-glucosa (Whistler & Daniel, 1984). El enlace  $\alpha$ -1,4 imparte a la molécula un giro natural, con lo que la conformación de las cadenas es helicoidal (Greenwood, 1976). Dentro del gránulo se puede diferenciar una zona con cierto grado de cristalinidad debido a regiones ordenadas de cadenas de amilopectina y una zona amorfa compuesta principalmente por las regiones ramificadas de la amilopectina y las cadenas de amilosa (Figura 5). A raíz de esto el almidón es descrito como un polímero semicristalino o parcialmente cristalino (Eliasson & Gudmundsson, 1996).



**Figura 5.** Organización de las regiones amorfas y cristalinas del almidón.

El almidón cumple distintas funciones en la elaboración de los productos de panificación; diluye el gluten dando consistencia a la masa, proporciona azúcares para la fermentación, aporta una superficie para que el gluten se adhiera fuertemente, ayuda en la

retención del gas formado y deja menos agua disponible durante la gelatinización; este último proceso favorece la fijación de la película del gluten para que sea más rígido e impermeable al gas, evitando el colapso de la miga durante el enfriamiento del pan (Sandstendt, 1961).

Cuando los gránulos de almidón son sometidos a tratamientos térmicos, debido a su estado nativo parcialmente cristalino, experimentan distintas transiciones de fase, llamadas gelatinización y retrogradación (Belitz & Grosch, 1999). Como consecuencia de la combinación de calor, humedad y tiempo durante la cocción del pan, los gránulos de almidón se hinchan y gelatinizan. La gelatinización es la destrucción irreversible del orden molecular de los gránulos de almidón (Atwell *et al.*, 1988). Para que ocurra este fenómeno es necesario un nivel mínimo de agua y una determinada temperatura. Durante la gelatinización, una pequeña cantidad de almidón, principalmente amilosa, es liberada en la región intergranular lo que conduce a un aumento de la viscosidad. Además, se produce el desorden de las regiones cristalinas dentro de los gránulos. Parte de la amilosa solubilizada forma complejos de inclusión con los lípidos polares de la harina de trigo.

#### Polisacáridos no almidonosos

Los polisacáridos no almidonosos, que provienen de la pared celular, de la aleurona y del endosperma del grano incluyen distintas moléculas construidas a partir de hexosas y pentosas (pentosanos), y son estos últimos los que constituyen la mayor fracción de este grupo de polisacáridos. Generalmente, los pentosanos, constituidos principalmente por arabinosilanos y arabinogalactanos, se clasifican en solubles e insolubles en agua. Aunque ambos grupos son bastante heterogéneos, existe una estructura en común. La estructura general de los arabinosilanos es un esqueleto central de xilosas unidas por enlaces  $\beta$ -(1-4) que llevan un residuo simple de arabinosa en el C-3 o en los C-2 y C-3 (Wang *et al.*, 2005).

La capacidad de los pentosanos para retener agua y formar soluciones viscosas o geles por uniones covalentes afecta la distribución de la humedad entre los constituyentes de la harina. Se conoce que los pentosanos insolubles en agua ejercen un impacto negativo en la calidad del pan ya que actúan limitando la agregación del gluten debido a impedimentos estéricos. Además absorben una gran cantidad de agua que deja de estar disponible para el desarrollo del gluten y causan la coalescencia de las celdas de gas resultando en una pobre calidad del pan (van Oort *et al.*, 1995; Courtin *et al.*, 1999; Courtin & Delcour, 2002). Por el contrario, los arabinosilanos solubles en agua causan un impacto positivo ya que actúan disminuyendo la velocidad de difusión del dióxido de carbono en la masa, estabilizando las

celdas de gas, lo que mejora la estructura de la miga. Además, incrementan la viscosidad de la fase acuosa de la masa aumentando su estabilidad, mejorando parámetros de calidad como el volumen y la firmeza del pan (Hoseney, 1984; Gan *et al.*, 1995).

### Lípidos

El grano de trigo contiene una cantidad relativamente pequeña de lípidos (entre 1,5 y 2%), los cuales se almacenan principalmente en el embrión (germen) y, en menor medida, en la capa de aleurona. Constituyen un grupo heterogéneo de compuestos con diferentes estructuras químicas y composición. En el patrón de ácidos grasos de los lípidos de una harina de trigo se encuentran el ácido linoléico y en menor cantidad el ácido palmítico y el ácido oleico (Eliasson & Larsson, 1993).

Los lípidos se pueden encontrar libres o unidos a otros constituyentes de la harina, como almidón y proteínas. Los lípidos asociados al almidón comprenden en gran parte lisofosfolípidos que forman complejos de inclusión con la amilosa durante la gelatinización del almidón, sin embargo, estos complejos también se encuentran en el almidón nativo del cereal (Morrison *et al.*, 1993). Esta fracción de lípidos se encuentra dentro de los gránulos de almidón y sólo queda disponible cuando se alcanzan las condiciones de gelatinización, por lo que no afectan significativamente los productos de panificación. La fracción de lípidos que no está asociada al almidón está constituida por cantidades similares de lípidos polares y no polares. Estos lípidos se encuentran libres o unidos principalmente a proteínas. Los lípidos que se encuentran libres son polares, principalmente glico y fosfolípidos, mientras que los lípidos no polares, mayormente triglicéridos, son los que se encuentran asociados a las proteínas (Eliasson & Larsson, 1993; Chung, 1986). Los lípidos no polares de la harina de trigo tienen un efecto negativo sobre el proceso de panificación (MacRitchie, 1981), mientras que los lípidos polares ejercen un efecto positivo, principalmente sobre las propiedades reológicas de la masa (Graybosch *et al.*, 1993), el volumen del pan (Eliasson & Larsson, 1993) y la firmeza y uniformidad de la miga. Probablemente la funcionalidad de los lípidos está relacionada con su efecto sobre la estabilización de las celdas de gas. La influencia positiva de los lípidos polares está atribuida a su habilidad en formar monocapas lipídicas en las interfases gas / líquido de las celdas de gas en la masa de pan, y así incrementar la retención de dióxido de carbono durante la fermentación (Gan *et al.*, 1995). Se conoce también que los mono y diglicéridos actúan retardando la velocidad de endurecimiento del

pan, ya que forman complejos de inclusión con la amilosa, disminuyendo su retrogradación (Olesen *et al.*, 1994; Johnson & Welch, 1968).

### Enzimas

Entre las enzimas, las que han recibido mayor atención son las amilolíticas (enzimas que degradan el almidón), debido a que los efectos de estos catalizadores biológicos son muy importantes durante la producción de productos panificados. Las principales enzimas hidrolíticas que actúan sobre los carbohidratos presentes en los cereales son  $\alpha$ - y  $\beta$ -amilasas, enzimas desramificantes, celulasas,  $\beta$ -gluconasas y glucosidasas. En general, en la producción de panificados la  $\alpha$ -amilasa provee fragmentos de oligosacáridos al medio, los cuales pueden ser utilizados por la  $\beta$ -amilasa, favoreciendo así la producción de maltosa y glucosa, que son utilizados por las levaduras como sustrato para la fermentación. El trigo contiene también un gran número de enzimas proteolíticas. Otro grupo importante son las lipasas, esterasas y fosfatasas, fitasas, lipooxigenasas y polifenoloxidasas, entre otras (Matz, 1999; Hosene, 1994d).

### **Elaboración de pan**

El pan es un producto leudado que se obtiene, gracias a la fermentación por parte de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. La adición de la levadura provoca la fermentación de la masa antes del horneado, y como consecuencia, le proporciona un volumen y una esponjosidad debido a la producción de pequeñas burbujas de dióxido de carbono que quedan inmersas entre la masa húmeda de la harina. Es decir, la elaboración de pan involucra importantes procesos físicos, físico-químicos y bioquímicos que transforman la masa viscoelástica, en una miga esponjosa y una corteza crujiente.

La elaboración de pan consta de tres etapas principales: formación de la masa, fermentación y cocción. Durante el mezclado y amasado, los componentes de las harinas se hidratan y posteriormente la mezcla se transforma en una masa viscoelástica homogénea. El aire incorporado durante el amasado forma los núcleos de las celdas de gas que serán expandidos durante la fermentación y el horneado (McRitchie., 2016). La presencia de aire, y específicamente oxígeno molecular, es esencial para un óptimo desarrollo del gluten con buenas características reológicas. Durante la fermentación, las levaduras producen principalmente dióxido de carbono y etanol como resultado de una serie compleja de

reacciones mediadas por enzimas, los que se disuelven en la fase acuosa de la masa por lo que su pH disminuye. Cuando esta fase se encuentra saturada de dióxido de carbono, se produce su liberación hacia las celdas de aire creadas durante el proceso de amasado, produciendo su expansión y, consecuentemente aumentando el volumen de la pieza (Bloksma, 1990; Mills *et al.*, 2003). En la etapa de cocción, la temperatura de la pieza de masa aumenta, hasta temperaturas cercanas a 100 °C en el interior, y a temperaturas superiores en la superficie. En la primera etapa de horneado la masa se expande hasta un 50% debido a un aumento en la producción de dióxido de carbono (hasta que las células de levaduras son inactivadas por la temperatura) y un aumento en la vaporización de otras sustancias como etanol y mezclas de etanol-agua. A medida que la matriz interna se cocina, la estructura de la masa cambia a una estructura tipo esponja con celdas de gas interconectadas. La viscosidad se incrementa rápidamente por encima de 60 °C debido a la gelatinización del almidón y la desnaturalización de las proteínas del gluten, produciéndose así la fijación de la estructura. En las etapas posteriores del horneado se producen las reacciones de oscurecimiento de la corteza (Hoseney, 1994e).

Durante el enfriamiento y el almacenamiento del pan las moléculas de almidón se reasocian dando lugar a un estado más ordenado o cristalino, proceso llamado retrogradación (Atwell *et al.* 1988). La estructura y la firmeza del pan durante las primeras horas después del horneado están dadas por la retrogradación o gelificación de la amilosa solubilizada, lo que implica la formación de dobles hélices en varios segmentos de las cadenas. La amilosa gelificada forma una red continua rodeando los gránulos de almidón hinchados y deformados. La retrogradación de la amilopeptina ocurre a una velocidad mucho menor que la amilosa por lo que se postula como uno de los fenómenos responsables del envejecimiento del pan durante su almacenamiento.

El envejecimiento de los productos panificados está definido como la disminución de la aceptación por parte del consumidor causada por cambios que no resultan de la acción de microorganismos dañinos (Betchel, 1955). Durante el almacenamiento, el pan pierde gradualmente su frescura, las alteraciones más notorias son: la pérdida de la crocancia de la corteza, el aumento de la firmeza y disminución de la elasticidad de la miga y los cambios en el aroma y sabor (Cauvain, 1998). La corteza pierde su textura crocante por la transferencia de humedad desde la miga y el sabor y el aroma se debilitan por la merma en las sustancias volátiles. El desarrollo de la dureza de la miga con el tiempo es un fenómeno en el que influyen diversos factores. La pérdida de humedad de la miga junto con la recristalización de

la amilopectina son los dos mecanismos admitidos como válidos (Kulp & Ponte 1981; Gray & BeMiller 2003).

### Panes pre-cocidos

Las etapas de producción del pan pre-cocido son muy similares a las del proceso convencional de panificación, siendo la principal diferencia la etapa de cocción. El horneado parcial para elaborar el pan pre-cocido consiste en hornear la masa formada hasta fijar la estructura de la miga pero sin llegar o formar la corteza crujiente del pan convencional. Una de las principales características del pan pre-cocido es que su contenido de humedad y densidad es mayor que la del pan horneado tradicionalmente, por lo que después del primer horneado, puede ser almacenado congelado para su conservación, hasta realizarse la cocción definitiva en la cual adquirirá sus características físicas y sensoriales típicas (Barcenas & Rosell, 2006).

La aplicación de esta tecnología ha permitido el desarrollo comercial de diversos productos de panificación facilitando su preparación, aumentando su vida útil, y disminuyendo los porcentajes de descarte por envejecimiento y haciéndolos disponibles a cualquier hora del día, reduciendo costos y asegurando su calidad. Todos estos beneficios adquieren mayor relevancia cuando se incorporan ingredientes funcionales que le dan al pan un valor agregado. En este sentido, la diversidad de frutas finas que se producen en Argentina, junto con sus conocidos usos alimentarios y valor nutritivo ofrece la posibilidad de desarrollar diferentes estrategias para su utilización como ingredientes naturales, permitiendo de esta manera el aprovechamiento de aquellas frutas descartadas para la exportación.

### **Incorporación de mora y frambuesa deshidratada en pan de molde**

En nuestro país, los trabajos científicos vinculados a los frutos rojos se han focalizado, casi exclusivamente, a los requerimientos de frío, producción primaria, manejo post-cosecha y conservación (Cámara *et al.*, 2014). A diferencia de esta realidad, en este proyecto se propone en una primera parte, el aprovechamiento de los frutos rojos mediante distintas metodologías de deshidratación que permitan una mejor conservación de sus propiedades nutritivas, así como también una mayor vida útil. Esto permitiría que las distintas industrias de alimentos pudieran utilizar la fruta deshidratada como materia prima de sus productos promoviendo el desarrollo de otros nuevos.

A nivel internacional, existen pocos estudios respecto del agregado de frutos rojos en productos a base de cereales. Cabe destacar que no se han hallado, hasta el momento, investigaciones en las cuales se incorpore la fruta *per se*. Particularmente, en Nueva Zelanda, un grupo de investigación ha estudiado cómo afecta la incorporación de polifenoles y fibra de algunas frutas la calidad y estructura de panes y pastas (Sun-Waterhouse *et al.*, 2009, 2011, 2013; Sivam *et al.*, 2011; 2013). Sin embargo, este grupo ha trabajado con jugo de frutas concentrado y pectinas adquiridas comercialmente. A raíz de lo expuesto resulta interesante explorar condiciones óptimas de deshidratación de frutos rojos, tales como la mora y frambuesa, que prevengan la pérdida de componentes bioactivos para que puedan ser aprovechados en la mejora nutricional de alimentos de primera necesidad y consumo masivo como el pan. Sin embargo, la actividad antioxidante y los compuestos bioactivos que hacen de dichas frutas un producto valioso, podrían afectar la calidad del producto final o bien ser destruidos durante el procesamiento del pan por lo que evaluar estos aspectos resulta fundamental en el desarrollo de alimentos funcionales.

# **OBJETIVOS**



## **Objetivo general**

Estudiar el efecto de la incorporación de mora y frambuesa con alta capacidad antioxidante sobre la calidad tecnológica del pan y evaluar la conservación de los compuestos bioactivos durante todo su procesamiento.

## **Objetivos específicos**

- Analizar la composición química de mora y frambuesa para determinar su potencial nutricional en alimentos funcionales.
- Evaluar diferentes condiciones de deshidratación de mora y frambuesa que permitan obtener un producto con la mejor conservación de polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante.
- Elaborar panes pre-cocidos con incorporación mora y frambuesa liofilizada, fresca y deshidratada en estufa (obtenidas en el punto anterior).
- Analizar el efecto de la incorporación de mora y frambuesa deshidratada sobre los principales atributos de calidad tecnológica y nutricional de los panes.
- Determinar las pérdidas de polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante durante la elaboración y almacenamiento de los panes pre-cocidos enriquecidos con mora y frambuesa deshidratada en estufa, en comparación con aquellos elaborados con mora y frambuesa, fresca y liofilizada.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

## MATERIALES

Para la elaboración de pan se utilizó harina comercial de trigo pan (*Triticum aestivum*) provista por Industrias Alimenticias Tiranti (Córdoba, Argentina) sin ningún tipo de aditivo ni fortificación.

Se utilizaron moras Boysen (*Rubus ursinus* × *idaeus* var. Black Satin) y frambuesa (*Rubus idaeus* var. Autumn Bliss) provenientes de San Pedro, Buenos Aires, Argentina. Las frutas fueron adquiridas en forma congelada con el método IQF (Dolfhes Gourmet, Rosario, Santa Fe, Argentina) y conservadas a -18 °C hasta el momento de su utilización.

## MÉTODOS

### 1. Caracterización química de mora y frambuesa

#### Humedad

El contenido de agua se determinó a partir de 5 g de fruta fresca, pesada antes y después de secar en estufa a 70 °C durante 6 horas según el método 934.06 (AOAC, 2007). La determinación se realizó por duplicado, informando la pérdida de peso registrada como gramos de agua en 100 g de fruta.

#### Cenizas

El contenido de cenizas se determinó a partir de 2 g de fruta previamente liofilizada pesada antes y después de incinerar en mufla a 550 °C durante 5 horas de acuerdo al método 08-03 (AACC, 2000). La determinación se realizó por duplicado, informando la pérdida de peso registrada como gramos de cenizas en 100 g de fruta fresca.

#### Proteínas

El contenido de proteínas se determinó por medio del micro método de Kjeldahl modificado para ácido bórico. Se realizó una mineralización de fruta liofilizada con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 400 °C en un bloque de digestión MB-6, Raypa (R. Espinar SL, España). El amonio resultante se destiló (Destilador UDK 126, Velp Scientifica SRL, Italia) sobre ácido bórico y se tituló con HCl de acuerdo al método 46-13 (AACC, 2000). El porcentaje de proteína total se calculó como N x 6,25 para ambas frutas. La determinación se realizó por duplicado, informando los gramos de proteínas por 100 g de fruta fresca.

### Lípidos

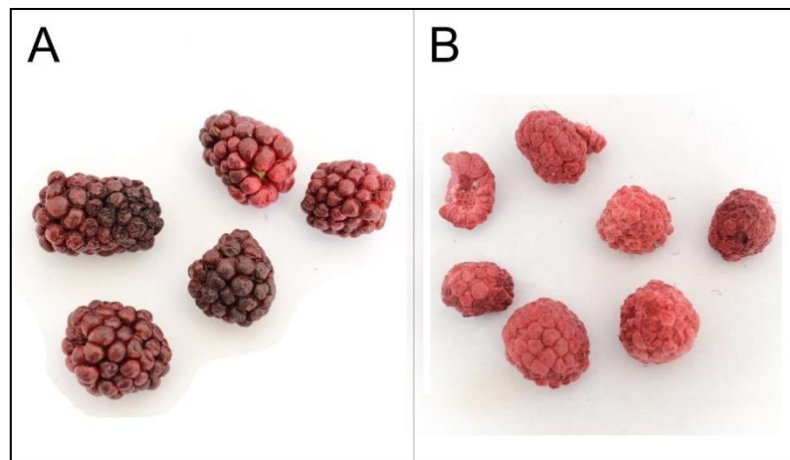
El contenido de lípidos se determinó mediante una extracción en Soxhlet a partir de 2 g de fruta liofilizada por diferencia entre el peso de la muestra antes y después de la extracción de acuerdo al método 30.26 (AACC, 2000). La determinación se realizó por duplicado, informando los gramos de lípidos por 100 g de fruta fresca.

## **2. Deshidratación de mora y frambuesa**

Se implementaron dos metodologías de deshidratación de la fruta: liofilización y secado en estufa con circulación forzada de aire.

### Liofilización

Una porción de frutas fue llevada a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas para luego ser liofilizadas (L-T8 Rificor, Argentina) durante 48 h. Las frutas liofilizadas (Figura 6) fueron molidas en molino de café y conservadas en bolsas plásticas a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



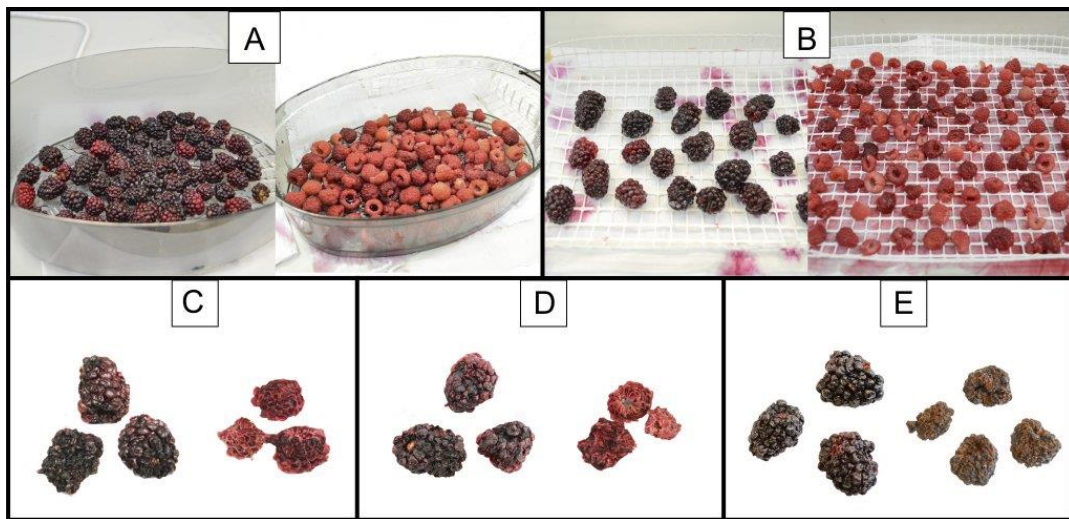
**Figura 6.** Moras (A) y frambuesas (B) liofilizadas.

### Secado en estufa

Previo al secado, la fruta se escaldó sobre vapor durante tres minutos (Figura 7A), luego se colocó en bandejas (Figura 7B) y se llevó a estufa. Las tres condiciones de temperatura y tiempo de secado fueron:

- a)  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas
- b)  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 20 horas
- c)  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2 horas

Las frutas deshidratadas en estufa (Figura 7 C-E) fueron molidas en molino de café y conservadas en bolsas plásticas a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

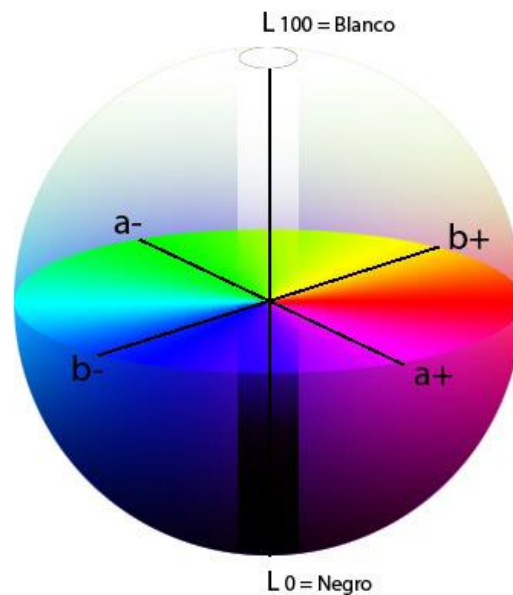


**Figura 7.** Proceso de obtención de moras y frambuesas deshidratadas en estufa. A: escaldado, B: bandejas para secado, C: fruta deshidratada a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 48 h, D: fruta deshidratada a  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 20 h y E: fruta deshidratada a:  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2 h. En todas las imágenes se observan mora a la izquierda y frambuesas a la derecha.

### 3. Estudio del efecto de diferentes métodos y condiciones de deshidratación sobre el color de mora y frambuesa

En las determinaciones de color de moras y frambuesas liofilizadas y deshidratadas a  $50$ ,  $65$  y  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$  se utilizó un espectrofotómetro de reflectancia CM-508d Minolta (Estados Unidos). Este equipo provee un valor específico de color basado en la cantidad de luz reflejada de la superficie de la muestra. Las mediciones se realizaron por cuadruplicado utilizando  $8\text{ mm}$  de apertura de la medición y un iluminador D65. El espectrofotómetro se calibró antes de cada ensayo con un plato estándar blanco. Como medida objetiva del color se utilizó el sistema Cie-Lab (C.I.E., 1986) (Figura 8), que define cada color a partir de tres coordenadas denominadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . Estas magnitudes son adimensionales y se definen en función del tipo de estímulo y del blanco de referencia para tratar de simular al observador real (Joshi & Brimelou 2002). La coordenada  $L^*$  recibe el nombre de luminosidad, y  $a^*$  y  $b^*$  son las coordenadas colorimétricas que forman un plano perpendicular a la luminosidad, siendo, a su vez, perpendiculares entre sí. El corte del eje  $L^*$  con el plano que forman  $a^*$  y  $b^*$  es el punto acromático. El valor  $a^*$  es una medida de la intensidad de color rojo (valores positivos) - verde (valores negativos), mientras que  $b^*$  es una medida de la intensidad de color amarillo (valores positivos) - azul (valores negativos). Los valores de  $L^*$  se encuentran en el

rango de 0 a 100, mientras que los de  $a^*$  y  $b^*$  varían entre -120 y 120, (Papadakis *et al.*, 2000).



**Figura 8.** Representación gráfica del espacio Cie-Lab

#### **4. Estudio del efecto de diferentes métodos y condiciones de deshidratación sobre el contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante de mora y frambuesa**

Se determinó el contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante de cada fruta deshidratada por liofilización y en estufa con circulación forzada de aire en las tres temperaturas seleccionadas; a fin de determinar aquella condición que conserve la mayor proporción dichos parámetros.

##### Extracción de compuesto antioxidantes

Para la obtención de los extractos de cada fruta deshidratada se analizaron varias mezclas de solvente según bibliografía (datos no mostrados), seleccionando la mezcla de solvente acetona: agua (70:30) con 0,01 % de HCl. En un tubo eppendorf se pesó la muestra y se agregó 1,5 ml de solvente. La cantidad de muestra utilizada fue de 50 mg para muestras liofilizadas y 500 mg para muestras deshidratadas en estufa. Luego se agitó en vórtex durante 5 minutos y se centrifugó a 14.000 g durante 5 minutos. El sobrenadante se recuperó, el pellet

se resuspendió con solvente y se repitió el proceso anterior totalizando 7 lavados. Los sobrenadantes se recolectaron y conservaron en freezer a -18 °C para su posterior análisis.

### Polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu de acuerdo a Prior *et al.*, (2005). Se colocan 100 µL de extracto, 1600 µL de agua, 250 µL de reactivo Folin-Ciocalteu 1:2 (Biopack) y 250 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20 % p/v y se dejó reaccionar 40 minutos en oscuridad. El blanco de reactivos se realizó reemplazando la muestra por agua destilada. Se determinó la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro (Jasco, UV-visible V730, Jasco Corporation, Japón). La determinación se llevó a cabo por duplicado y se utilizó como estándar ácido gálico monohidrato (27645 Sigma-Aldrich, Argentina) en un rango de concentración de 50 a 1,5 mg/100 mL. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de fruta deshidratada.

### Antocianinas

El contenido de antocianinas se determinó según el método de Giusti y Wrolstad (2001). Se colocaron en dos tubos un volumen determinado de muestra y se le adicionó a uno buffer cloruro de potasio 0,025 M pH 1 y al otro buffer acetato de sodio 0,4 M pH 4,5; en ambos tubos se midió la absorbancia a 520 y 700 nm en un espectrofotómetro (Jasco, UV-visible V730, Jasco Corporation, Japón). El grado de dilución de la muestra en cada buffer fue determinado en función de obtener un valor de absorbancia adecuado a 520 nm en el buffer de pH 1. Se realizó el blanco de reactivos reemplazando extracto por agua destilada.

El contenido de antocianinas se realizó por duplicado y se calculó de acuerdo a la ecuación 1 y se expresó como mg equivalentes de cianidin-3-glucósido (antociano mayoritario) en 100 g de fruta deshidratada.

Antocianinas monoméricas (mg/100g)=  $(A \times PM \times FD \times 10^5 \times Ve) / (\epsilon \times l \times Pm)$  **Ecuación 1**

Donde, A es la diferencia de absorbancias obtenidas a 520 y 700 nm en cada buffer  $[(A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4,5}]$ , PM es el peso molecular de cianidin-3-glucósido (449,2 g/mol), FD es el factor de dilución de la muestra, 10<sup>5</sup> es el factor de conversión, Ve es el volumen del extracto en mL, ε es el coeficiente de extinción molar en

$L \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$  para cianidin-3-glucósido (26900),  $l$  es el paso óptico en cm y  $P_m$  el peso de la muestra en mg.

### Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó a través de dos metodologías que permiten evaluar dos mecanismos diferentes de reacción: actividad antiradicalaria y poder reductor.

#### Determinación de actividad antiradicalaria.

La determinación de la actividad antiradicalaria se realizó de acuerdo al método del catión radical ABTS<sup>•</sup> (Re, *et al.*, 1999). Se preparó una solución 7 mM de ABTS [ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)] (A1888, Sigma Aldrich, Argentina) en agua. Para producir el radical catión ABTS (ABTS<sup>•+</sup>) se agregó una solución 2,45 mM de persulfato de potasio y se dejó reposar en oscuridad a 4 °C durante 12-16 horas. Luego se diluyó en la proporción adecuada hasta obtener una absorbancia de  $0,70 \pm 0,02$  a 734 nm, la cual fue registrada ( $A_i$ ) para determinar la caída de absorbancia en cada muestra.

Se colocó la muestra y 3 ml de ABTS<sup>•+</sup> e inmediatamente se comenzó a registrar la absorbancia a 734 nm durante 4 minutos en espectrofotometro (Jasco, UV-visible V730, Jasco Corporation, Japón). Al cabo de este tiempo la curva de descenso de la absorbancia alcanzó un plateau ( $A_f$ ). De esta manera se registró para cada muestra y cada concentración de estándar la caída de absorbancia ( $A_f - A_i$ ). Para construir la curva de calibración se utilizó Trolox (ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (238813, Sigma Aldrich, Argentina) como estándar en un rango de concentración de 0,002 a 1  $\mu\text{mol/mL}$  y agua para el blanco de reactivos. Cada determinación se realizó por duplicado. Los resultados se expresaron como  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox por gramo de fruta deshidratada.

#### Determinación del poder reductor.

La determinación del poder reductor se llevó a cabo por el método FRAP (Pulido *et al.*, 2000). El reactivo FRAP se preparó a partir de mezcla de 2,5 ml de TPTZ 10 mM [2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina] (T1253, Sigma Aldrich, Argentina) disuelto en HCl 40 mM, 2,5 ml de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  20 mM y 25 ml buffer acetato de sodio 300 mM pH 3,6.



Se colocó en un tubo 900  $\mu\text{L}$  de reactivo FRAP recién preparado, 90  $\mu\text{L}$  de agua destilada y 100  $\mu\text{L}$  de muestra, se agitó en vortex y se dejó reaccionar por 30 minutos. Posteriormente se midió la absorbancia a 595 nm en espectrofotómetro (Jasco, UV-visible V730, Jasco Corporation, Japón). El blanco de reactivos se realizó reemplazando el volumen de muestra por agua destilada. Como estándar se utilizó ácido gálico monohidrato (27645 Sigma Aldrich, Argentina) en un rango de concentración de 0,002 a 0,5 mg/mL. Cada determinación se realizó por duplicado. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de fruta deshidratada.

### 5. Elaboración de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa

Se elaboraron panes con 5% de sustitución de harina de trigo por mora y frambuesa mediante la metodología del pan de molde según Steffolanni *et al.* (2010) con modificaciones para elaborar panes precocidos. Se incorporaron tres tipos de frutas: liofilizadas, deshidratadas en estufa (seleccionada según el punto 4) y frescas.

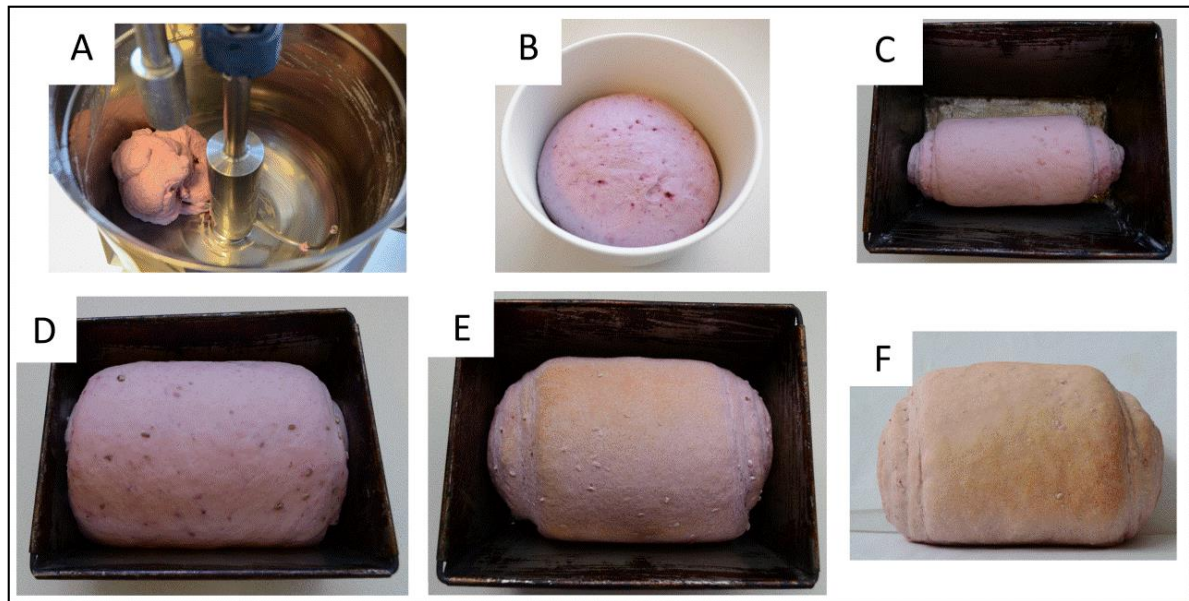
**Tabla I.** Formulación de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C

Ingredientes	Pan control	Pan con fruta fresca	Pan con fruta liofilizada	Pan con fruta deshidratada en estufa
Harina (g)	500	475	475	475
Agua (mL)	285	PMF:136 PFF:165	290	290
Levadura deshidratada (g)	5	5	5	5
Sal (g)	5	5	5	5
Azúcar (g)	12,5	12,5	12,5	12,5
Fruta fresca (g)	---	PMF:150 PFF:180	---	---
Fruta liofilizada (g)	---	---	25	---
Fruta deshidratada (g)	---	---	---	25

En el caso de los panes elaborados con incorporación de mora y frambuesa fresca, la cantidad de fruta agregada se calculó de modo que la cantidad los sólidos fueran equivalentes a los incorporados en los panes con fruta liofilizada y deshidratada en estufa. Del mismo modo, la cantidad de agua agregada se calculó teniendo en cuenta la aportada por cada fruta fresca.

### Descripción del proceso de panificación de pan de molde pre-cocido

En virtud de poder comparar la incorporación de fruta deshidratada con la fruta fresca, en este último caso se incorporó una mayor cantidad de fruta equivalente a los sólidos secos incorporados en las adiciones de fruta deshidratada (Tabla I). Se utilizó como muestra control pan sin sustitución (PC).



**Figura 9.** Elaboración de pan de molde pre-cocido con incorporación de mora y frambuesa A: amasado, B: pre-fermentación, C: armado, D: fermentación, E: pre-cocción, F: cocción.

**Amasado:** Se pesó la harina, se agregó la sal y el azúcar previamente disueltos y se amasó durante 10 segundos (amasadora Argental L-20, Argentina). Luego se agregó la levadura previamente disuelta, se amasó durante 30 segundos más e inmediatamente se agregó la cantidad restante de agua y se amasó hasta completar 7 minutos (Figura 9A). En el caso de las muestras con incorporación de fruta deshidratada y liofilizada, las mismas se mezclaron con la harina antes de agregar el resto de los ingredientes. Mientras que, en el caso de la incorporación de fruta fresca, la misma se incorporó durante el amasado con una fracción menor de agua. La temperatura del agua fue de entre 22 y 23 °C para que la temperatura de la masa al final del amasado alcance 27 °C.

**Pre-fermentación:** se llevó la masa a una cámara de fermentación a 30 °C y 98% de humedad relativa (HR) durante 45 minutos. Al cabo de ese tiempo la masa se desgasificó en forma manual y se colocó nuevamente en la cámara de fermentación durante 15 minutos. Se

realizó una segunda desgasificación manual y se colocó la masa en la cámara de fermentación durante 20 minutos adicionales (Figura 9B).

Sobado, armado y fermentación: la masa se laminó en una sobadora (Mi-Pan vroller - Mi-Pan, Córdoba, Argentina), se cortó en porciones de 180 g y se colocaron en una armadora (Braesa, Brasil). Inmediatamente fueron dispuestos en moldes y se llevaron a la cámara de fermentación por 75 minutos a 30 °C y 98% HR (Figura 9 C y D).

Pre-cocción y congelado: Una vez finalizada la fermentación, los panes se precocieron en un horno convector (Beta 107 IPA – Pauna, Buenos Aires, Argentina) a 210 °C durante 8 minutos, tiempo necesario para lograr el seteo del producto (Figura 9E). Luego se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 90 minutos, se envasaron en bolsas de polietileno y se conservaron a -18 °C. Al cabo de 4 días de conservación, los panes se descongelaron a 30 °C durante 1 hora en la cámara de fermentación y se cocieron.

Cocción: El proceso de cocción se realizó en un horno convector (Beta 107 IPA – Pauna, Buenos Aires, Argentina) a 210 °C durante 5 minutos. Finalizada la cocción, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 1 hora antes de ser evaluadas (Figura 9F). Los panes destinados al ensayo de velocidad de endurecimiento se volvieron a envasar en bolsas de polietileno y se almacenaron a temperatura ambiente.

Cada panificación se realizó por duplicado y de cada una se obtuvieron 4 piezas de pan.

## **6. Estudio del efecto de la incorporación de mora y frambuesa sobre la calidad tecnológica de pan de molde**

### Volumen específico

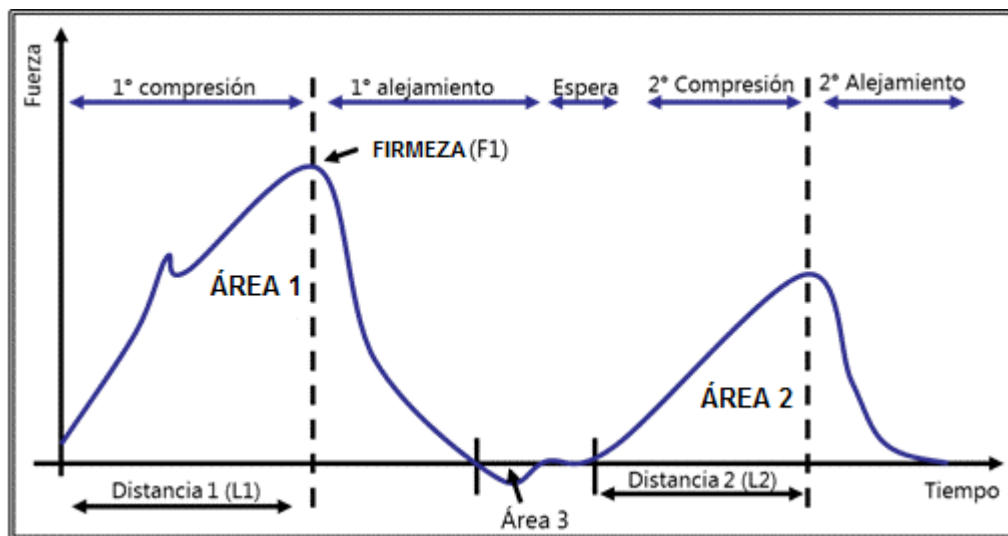
El volumen específico (VE) de los panes elaborados se determinó por desplazamiento de semillas de colza y se calculó según la ecuación 2.

$$\text{VE (cm}^3\text{/g)} = \text{volumen de la muestra (cm}^3\text{)} / \text{peso de la muestra (g)} \quad \textbf{Ecuación 2}$$

### Perfil de textura

Los principales parámetros de textura se determinaron mediante perfil de análisis de textura (TPA) sobre rodajas de pan de 2,5 cm de espesor (por duplicado), usando un texturómetro TA.CT2i (Stable Microsystems, Surrey, Reino Unido). El centro de cada rodaja de pan se sometió a dos ciclos de compresión - descompresión hasta el 40% (Figura 10) a partir del cual se obtuvieron los siguientes parámetros:

- Firmeza o dureza (F1): fuerza necesaria para comprimir la rodaja de pan hasta un 40% del espesor original. Se asocia a la fuerza requerida para comprimir la muestra entre los molares o entre la lengua y el paladar.
- Adhesividad (área 3): energía necesaria para despegar la sonda de compresión del pan. Se asocia a la energía necesaria para despegar la muestra del paladar.
- Cohesividad (área 2 / área 1): cociente entre el área bajo la curva de la segunda compresión y el área bajo la curva de la primera compresión. Representa la fuerza con la que están unidas las partículas de la muestra.
- Masticabilidad: producto de la firmeza, cohesividad y elasticidad. Representa la energía necesaria para desintegrar un alimento hasta ser deglutido.



**Figura 10.** Curva característica de análisis de perfil de textura.

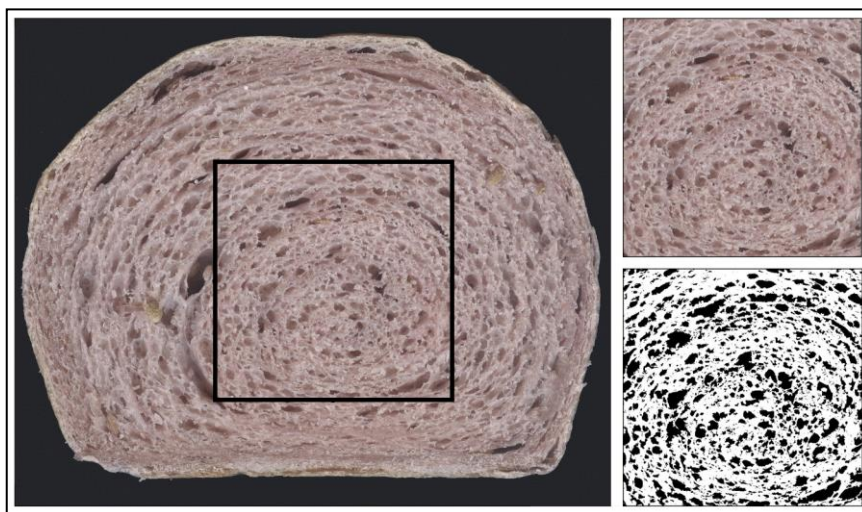
### Color de la miga y de la corteza

Las determinaciones de color de la miga y la corteza de los panes elaborados con mora y frambuesa se llevaron a cabo de la misma manera que la detallada en el punto 3 para el estudio del color de las frutas deshidratadas en diferentes condiciones.

### Estructura de la miga

Se realizó la caracterización de la estructura de la miga por medio de análisis de imágenes mediante software ImageJ 1.48v (National Institutes of Health, Estados Unidos) sobre la imagen escaneada en formato JPEG (HP Scanjet G3010, Palo Alto CA, Estados Unidos) de dos rodajas de 2,5 cm de espesor. Se analizó un área de la parte central de la rodaja estandarizada para todos los panes (Figura 11). La imagen en color se convirtió a 8 bits y se analizó en escala de grises (0 negro, 255 blanco). La segmentación de la imagen (conversión a imagen binaria) se hizo por selección automática del valor del umbral. La imagen binaria tiene sólo dos niveles de grises: 0 para las áreas vacías (negro, alveolos de gas) y 255 para las paredes de los alveolos (blanco, miga de pan) (Figura 11). Se asignó la categoría de objeto (celdas de gas) a aquellas zonas de la imagen que tenían una intensidad de gris entre 0 y el valor umbral que correspondiera a cada imagen. De esta manera se calcularon los siguientes parámetros:

- Número de alvéolos: cantidad de alvéolos por unidad de superficie de miga de pan.
- Tamaño promedio de cada alvéolo: el área de un alvéolo = número de píxeles que hacen al alvéolo multiplicado por el área de un píxel.
- Fracción de área de alvéolos: es el porcentaje del área total que corresponde al área ocupada por alvéolos. Relación entre el área total ocupada por alvéolos y el área total seleccionada.
- Uniformidad: es la relación entre el número de alvéolos menores a  $4 \text{ mm}^2$  y el número de alvéolos mayores a  $4 \text{ mm}^2$ .



**Figura 11.** Análisis de imágenes de rodaja de pan para evaluación de la estructura de la miga.

## **7. Estudio del efecto de la incorporación de mora y frambuesa sobre la velocidad de endurecimiento de la miga de pan de molde durante el almacenamiento**

Para determinar la velocidad de endurecimiento de la miga de los panes elaborados, se determinó la firmeza (según el punto 6) a los panes recién horneados y almacenados 24, 72 y 96 horas y se calculó la pendiente de cambio de este parámetro. Esta determinación se realizó por duplicado.

## **8. Estudio de la evolución del contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante durante la elaboración y almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa**

Las etapas del proceso de panificación evaluadas fueron:

- Mezclado de harina y fruta
- Amasado
- Inicio de fermentación: muestra tomada al finalizar la primera desgasificación
- Etapa intermedia de fermentación: muestra tomada antes del armado
- Final de la fermentación
- Cocción: muestra tomada al finalizar la cocción, luego del enfriado durante 1 hora.

Adicionalmente, se analizaron los panes almacenados durante 24, 72 y 96 horas.

### Preparación de extractos

Las muestras de harina con incorporación de mora y frambuesa, masa y pan obtenidas durante el procesamiento y almacenamiento fueron conservadas a -80 °C y posteriormente liofilizadas, molidas y conservadas a -18 °C hasta su análisis. Los extractos se realizaron de acuerdo a lo explicado anteriormente en el punto 4. La cantidad de muestra utilizada para el pan con fruta fresca y liofilizada fue de 200 mg y para el pan con fruta deshidratada a 65 °C fue de 800 mg.

### Determinación de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante

Las determinaciones de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante se llevaron a cabo de la misma manera que la detallada en el punto 4 en la evaluación de las frutas deshidratadas en diferentes condiciones.

### **9. Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos se analizaron mediante el Software estadístico INFOSTAT (Di Rienzo *et. al.*, 2012). Los resultados obtenidos se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de las medias se realizó mediante el test de DGC (Di Rienzo *et al.*, 2002) con un nivel de significancia de 0,05.

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



# **CAPÍTULO 1**

## **Obtención y caracterización de mora y frambuesa deshidratada**

## Caracterización química de mora y frambuesa

En la Tabla II se muestran los resultados correspondientes a la composición centesimal de mora y frambuesa (IQF) utilizadas en el presente trabajo.

**Tabla II.** Composición centesimal de mora Boysen y frambuesa.

	Mora Boysen	Frambuesa
Agua (g/100 g fruta fresca)	83,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	85,8 ± 0,4 <sup>b</sup>
Minerales (g/100 g fruta fresca)	1,64 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,68 ± 0,031 <sup>a</sup>
Proteínas (g/100 g fruta fresca)	3,60 ± 0,05 <sup>a</sup>	4,65 ± 0,06 <sup>b</sup>
Lípidos (g/100 g fruta fresca)	Nd	Nd
Carbohidratos (g/100 g fruta fresca)	11,8±0,5	7,9 ± 0,5

Dentro de una misma fila, valores con letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Nd: no detectable.

Tal como se puede apreciar en la Tabla II, la frambuesa presentó un mayor contenido de agua y de proteínas, lo que deriva en una menor proporción de carbohidratos comparado con los valores observados en la mora. El contenido de minerales determinado como el contenido de cenizas no presentó diferencias significativas. Estos valores están de acuerdo a los reportados por el departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2017), frecuentemente utilizado como valor de referencia.

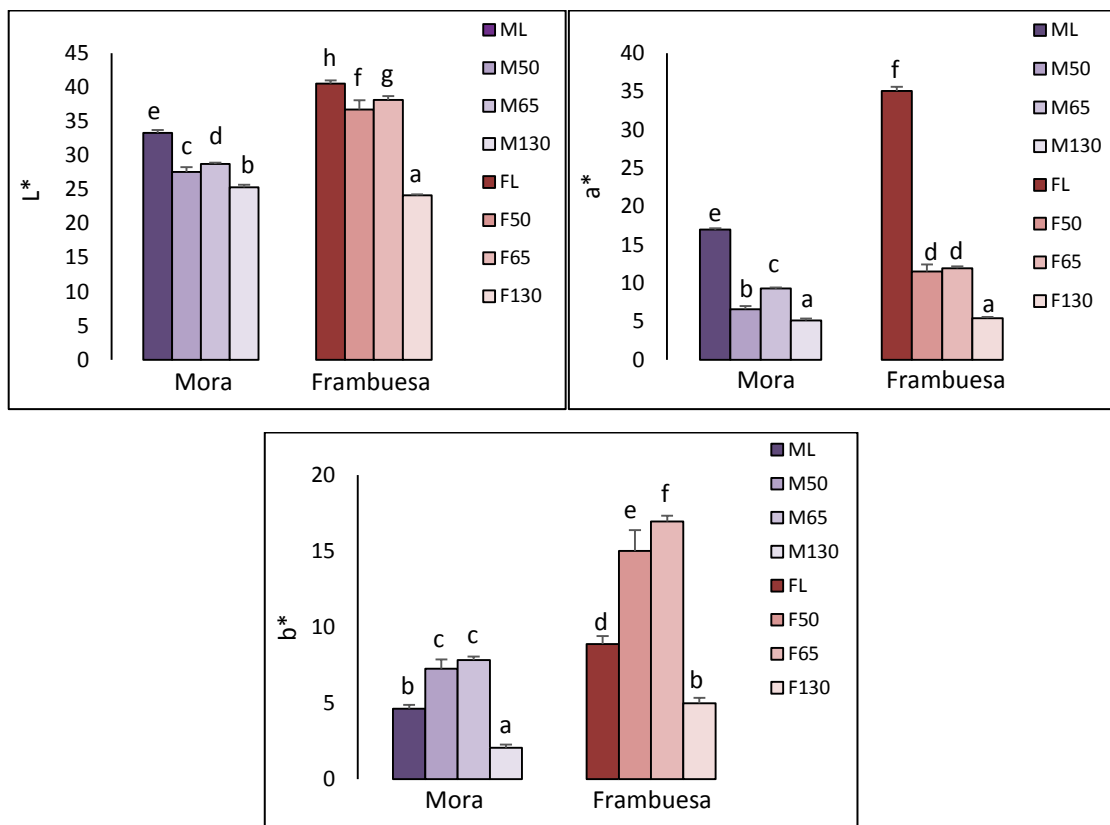
### Evaluación del efecto de diferentes métodos y condiciones de deshidratación sobre el color de mora y frambuesa

El color y la apariencia de los frutos rojos ha sido frecuentemente asociado a valores altos de aceptabilidad en relación a colores más intensos o bien a un alto contenido de antocianinas (Barrett *et al.*, 2010; Laaksonen *et al.*, 2016). La Figura 12 muestra los valores de los parámetros de color L\*, a\* y b\* de moras y frambuesas deshidratadas por diferentes métodos y en diferentes condiciones.

El parámetro L\* es una medida de la luminosidad de las muestras analizadas. El rango de valores de este parámetro va de 0 (negro) a 100 (blanco). Los valores de L\* disminuyeron, con el aumento de la temperatura de deshidratación, siendo siempre mayores los valores para frambuesa dentro de una misma condición ( $p < 0,05$ ). A partir de los resultados se puede observar que las frutas liofilizadas poseen los máximos valores de L\* seguidos por aquellas

deshidratadas a 65 °C y 50 °C con valores muy similares, mientras que aquellas expuestas a temperaturas mayores a 130 °C presentaron los menores valores de L\* ( $p < 0,05$ ).

El parámetro  $a^*$  puede alcanzar valores negativos correspondientes al color verde y valores positivos correspondiente al color rojo. Todas las muestras presentaron valores de  $a^*$  positivos, lo que indicó que la coloración de las frutas fue principalmente roja. Este parámetro fue el más afectado, tanto para mora como para frambuesa (figura 12). Al igual que para L\*, las frutas liofilizadas presentaron los mayores valores de  $a^*$ , mientras que las frutas tratadas a 50 °C y 65 °C presentaron valores similares, siendo significativamente menores en las primeras, probablemente porque el tiempo de exposición fue más del doble. En este sentido, también se observaron valores mínimos de  $a^*$  para las frutas deshidratadas a 130 °C.



**Figura 12.** Parámetros de color L\*,  $a^*$  y  $b^*$  de mora (M) y frambuesa (F) deshidratada por liofilización (L), a 50 °C (50), a 65 °C (65) y a 130 °C (130).

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ )

Estos resultados ponen en evidencia que las condiciones elegidas para deshidratar las frutas son las responsables de los cambios de color de las mismas, más allá de las particularidades de cada especie analizada. Al mismo tiempo, queda claro que la decoloración y el pardeamiento que tiene lugar durante la deshidratación de las frutas puede resultar en una

serie de reacciones que provocan la destrucción de los pigmentos antocianicos, responsables de la coloración de este tipo de frutos (Sablani *et al.*, 2010).

Debido a que tanto la mora como la frambuesa poseen color púrpura o rojo, el parámetro  $b^*$  (valores negativos correspondientes al color azul y valores positivos correspondiente al color amarillo) fue el menos afectado, siendo las frutas deshidratadas a 130 °C las que presentaron los menores valores. En este sentido, la frambuesa presentó, dentro de cada condición, valores de  $b^*$  mayores a los de mora ( $p < 0,05$ ).

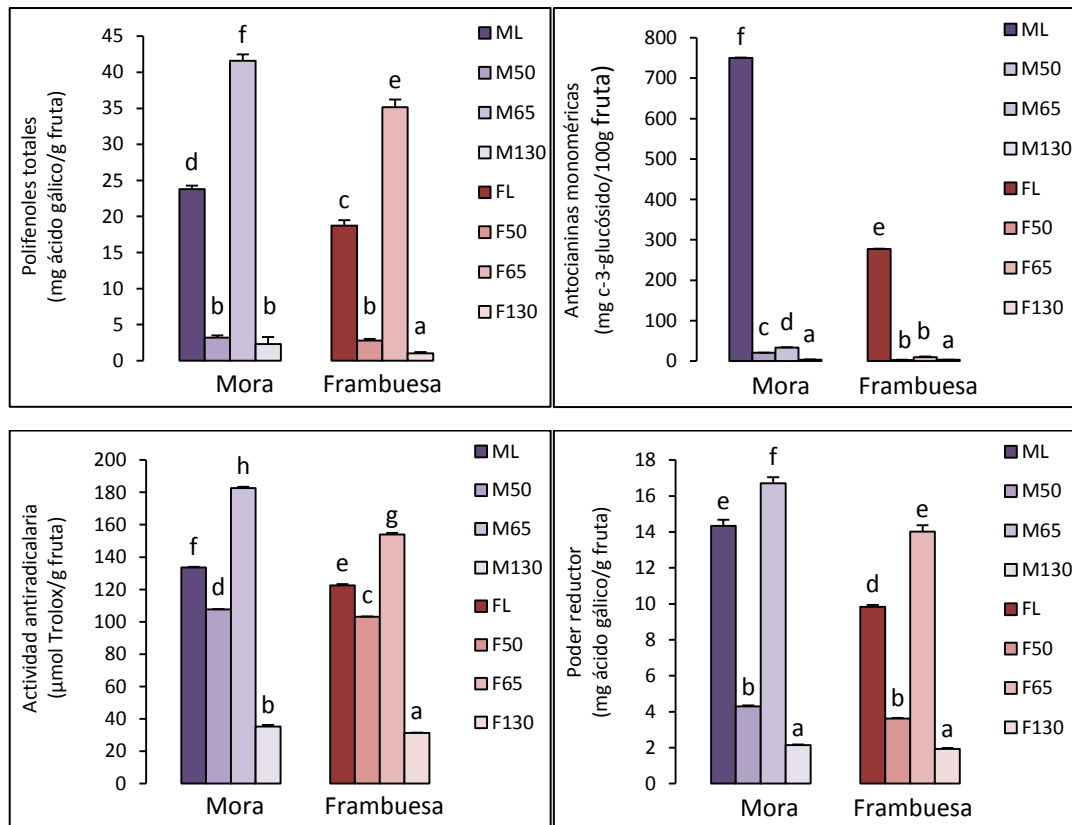
### **Evaluación del efecto de diferentes métodos y condiciones de deshidratación sobre el contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante de mora y frambuesa**

En virtud de escoger la condición de deshidratación en estufa con circulación forzada de aire que conserve el máximo potencial antioxidante de las frutas seleccionadas, se probaron 3 temperaturas y tiempos: 50 °C durante 48 horas, 65 °C durante 20 horas y 130 °C durante 2 horas. Además, una porción de cada una de las frutas se liofilizó y fue analizada como referencia, por ser éste un método reconocido por conservar sin importantes modificaciones las características de este tipo de frutos (Karam *et al.*, 2016).

En la Figura 13 se muestra el contenido de polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante de las frutas deshidratadas, donde se evidencia que el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante aumentaron o disminuyeron en función de las condiciones de deshidratación y de la especie de fruta evaluada.

En las frutas expuestas a 50 °C se observó una disminución significativa del contenido de polifenoles, debido probablemente al gran tiempo de exposición (48 horas), lo que lleva a la degradación de compuestos bioactivos y por tanto una disminución marcada en ambos mecanismos de acción antioxidante (Figura 13) tal como han expuesto otros autores (Arancibia-Avila *et al.*, 2012; Sablani *et al.*, 2011). La deshidratación a 65 °C permitió la obtención de moras y frambuesas con el mayor contenido de polifenoles totales, poder reductor y actividad antiradicalaria ( $p < 0,05$ ) (Figura 13). El contenido de polifenoles en las frutas deshidratadas a 65 °C fue mayor al obtenido en las frutas liofilizadas, lo que indica que en condiciones de mayor temperatura del aire de secado y menor tiempo (20 horas) de exposición respecto a la deshidratación a 50 °C, se generan compuestos capaces de reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu, sustancias reductoras y compuestos nitrogenados (Escarpa *et al.*, 2001; Michalska *et al.*, 2016). Esto significa que el aumento observado en el contenido de polifenoles podría deberse a estas reacciones de oxidación o a la conversión de

di o tri fenoles en mono fenoles (Bennett *et al.*, 2011) tal como se ha documentado en otros estudios similares con uva (Chamorro *et al.*, 2012; Khanal *et al.*, 2009; Ross *et al.*, 2011), arándano (Whitte *et al.*, 2010) y avellana (González *et al.*, 2010).



**Figura 13.** Contenido de polifenoles totales, antocianinas, actividad antiradicalaria y poder reductor de mora (M) y frambuesa (F) deshidratadas por liofilización (L), a 50 °C (50), a 65 °C (65) y a 130 °C (130).

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ )

Por otro lado, el aumento de la temperatura de deshidratación de moras y frambuesas hasta 130 °C generó condiciones que probablemente dieron lugar a la degradación de polifenoles, generación de compuestos de Maillard y destrucción incluso de gran parte de los compuestos capaces de reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu. Como resultado se obtuvieron moras y frambuesas con una retención del 10% y 4% de polifenoles totales respecto de las frutas liofilizadas, respectivamente (Figura 13).

La deshidratación en estufa con circulación de aire por convección a las tres temperaturas ensayadas provocó una disminución significativa del contenido de antocianinas con respecto a la fruta liofilizada ( $p < 0,05$ ) (Figura 13). En este sentido, el empleo de temperaturas de secado de 50 °C o 65 °C generó una gran disminución respecto de la fruta

liofilizada, mientras que con la deshidratación a 130 °C prácticamente no se detectaron antocianinas. Estos resultados confirman que los compuestos antociánicos son muy susceptibles a la degradación térmica y que el grado de pérdida de dichos compuestos dependió, además, de la especie evaluada en concordancia con lo expuesto por Karam *et al.* (2016).

Es importante remarcar que en todos los parámetros analizados los valores obtenidos en mora fueron mayores que en frambuesa ( $p < 0,05$ ). Probablemente estos resultados están asociados al color azulado intenso que posee la mora, lo que frecuentemente se relaciona con un mayor contenido de compuestos bioactivos (Arancibia-Ávila *et al.*, 2012).

Estos resultados ponen en evidencia que es posible obtener mora y frambuesa deshidratada con una importante conservación de sus componentes bioactivos y de sus características a través de la deshidratación en estufa a temperaturas intermedias (50 °C o 65 °C). A pesar de las pérdidas observadas en el contenido de antocianinas, el uso de esta metodología de deshidratación se justifica por ser más simple y económica que la liofilización.

## **CAPÍTULO 2**

# **Efecto de la incorporación de mora y frambuesa deshidratada sobre la calidad tecnológica de pan de molde**

## **Estudio del efecto de la incorporación de mora y frambuesa sobre la calidad tecnológica de pan de molde.**

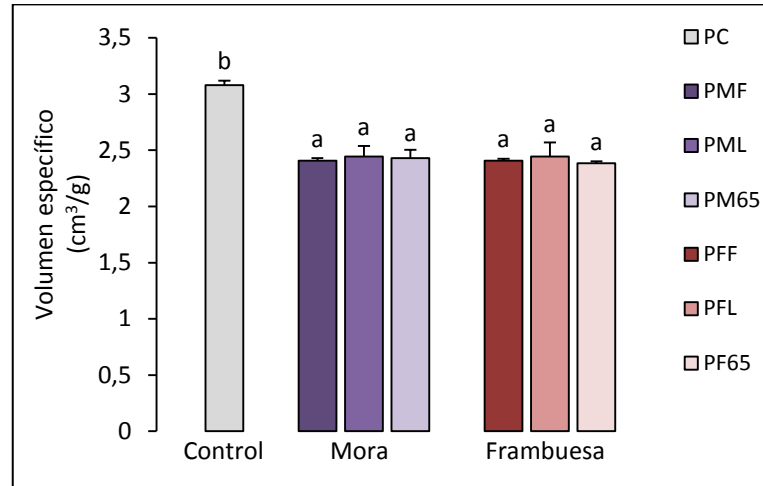
Con el objetivo de evaluar la calidad tecnológica de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa deshidratadas, se elaboraron panes pre-cocidos con 5% de sustitución de harina de trigo por fruta en tres condiciones: descongelada (denominada fruta fresca), liofilizada y deshidratada a 65 °C durante 20 horas. Ésta última condición se seleccionó en función de los resultados obtenidos en el capítulo anterior, donde se observó un aumento del contenido de polifenoles y de la capacidad antioxidante.

El pan es un producto complejo que se obtiene como resultado de una suma de interacciones entre los principales constituyentes de la harina de trigo. La textura del pan no sólo se relaciona con su aceptabilidad, sino que es el resultado del desarrollo de una red de gluten con la proporción de elasticidad y extensibilidad apropiada para permitir la generación de celdas de gas capaces de retener el dióxido de carbono producido durante la fermentación y la expansión de las piezas en el horneado. En este sentido, un pan recién horneado de buena calidad posee una corteza dura al tacto, pero se quiebra rápidamente cuando se trata de doblarla. Se dice entonces que la corteza de pan tiene que ser crujiente al morder. Por el contrario, la miga de pan posee una estructura porosa y aireada, en la cual, las celdas (alveolos) de aire se encuentran interconectadas (Cauvain *et al.*, 2000) mediante una matriz sólida constituida por gluten-almidón. En un producto de buena calidad, la miga se caracteriza por ser esponjosa, suave y elástica, mientras que una elevada firmeza y masticabilidad determinan una baja calidad del pan. El estudio de la calidad tecnológica de pan de molde con agregado de fruta en sus tres condiciones cobra aún más importancia porque los componentes de las frutas también podrían interactuar con los componentes de la harina y afectar el desarrollo de la red gluten y por lo tanto la calidad del producto obtenido.

### Volumen específico

El primer parámetro de calidad evaluado en los panes con incorporación de fruta fue el volumen específico. Se observó que el agregado de fruta en cualquiera de sus formas generó una disminución de entre el 20 y el 23% del volumen específico de las piezas de pan respecto a la muestra control ( $p < 0,05$ ), sin diferencias significativas entre aquellos panes elaborados con fruta deshidratada o con fruta fresca (Figura 14).





**Figura 14.** Volumen específico de pan de molde con incorporación de mora (M) y frambuesa (F) en tres condiciones: fresca (F), liofilizada (L) y deshidratada a 65 °C.

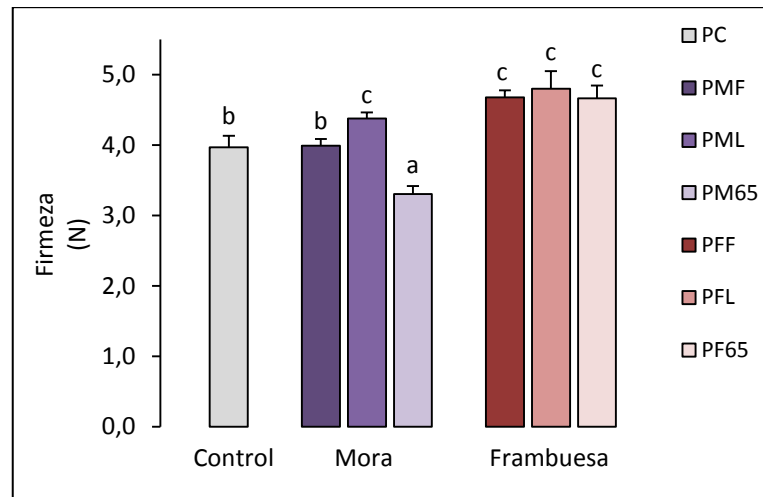
PC: pan control. Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Esta disminución en el volumen específico observada se explica por la sustitución de harina por 5 % de fruta, lo que disminuye la proporción de proteína para desarrollar la red de gluten. Además, otros autores han reportado que la presencia de polifenoles y pectinas aportadas por los frutos rojos modifica la estructura secundaria de las proteínas promoviendo su agregación y por lo tanto disminuyendo el volumen de la pieza de pan (Sivam *et al.*, 2011; 2013).

### Perfil de textura

Los principales parámetros de textura de los panes elaborados se analizaron a través de la determinación de la firmeza, cohesividad, masticabilidad y adhesividad de las muestras.

Tanto la firmeza como la masticabilidad de la miga del pan son las características cualitativas más comúnmente analizadas, ya que se correlacionan fuertemente con la percepción de la frescura del producto por los consumidores (Faridi *et al.*, 1990)



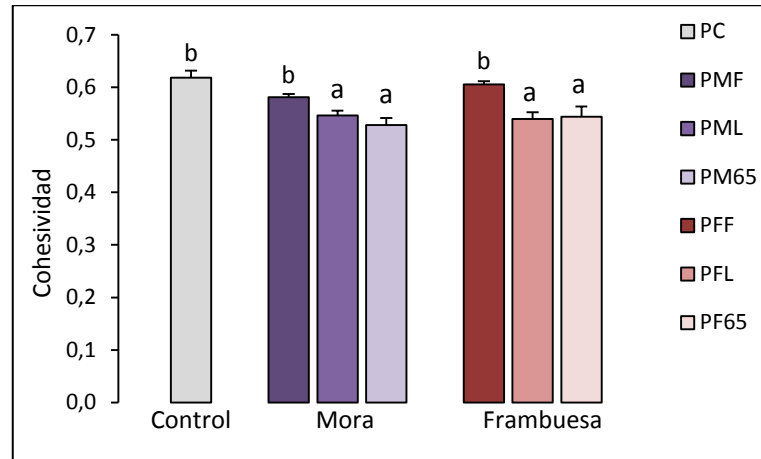
**Figura 15.** Firmeza de la miga de pan de molde con incorporación de mora (M) y frambuesa (F) en tres condiciones: fresca (F), liofilizada (L) y deshidratada a 65 °C (65).

PC: Pan control. Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

En la evaluación de la firmeza de los panes enriquecidos con fruta no se observó un claro efecto respecto de la condición en la que las frutas fueron incorporadas (frescas, liofilizadas o deshidratadas a 65 °C), pero sí existió un efecto vinculado a la especie, siendo los panes con frambuesa los que presentaron los mayores valores. En este sentido, los panes con incorporación de mora liofilizada (PML) y, frambuesa en todas las condiciones ensayadas, presentaron un aumento significativo de la firmeza respecto del control ( $p < 0,05$ ), mientras que la incorporación de mora fresca no generó modificaciones en la firmeza (Figura 15). Por otro lado, los panes con mora deshidratada a 65 °C (PM65) presentaron una disminución del 16% de la firmeza respecto al control ( $p < 0,05$ ), lo cual constituye una mejora de este atributo.

El detrimento observado en el volumen específico del pan fue importante, pero el efecto sobre la firmeza de la miga fue leve, indicando que si bien el volumen disminuye, probablemente esto no impacta de manera importante en la firmeza de los panes. Esto puede deberse a que la fruta incorporada en los panes genera que los mismos posean una humedad mayor, lo cual disminuye la firmeza en concordancia con lo observado por Sun-Waterhouse *et al.*, (2011). La redistribución del agua entre el almidón, gluten y los componentes incorporados con la fruta, tales como polifenoles y pectinas pueden afectar no sólo la estructura secundaria de las proteínas sino también la movilidad del agua, la cual se mantiene más retenida, dando lugar a las diferencias observadas en los valores de firmeza (Sivam *et al.*, 2013).

Las muestras con incorporación de mora (PMF) o frambuesa frescas (PFF) presentaron una cohesividad comparable a la del control ( $p>0,05$ ), mientras que las muestras con incorporación de fruta deshidratada tanto liofilizada como deshidratadas a 65 °C presentaron una disminución significativa respecto del control ( $p<0,05$ ), sin diferencias entre ellas (Figura 16).

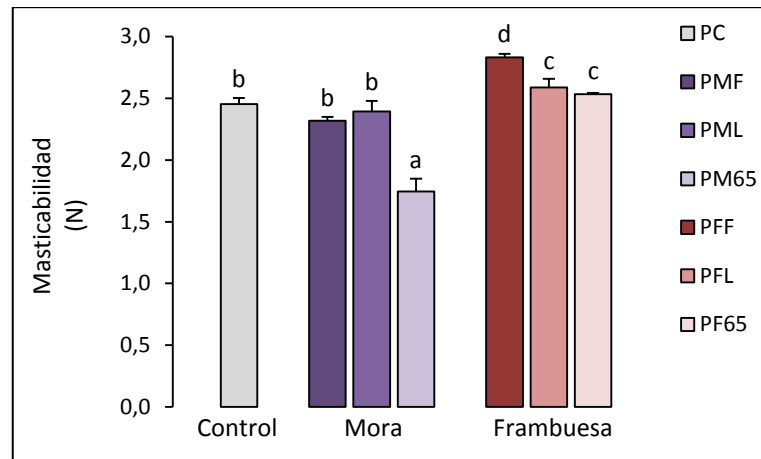


**Figura 16.** Cohesividad de la miga de pan de molde con de mora (M) y frambuesa (F) en tres condiciones: fresca (F), liofilizada (L) y deshidratada a 65 °C (65).

PC: Pan control. Letras distintas indican diferencia significativa ( $p<0,05$ ).

La cohesividad del pan indica qué tan bien soporta el producto una segunda deformación en relación a su comportamiento bajo la primera deformación (Bourne, 2002). La disminución significativa en la cohesividad como resultado del agregado de fruta puede deberse a la interacción de los polifenoles y pectinas con las proteínas descripta anteriormente (Sui et al., 2016; Swieca *et al.*, 2014).

En la Figura 17 se muestran los resultados obtenidos para la masticabilidad de los panes elaborados con incorporación de fruta. Puede observarse que la incorporación de mora deshidratada a 65 °C generó panes con una disminución importante de la masticabilidad ( $p<0,05$ ) mientras que no se observaron cambios respecto del control con el agregado de esta misma fruta fresca o liofilizada ( $p>0,05$ ). Sin embargo, se observó que la masticabilidad de los panes con incorporación de frambuesa fue significativamente mayor que la del control ( $p<0,05$ ). Debido a que la masticabilidad está directamente relacionada a la firmeza, la cohesividad y elasticidad, la tendencia descripta responde, en los panes con mora a las diferencias en la firmeza (ya que los valores de cohesividad fueron muy similares), y en los panes con frambuesa a la tendencia observada en los valores de cohesividad (ya que la firmeza no varió entre las muestras).

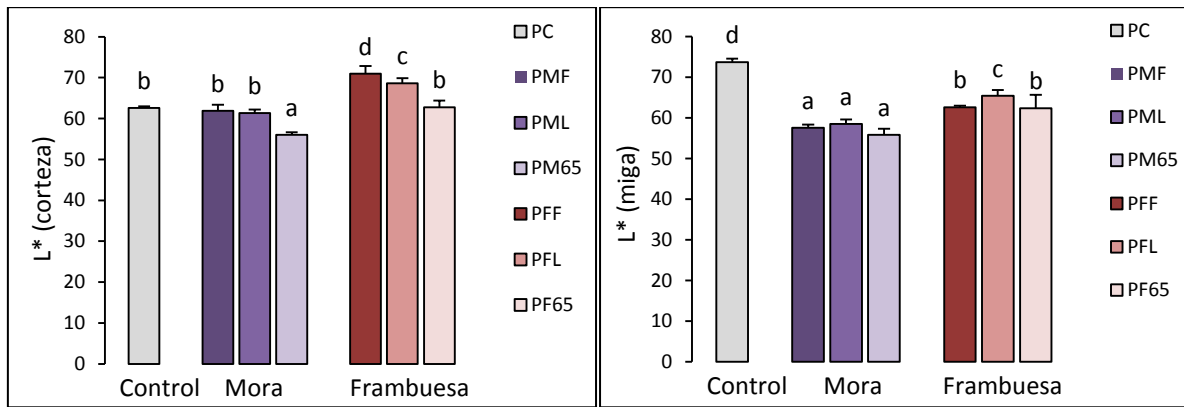


**Figura 17.** Masticabilidad de la miga de pan de molde con incorporación de mora (M) y frambuesa (F) en tres condiciones: fresca (F), liofilizada (L) y deshidratada a 65 °C (65). PC: Pan control. Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

En el ensayo de perfil de textura realizado en las muestras se calculó la adhesividad, obteniéndose valores entre 0,00025 J y 0,00060 J, los cuales se encuentran por debajo del límite de confiabilidad del texturómetro utilizado, razón por la cual se consideró que los panes no presentaron una adhesividad considerable o que la misma no se ve influenciada por la incorporación de fruta.

#### Color de la miga y la corteza

Además del sabor y la textura, el color también interviene de manera notable en la percepción global de la calidad del pan (Gellynck *et al.*, 2009). En general, la corteza se caracteriza por tener baja humedad y un color oscuro, el cual es producido principalmente por las reacciones de Maillard. Es importante determinar si el desarrollo de color ocasionado por estas reacciones durante el horneado es capaz de enmascarar el color aportado por las frutas en la corteza. Por otro lado, como en la miga las reacciones de Maillard no ocurren, también es importante determinar el impacto que la fruta tiene sobre el color de la misma. En las Figuras 17, 18 y 19 se muestran los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de las cortezas y migas de los panes con incorporación de mora y frambuesa.



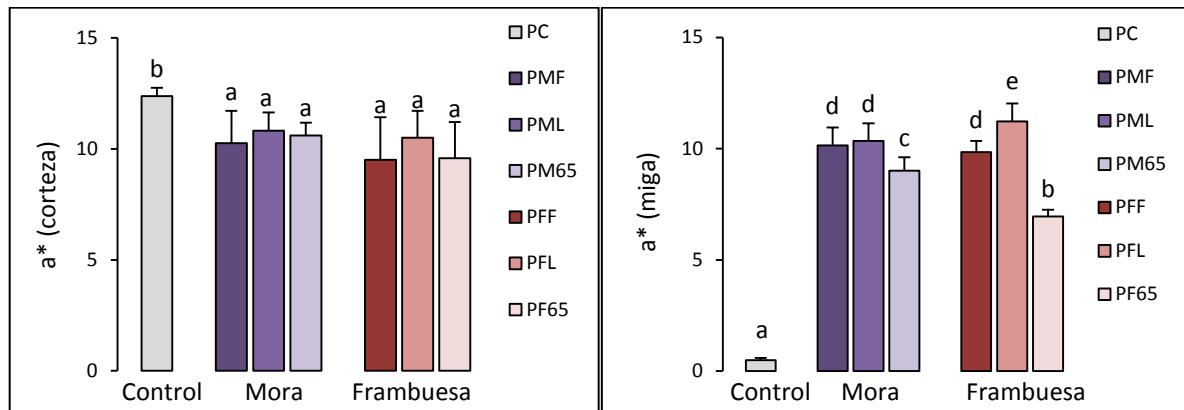
**Figura 18.** Parámetro de color L\* de la corteza (a la izquierda) y miga (a la derecha) de pan de molde con incorporación de mora (M) y frambuesa (F) en tres condiciones: fresca (F), liofilizada (L) y deshidratada a 65 °C (65).

PC: Pan control. Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

La corteza de los panes de molde elaborados con mora deshidratada a 65 °C presentaron menores valores de L\* respecto del control, indicando una disminución de la luminosidad; mientras que al incorporar mora fresca o liofilizada no se observaron diferencias. Por otro lado, al incorporar frambuesa el orden decreciente de la luminosidad de la corteza de los panes fue  $PMF > PML > PF65 = PC$  ( $p < 0,05$ ) (Figura 18). La evaluación de color de la miga de pan de molde evidenció que la incorporación de fruta genera panes con migas significativamente menos luminosas que el control ( $p < 0,05$ ), sin importantes diferencias entre fruta fresca, liofilizada o deshidratada a 65 °C, pero con una disminución más pronunciada en el caso de las muestras con mora (Figura 18). Esto responde al hecho que las moras son frutas más oscuras que las frambuesas lo que se refleja en el color de los panes a los que son incorporadas.

Respecto del análisis de la variación del parámetro a\* (valores negativos correspondientes al color verde y positivos al color rojo) de la corteza de los panes elaborados con fruta, los valores del mismo disminuyeron respecto del control en todas las muestras (Figura 19). Esto probablemente se debe a que la coloración generada por la reacción de Maillard durante el horneado enmascara el color aportado por las frutas. En la miga de pan, donde la temperatura alcanzada es menor y donde las características de la matriz del alimento no permiten que tenga lugar la reacción de pardeamiento, el parámetro a\* aumentó significativamente por la incorporación de mora y frambuesa, lo que indica que se obtuvieron migas más rojizas que la del control. En este sentido, el agregado de ambas frutas frescas o liofilizadas provocaron el mayor aumento a\* en los panes elaborados, mientras que con el agregado de ambas frutas deshidratadas a 65 °C el aumento fue mucho menor, particularmente

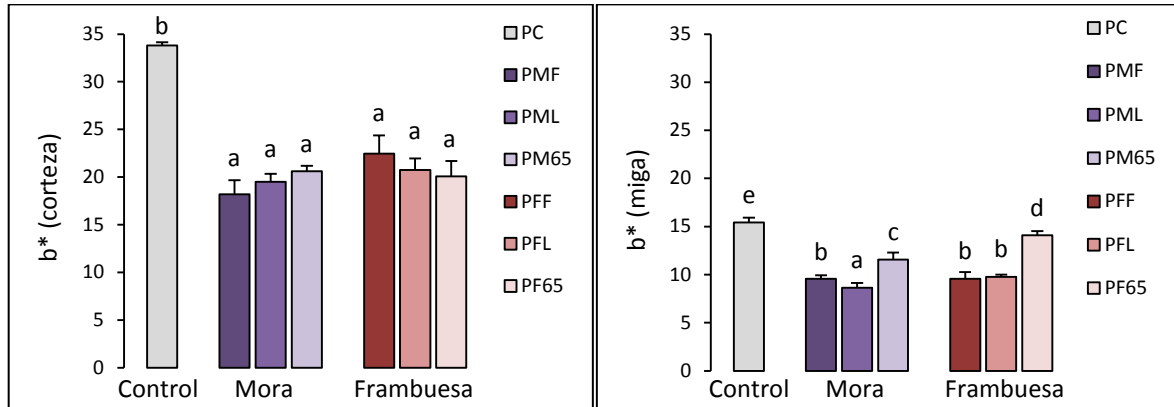
en el caso de la frambuesa (Figura 19). Esto puede explicarse de acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis del contenido de antocianinas monoméricas en las frutas deshidratadas en estufa a 65 °C (Figura 13), en las cuales se observó una gran pérdida de estos compuestos, responsables del color de las frutas. Los bajos valores de  $a^*$  de la fruta deshidratada en estufa a 65 °C comparada con la fruta liofilizada (Figura 12) también pueden explicar los valores de  $a^*$  medidos en la miga.



**Figura 19.** Parámetro de color  $a^*$  de la corteza (a la izquierda) y miga (a la derecha) de pan de molde con incorporación de mora (M) y frambuesa (F) en tres condiciones: fresca (F), liofilizada (L) y deshidratada a 65 °C (65).

PC: Pan control. Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Finalmente, se analizó el parámetro  $b^*$  (valores negativos correspondientes al color azul y positivos al color amarillo) de los panes con incorporación de mora y frambuesa. Se observó una disminución significativa del valor  $b^*$  respecto del control ( $p < 0,05$ ) en todas las muestras evaluadas, tanto en la corteza como en la miga (Figura 20). Sin embargo, es importante destacar que la incorporación de ambas frutas deshidratadas a 65 °C produjeron las menores disminuciones de  $b^*$  en la miga, probablemente debido a la generación de compuestos amarillentos durante el propio secado de la fruta (Cortés *et al.*, 2008; Jangam *et al.*, 2010), tal como se evidenció en la caracterización de estas frutas en el Capítulo 1.



**Figura 20.** Parámetro de color  $b^*$  de la corteza (a la izquierda) y miga (a la derecha) de pan de molde con incorporación de mora (M) y frambuesa (F) en tres condiciones: fresca (F), liofilizada (L) y deshidratada a 65 °C (65).

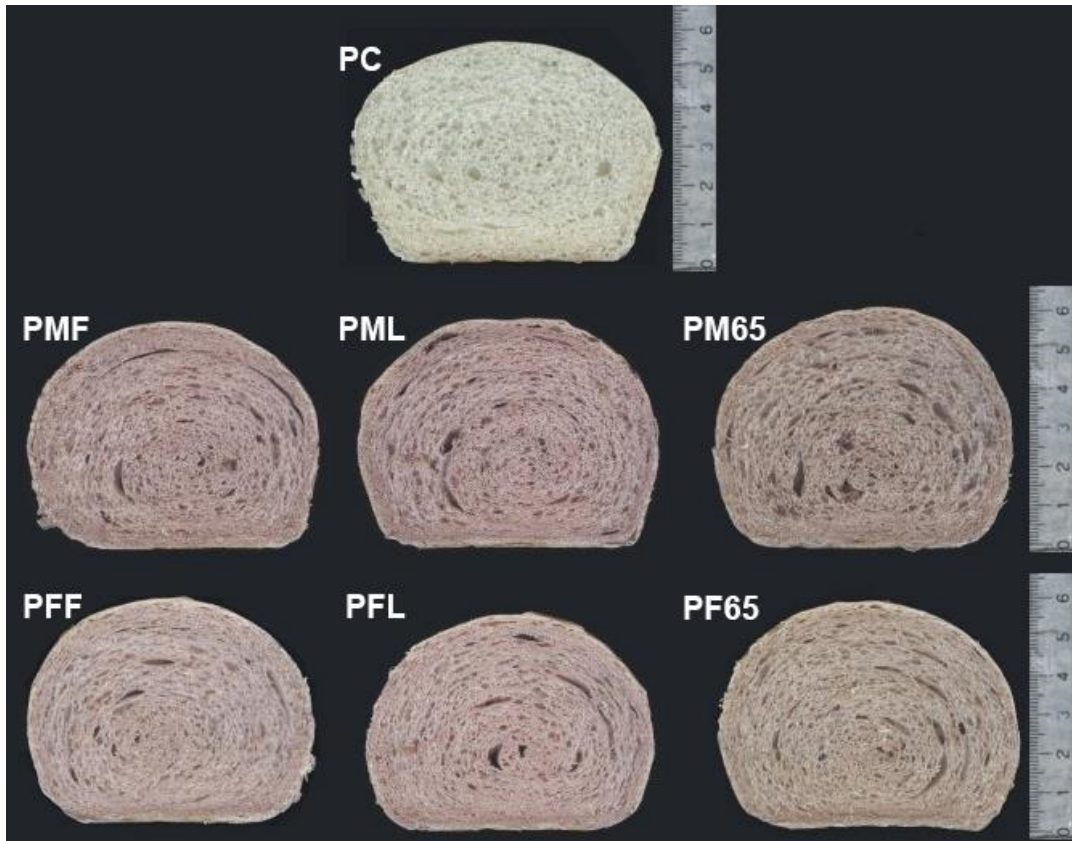
PC: Pan control. Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

### Estructura de la miga

Durante la cocción del pan, la masa debe tolerar ciertas deformaciones, sin dejar escapar los gases (principalmente dióxido de carbono) generados por las levaduras durante la etapa de fermentación para que la pieza aumente de volumen. Posteriormente, durante la cocción, se produce el calentamiento desde el exterior hacia el interior de la pieza, que fija la estructura proteica de la miga, determinando el alveolado de la misma.

Los resultados hasta aquí obtenidos muestran que el volumen y la textura de la miga de los panes elaborados se ven afectados por la incorporación de fruta por lo que es imprescindible evaluar los cambios en su estructura.

En la Figura 21 se observan las imágenes obtenidas de las rodajas de los distintos panes elaborados, en las cuales se pueden apreciar las diferencias en el alveolado. Dichas imágenes se utilizaron para realizar el análisis de imagen de la estructura de la miga.



**Figura 21.** Rodajas de pan de molde con incorporación de mora (M) y frambuesa (F) en tres condiciones: fresca (F), liofilizada (L) y deshidratada a 65 °C (65). PC: pan control

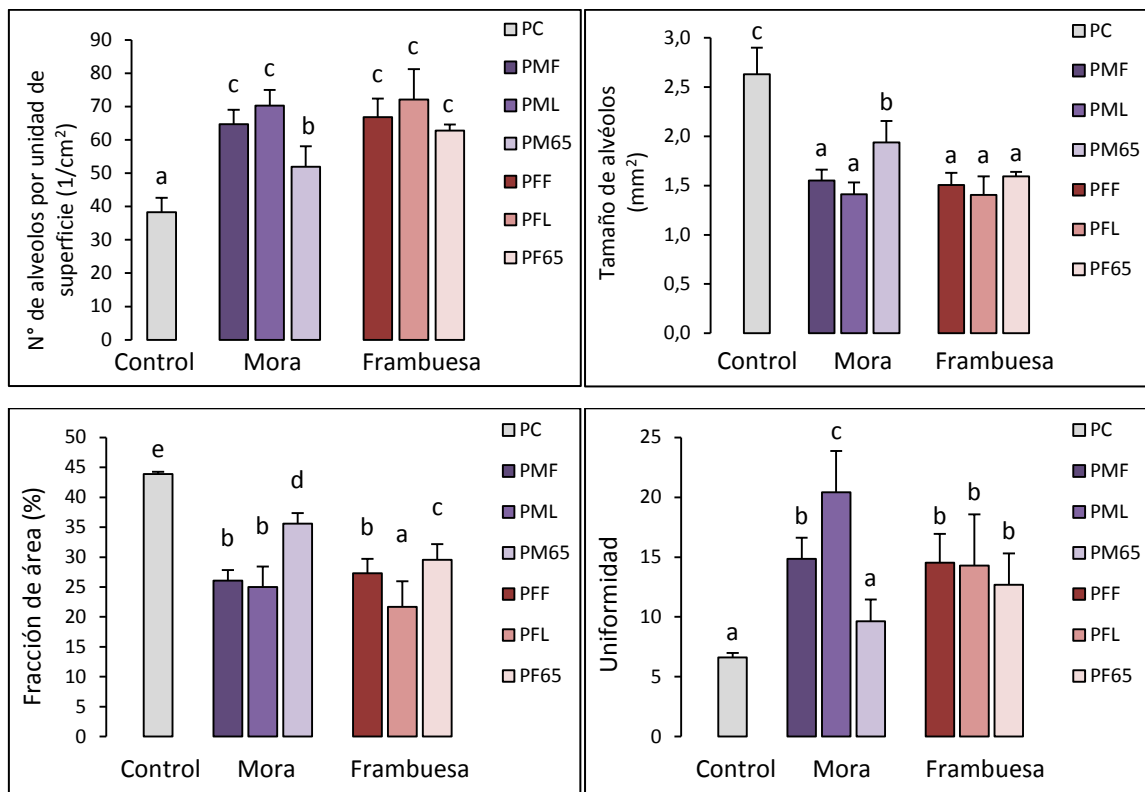
Por medio del análisis de imagen de la estructura de la miga se determinó el número de alvéolos por unidad de superficie, el tamaño de los mismos, la fracción de área que ocupan y la uniformidad de la miga (Figura 22). En este sentido, se observó que el agregado de fruta afectó el alveolado de la miga, presentando una cantidad de alvéolos por unidad de superficie mayor al control ( $p < 0,05$ ) y disminuyendo el tamaño de los mismos (Figura 22).

Los panes elaborados con mora deshidratada a 65 °C fueron los que presentaron una cantidad significativamente menor de alvéolos y de mayor tamaño ( $p < 0,05$ ) respecto del resto de las muestras con agregado de la misma fruta. En el caso de los panes con agregado de frambuesa no se observaron diferencias significativas entre las distintas formas de incorporar la fruta, presentando un mayor número de alvéolos de menor tamaño (Figura 22).

La incorporación de fruta deshidratada a 65 °C provocó la menor reducción en la fracción de área ocupada por alvéolos comparada con el control. La uniformidad de la miga de los panes con incorporación de fruta fue significativamente mayor que el control ( $p < 0,05$ ) (excepto para los panes con mora deshidratada a 65 °C, iguales al control), en relación al mayor número de alvéolos menores a 4 mm<sup>2</sup>. La miga que presentó la estructura más



uniforme fue la de los panes con agregado de mora liofilizada mientras que el resto de las muestras presentó un comportamiento intermedio (Figura 22).



**Figura 22.** Número de alvéolos por unidad de superficie, tamaño de alvéolos, fracción de área y uniformidad de la miga de pan de molde con incorporación de mora (M) y frambuesa (F) en tres condiciones: fresca (F), liofilizada (L) y deshidratada a 65 °C (65).

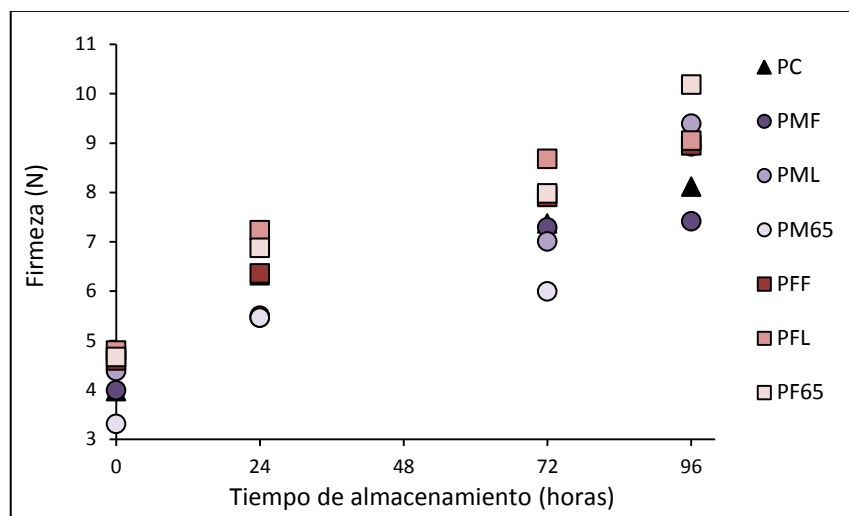
PC: Pan control. Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Las modificaciones observadas en la estructura de la miga de los panes con incorporación de mora y frambuesa ponen en evidencia la disminución del volumen de las piezas, lo que llevó a que las migas se caracterizaran por tener un mayor número de alvéolos de menor tamaño y con un menor porcentaje de área ocupada por los mismos. La estructura de la miga similar al control observada en los panes con mora deshidratada a 65 °C, caracterizada por un mayor número de alvéolos con una menor reducción de su tamaño respecto al control, generó migas menos firmes. La compactación de la miga del resto de los panes explica el aumento de la firmeza descrito anteriormente. Esto podría deberse a que ciertos componentes de la fruta, como por ejemplo polifenoles y pectinas no sólo compiten por el agua con las proteínas y el almidón de la harina, sino que modifican la estructura de las proteínas, haciendo más tenaz la red de gluten (Courtin *et al.*, 1999; Sun-Waterhouse *et al.*, 2011, Sivam *et al.*, 2011).

### Estudio del efecto de la incorporación de mora y frambuesa sobre la velocidad de endurecimiento de pan de molde durante el almacenamiento

Luego del horneado, el pan comienza a deteriorarse rápidamente debido a una serie de cambios que producen, entre otras cosas, disminución de la crocancia de la corteza, aumento de la firmeza de la miga y cambios en el aroma y el sabor (Cauvain, 1998) Todas estas alteraciones hacen que el pan deje de ser aceptado por los consumidores al poco tiempo de ser elaborado. Si bien la razón por la cual se elaboraron panes pre-cocidos fue para aumentar el tiempo de vida útil del producto con una calidad nutricional superior por la incorporación de compuestos bioactivos a través de mora y frambuesa, también es importante evaluar su velocidad de endurecimiento una vez horneado.

En la Figura 23 se observan los valores obtenidos del pan recién horneado, y a las 24, 72 y 96 horas de almacenamiento a temperatura ambiente. A partir de la pendiente de aumento de firmeza en función del tiempo se obtuvo el valor de la velocidad de endurecimiento de cada muestra.



**Figura 23.** Firmeza de la miga de pan de molde con incorporación de mora (M) y frambuesa (F) en tres condiciones: fresca (F), liofilizada (L) y deshidratada a 65 °C (65), almacenados a temperatura ambiente. PC: Pan control.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observó que la velocidad de endurecimiento de los panes con agregado de mora fue menor que los de frambuesa al comparar las frutas en las mismas condiciones. El pan con agregado de mora fresca presentó la menor velocidad de endurecimiento (0,0361 N/h), la cual fue similar a la del control (0,0389 N/h). Los panes con agregado de fruta deshidratada a 65 °C mostraron los mayores valores de velocidad de

endurecimiento tanto en mora (0,0491 N/h) como en frambuesa (0,0506 N/h). Por otro lado, la incorporación de frambuesa liofilizada presentó la tasa de endurecimiento más baja dentro de esta fruta (0,0414 N/h).

Estos resultados ponen en evidencia que la incorporación de frutas en la formulación de pan de molde aumenta su velocidad de endurecimiento, particularmente cuando se trata de fruta deshidratada a 65 °C. No obstante, los panes con incorporación de mora en cualquiera de las condiciones evaluadas presentaron valores menores o similares al control hasta las 72 horas de horneado.

## **CAPÍTULO 3**

**Efecto del procesamiento y  
almacenamiento de pan de molde con  
incorporación de mora y frambuesa  
deshidratada sobre el contenido de  
polifenoles, antocianinas y capacidad  
antioxidante**

La incorporación de fruta con elevado contenido de compuestos bioactivos y alta actividad antioxidante en pan de molde tiene por objetivo obtener un producto final con una calidad nutricional mejorada que se mantenga en el tiempo. Debido a esto, se decidió evaluar la evolución del contenido de componentes de interés (polifenoles y antocianinas) y de la capacidad antioxidante a lo largo de las distintas etapas del proceso de elaboración y durante el almacenamiento de los panes con incorporación de mora y frambuesa.

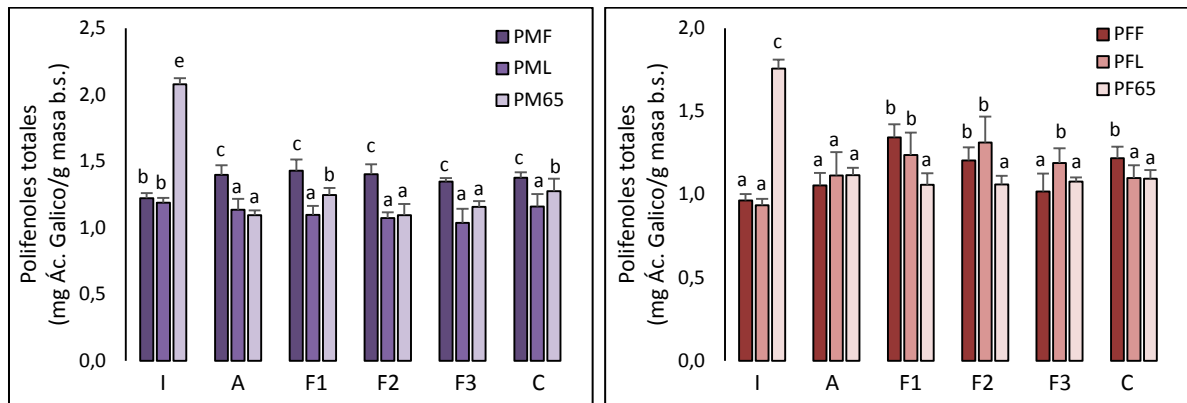
### **Evolución del contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante durante la elaboración de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa**

Durante las distintas etapas de la elaboración de pan de molde se tomaron muestras para ser analizadas en virtud de poder identificar aquellas en las que se produjeran mayores pérdidas de los componentes de interés aportados por las frutas. En este sentido, las etapas analizadas fueron: mezcla de harina y fruta (I) amasado (A), inicio de la fermentación (F1), etapa intermedia de la fermentación (F2) y final de la fermentación (F3) y cocción (C). Este estudio sólo fue realizado en las muestras con incorporación de frutos rojos debido a que se pretendía evaluar la pérdida de los componentes bioactivos agregados y no compararlos con un pan control.

En la Figura 24 se muestran los resultados del contenido de polifenoles totales en cada etapa mencionada. La incorporación de agua y oxígeno durante el amasado generó una gran disminución del contenido de polifenoles en las muestras con incorporación de fruta deshidratada a 65 °C, mientras que con el agregado de fruta fresca o liofilizada no se observaron importantes cambios. Esto puede explicarse porque probablemente durante la propia deshidratación se produce la ruptura de células con la consiguiente liberación de enzimas, que al tomar contacto con el agua y el oxígeno actúan degradando los polifenoles (Hidalgo *et al.*, 2010).

En las etapas de panificación posteriores al amasado se observó que el contenido de polifenoles totales de los panes elaborados con agregado de mora no presentó importantes variaciones (excepto PM65 que presentó un aumento significativo en F1 y C) (Figura 24). El mayor contenido de polifenoles en todas las etapas (excepto en la de mezclado de ingredientes) se obtuvo con la incorporación de mora fresca, mientras que con el agregado de mora liofilizada o deshidratada a 65 °C se obtuvieron valores significativamente menores y muy similares entre sí después del amasado (Figura 24). Es importante destacar que en todas

las etapas se observó que las muestras con incorporación de mora deshidratada a 65 °C presentaron un valor levemente superior a las muestras con agregado de mora liofilizada, siendo esta diferencia significativa en el producto final ( $p < 0,05$ ). Esto indica que el aumento de polifenoles producido durante la deshidratación a 65 °C de las frutas (Capítulo 1) se refleja en el producto final, obteniendo valores comparables a los obtenidos con la incorporación de mora fresca.



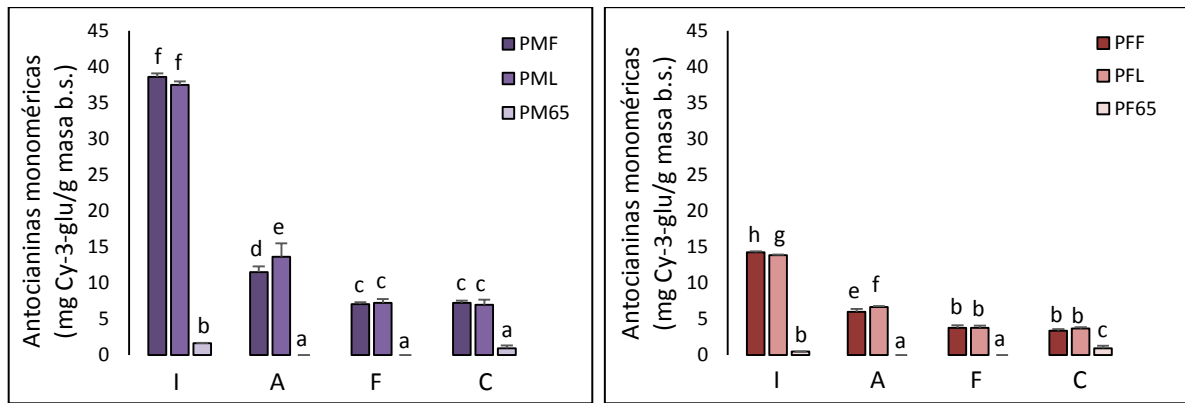
**Figura 24.** Evolución del contenido de polifenoles totales durante el proceso de panificación de pan de molde con incorporación de mora (izquierda) y frambuesa (derecha). Ingredientes(I), amasado(A), etapa inicial(F1), intermedia(F2) y final(F3) de fermentación; y cocción (C). Pan con mora (PMF) y frambuesa (PFF) fresca, pan con mora (PML) y frambuesa(PFL) liofilizada y pan con mora(PM65) y frambuesa(PF65) deshidratadas a 65 °C. Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

En el caso de las muestras con incorporación de frambuesa, una vez obtenida la masa, la tendencia no fue la misma que la descrita en las muestras con mora. Al inicio de la fermentación se observó un aumento significativo del contenido de polifenoles (excepto para PF65), que luego disminuyó progresivamente hasta el final de la fermentación, alcanzando valores comparables a los de la etapa de amasado (Figura 24). Sólo las muestras con agregado de frambuesa deshidratada a 65 °C presentaron un contenido de polifenoles totales constante a lo largo de las etapas de panificación evaluadas (excepto en la mezcla de ingredientes). Los panes listos para el consumo que presentaron mayor contenido de polifenoles totales fueron los elaborados con frambuesa fresca pero se obtuvieron valores muy similares con la incorporación de fruta liofilizada o deshidratada a 65 °C (Figura 24).

Podemos destacar que con la incorporación de mora en la formulación de pan de molde el contenido de polifenoles fue siempre superior al obtenido con incorporación de frambuesa, representando una ventaja nutricional en el producto final.

A raíz de la escasa variación del contenido de polifenoles en las etapas del proceso de panificación posteriores al amasado, la determinación del contenido de antocianinas y capacidad antioxidante se realizó únicamente en la mezcla de ingredientes (I), el amasado (A), el final de la fermentación (F) y la cocción (C). Se seleccionaron estas etapas porque son en las cuales tienen lugar los mayores cambios de la masa de pan y que podrían llevar a modificaciones importantes en los valores de los parámetros analizados. En este punto, no es posible identificar una etapa determinante en la pérdida de polifenoles, sin embargo, resulta sumamente importante que durante el procesamiento del pan los componentes de interés incorporados a través de la fruta, sean conservados. Se observaron grandes pérdidas en el amasado de las muestras con fruta deshidratada a 65 °C, pero como esto no ocurrió con las muestras con incorporación de fruta fresca y liofilizada, no podemos establecer dicha etapa como la responsable de las pérdidas de polifenoles.

El contenido de antocianinas se vio fuertemente afectado por el procesamiento, siendo en las etapas de amasado y fermentación donde se produjeron las mayores pérdidas. Durante la formación de la masa, las muestras con incorporación de fruta fresca presentaron una pérdida del 64% de antocianinas monoméricas, mientras en las muestras con incorporación de fruta liofilizada la pérdida fue del 52%. Durante fermentación, en las muestras con incorporación de mora, la pérdida de antocianinas fue de alrededor del 45% mientras que en las muestras con frambuesa fue de aproximadamente 37% respecto del contenido de antocianinas en la etapa de amasado (Figura 25). Tanto para el caso de las muestras con agregado de mora como de frambuesa se observó un mayor contenido de antocianinas en las masas con fruta liofilizada luego del amasado ( $p < 0,05$ ), pero debido a las pérdidas que ocurrieron durante la fermentación, estos valores se igualaron (Figura 25). La deshidratación de ambas frutas a 65 °C ocasionó una importante pérdida de antocianinas tal como se expuso en el Capítulo 1, debido a lo cual no se detectaron cantidades significativas de las mismas en ninguna de las etapas evaluadas (Figura 25).



**Figura 25.** Evolución del contenido de antocianinas durante el proceso de panificación de pan de molde con incorporación de mora (a la izquierda) y frambuesa (a la derecha).

Ingredientes (I), amasado (A), fermentación (F) y cocción (C). Pan con mora (PMF) y frambuesa (PFF) fresca, pan con mora (PML) y frambuesa (PFL) liofilizada y pan con mora (PM65) y frambuesa (PF65) deshidratadas a 65 °C.

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Resulta claro que la incorporación de oxígeno durante el amasado afecta el contenido de antocianinas, las cuales se degradan muy fácilmente. En este sentido, durante la fermentación el oxígeno es consumido lentamente por las levaduras promoviendo que las antocianinas continúen degradándose. Lukton *et al* (1956) expuso que la destrucción de antocianinas durante el procesamiento de alimentos depende del pH, la presencia de oxígeno y también está relacionada al contenido inicial de las mismas. Asimismo, el pH y la temperatura han sido reportados como los dos factores críticos que influyen la pérdida de antocianinas por lo que deben ser considerados como aquellos responsables de la pérdida observada durante la fermentación (Su & Chien, 2007).

En concordancia con lo observado en el contenido de polifenoles e incluso en los resultados presentados en el Capítulo 1, la incorporación de mora en la formulación de los panes permitió obtener un producto final con mayor contenido de antocianinas respecto de la adición de frambuesa.

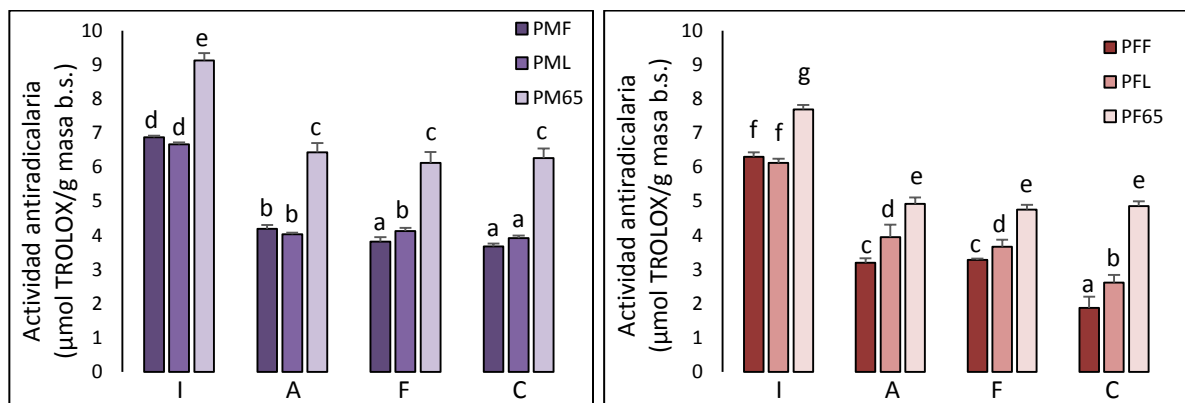
Posteriormente se determinó la evolución de la capacidad antioxidante durante el proceso de panificación a través de la evaluación de dos mecanismos: actividad antiradicalaria y poder reductor.

Respecto de los resultados de actividad antiradicalaria, nuevamente se puede observar, que la etapa de amasado es en la cual se producen las mayores pérdidas, pero en menor proporción que lo observado para el contenido de polifenoles y antocianinas (Figura 26). Estas pérdidas se encuentran relacionadas al procesamiento, ya que la incorporación tanto de



mora como de frambuesa en sus tres condiciones (fresca, liofilizada y deshidratada en estufa a 65 °C) presentan un porcentaje de disminución de la actividad antiradicalaria similar. Las muestras con incorporación, tanto de mora como de frambuesa deshidratada a 65 °C, presentaron los mayores valores de actividad antiradicalaria en todas las etapas. Sólo en el caso de las muestras con incorporación de frambuesa se observó una diferencia entre fruta fresca y liofilizada, siendo mayores los valores en la segunda (Figura 26).

En las muestras en que se incorporó mora, luego de obtenida la masa de pan, no se observaron cambios importantes de la actividad antiradicalaria, más allá de una leve disminución durante la etapa de cocción en el caso del agregado de mora liofilizada. En el caso de las masas de pan con incorporación de frambuesa, la disminución ocasionada por las elevadas temperaturas empleadas en la cocción fueron más marcadas ( $p < 0,05$ ). Cabe destacar que los panes con incorporación tanto de mora como de frambuesa deshidratada a 65 °C mostraron los máximos niveles de actividad antiradicalaria, siendo superiores en el caso de la mora. Estos resultados coinciden con lo expuesto en el Capítulo 1 respecto al efecto de la deshidratación en estufa a 65 °C sobre la capacidad antioxidante de mora y frambuesa.



**Figura 26.** Evolución de la actividad antiradicalaria durante el proceso de panificación de pan de molde con incorporación de mora (a la izquierda) y frambuesa (a la derecha).

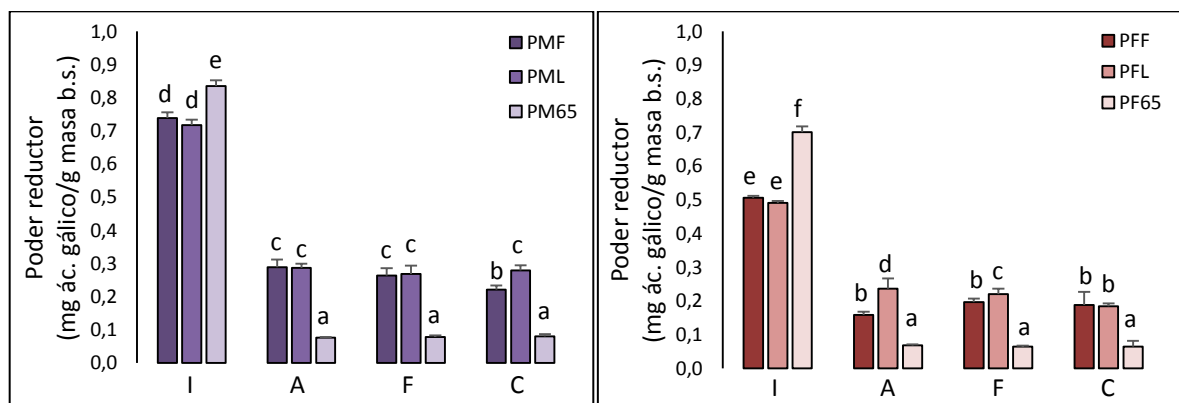
Ingredientes (I), amasado (A), fermentación (F) y cocción (C). Pan con mora (PMF) y frambuesa (PFF) fresca, pan con mora (PML) y frambuesa (PFL) liofilizada y pan con mora (PM65) y frambuesa (PF65) deshidratadas a 65 °C.

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Los resultados obtenidos en el análisis del poder reductor mostraron valores muy bajos, indicando que el mecanismo predominante en este tipo de frutas es el de capacidad atrapadora de radicales libres (Figura 27). Tal como se describió para actividad antiradicalaria, las mayores pérdidas tuvieron lugar durante el amasado. A diferencia de lo

observado anteriormente, las muestras con incorporación de fruta deshidratada a 65 °C presentaron los menores valores de poder reductor, a pesar de que en la mezcla de ingredientes sus valores fueron superiores a los que presentaron las muestras con incorporación de fruta fresca o liofilizada (Figura 27). Tal como se observó en todo el análisis de componentes bioactivos y capacidad antioxidante, la incorporación de mora en la formulación de pan de molde también llevó a los mayores valores de poder reductor en el pan horneado.

En forma general, se observó que la etapa de amasado fue la que generó los mayores cambios en las variables estudiadas, particularmente por la incorporación de oxígeno que favorece la degradación de los compuestos de interés. Además, la etapa de fermentación afectó marcadamente al contenido de antocianinas de los panes elaborados con mora y frambuesa en sus tres condiciones. En la etapa de cocción se observaron algunos cambios, aunque fueron mínimos con respecto a lo esperado por la alta temperatura utilizada en esta etapa.



**Figura 27.** Evolución del poder reductor durante el proceso de panificación de pan de molde con incorporación de mora (a la izquierda) y frambuesa (a la derecha).

Ingredientes (I), amasado (A), fermentación (F) y cocción (EC). Pan con mora (PMF) y frambuesa (PFF) fresca, pan con mora (PML) y frambuesa (PFL) liofilizada y pan con mora (PM65) y frambuesa (PF65) deshidratadas a 65 °C.

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

En la Tabla III se muestran los valores obtenidos en cada parámetro en el pan horneado a fin de permitir una mejor comparación del efecto generado por cada fruta.

**Tabla III.** Contenido de polifenoles totales, antocianinas, actividad antiradicalaria y poder reductor de pan de molde con incorporación mora y frambuesa listos para consumo.

Pan	Polifenoles totales (mg ác. gálico/g pan b.s.)	Antocianinas (mg c-3-gluc/100 g pan b.s.)	Actividad antiradicalaria ( $\mu$ mol Trolox/g pan b.s.)	Poder reductor ( $\mu$ mol ác. gálico/g pan b.s.)
PMF	1,38 <sup>c</sup>	7,2 <sup>b</sup>	3,7 <sup>c</sup>	0,22 <sup>c</sup>
PML	1,16 <sup>b</sup>	7,0 <sup>b</sup>	3,9 <sup>c</sup>	0,28 <sup>d</sup>
PM65	1,28 <sup>b</sup>	Nd	6,3 <sup>e</sup>	0,08 <sup>a</sup>
PFF	1,22 <sup>b</sup>	3,4 <sup>a</sup>	1,9 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>
PFL	1,10 <sup>a</sup>	3,7 <sup>a</sup>	2,6 <sup>b</sup>	0,18 <sup>b</sup>
PF65	1,10 <sup>a</sup>	Nd	4,9 <sup>d</sup>	0,06 <sup>a</sup>

Pan con mora (PMF) y frambuesa (PFF) fresca, pan con mora (PML) y frambuesa (PFL)

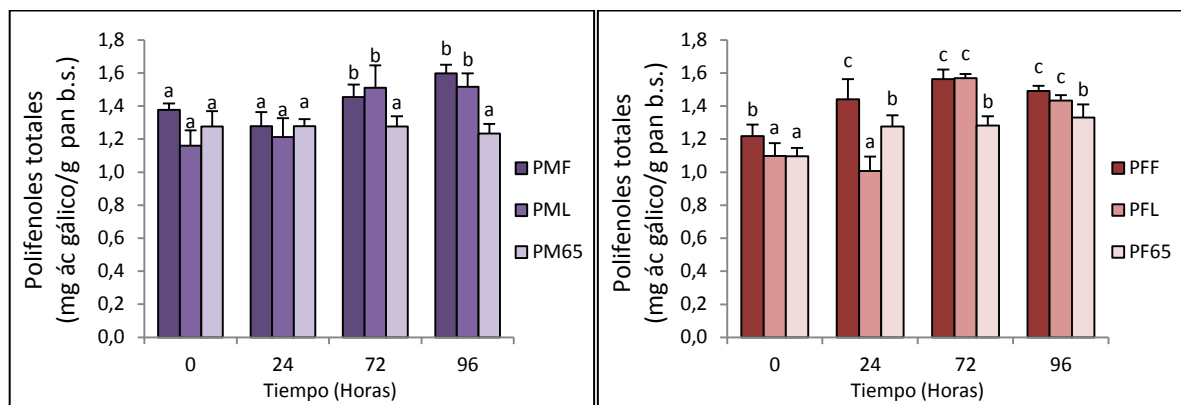
liofilizada y pan con mora (PM65) y frambuesa (PF65) deshidratadas a 65 °C.

Nd: no detectable. Dentro de una misma columna, letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Para todos los parámetros evaluados, dentro de una misma condición de fruta incorporada (fresca, liofilizada o deshidratada a 65 °C) los valores hallados para los panes con incorporación de mora fueron mayores a los de frambuesa ( $p < 0,05$ ). Con la incorporación de fruta deshidratada a 65 °C se obtuvieron panes con una cantidad de componentes bioactivos y capacidad antioxidante comparables e incluso mayores a los obtenidos con agregado de fruta fresca y liofilizada, a excepción del contenido de antocianinas y poder reductor. Estos resultados ponen en evidencia que la incorporación de fruta deshidratada en estufa a 65 °C puede ser una excelente alternativa para la obtención de panes con una calidad nutricional mejorada. Además, dicha mejora es comparable a la lograda con el agregado de fruta liofilizada, cuya obtención es muy costosa; o fruta fresca, la cual tiene una corta vida útil.

## Evolución del contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante durante el almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora y frambuesa

En el desarrollo de un producto con calidad nutricional mejorada, no sólo es importante corroborar que la adición efectuada finalmente tenga el efecto deseado en los parámetros seleccionados, sino también que dicha calidad se mantenga durante el período de aceptabilidad del producto en cuestión. Debido a ello se evaluó el contenido de polifenoles y antocianinas y la capacidad antioxidante en los panes conservados 24, 72 y 96 horas a temperatura ambiente luego del horneado.



**Figura 28.** Evolución del contenido de polifenoles totales durante el almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora (a la izquierda) y frambuesa (a la derecha).

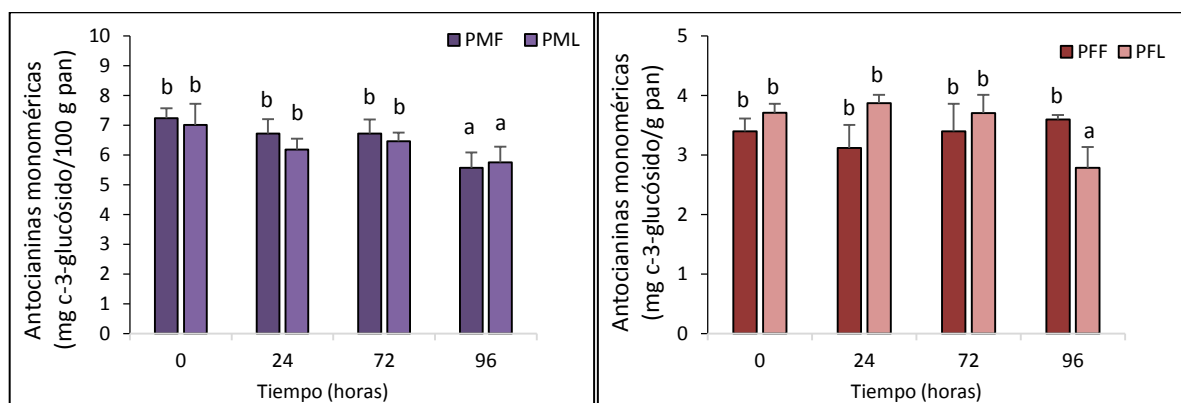
Pan con mora (PMF) y frambuesa (PFF) fresca, pan con mora (PML) y frambuesa (PFL) liofilizada y pan con mora (PM65) y frambuesa (PF65) deshidratadas a 65 °C.

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Durante el almacenamiento se observó que el contenido de polifenoles totales de los panes elaborados con agregado de mora y frambuesa en cualquiera de las condiciones evaluadas presentaron mínimas variaciones (de 1,16 a 1,60 mg ácido gálico/g pan para los primeros, y de 1,10 a 1,57 mg ácido gálico/g pan para los segundos). En este sentido, más allá de las diferencias significativas halladas, estas variaciones de alrededor del 33% para los panes con incorporación de mora y del 37% para los panes con incorporación de frambuesa, resultan despreciables teniendo en cuenta que los panes fueron liofilizados y molidos, incluyendo la corteza. El contenido de polifenoles en la corteza es distinto al presente en la miga porque la temperatura a la que es expuesta la corteza durante la cocción es superior a la que se alcanza en la miga. Por lo tanto si para una muestra se toma más miga que corteza,

probablemente se encuentre mayor contenido de polifenoles que en una muestra en la cual se tenga más corteza que miga. Además sólo se tomaron 500 mg para realizar la extracción de polifenoles, lo que contribuye aún más en la heterogeneidad de las muestras. Teniendo en cuenta estas justificaciones se considera que los polifenoles en los panes enriquecidos se conservan sin modificaciones importantes durante las primeras 96 horas luego del horneado (Figura 28).

Como consecuencia de lo observado en los panes con incorporación de fruta deshidratada a 65 °C, en los cuales no se detectó la presencia de antocianinas monoméricas, no se determinó su contenido durante el almacenamiento (Figura 29).



**Figura 29.** Evolución del contenido de antocianinas durante el almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora (a la izquierda) y frambuesa (a la derecha).

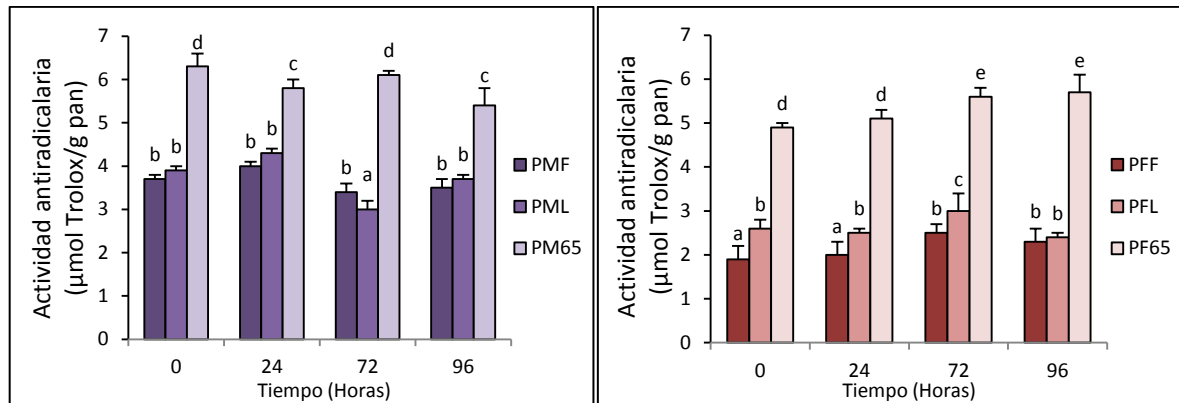
Pan con mora (PMF) y frambuesa (PFF) fresca, pan con mora (PML) y frambuesa (PFL) liofilizada y pan con mora (PM65) y frambuesa (PF65) deshidratadas a 65 °C.

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

El contenido de antocianinas de los panes elaborados con agregado de mora fresca y liofilizada se mantuvo sin variaciones hasta las 72 horas de almacenamiento, y con 24 horas más, disminuyó en ambas muestras (Figura 29). En el caso de los panes elaborados con agregado de frambuesa se observó que el contenido de antocianinas también presentó una mínima variación. Es importante destacar que al igual que en el caso de la determinación de polifenoles, las diferencias encontradas (alrededor del 26% para panes con incorporación de mora y del 34% para panes con incorporación de frambuesa) son muy pequeñas, indicando que el almacenamiento no tiene una influencia marcada sobre el contenido de compuesto bioactivos.

Finalmente, se evaluó la capacidad antioxidante de los panes almacenados a distintos tiempos. En este sentido, los resultados para la actividad antiradicalaria y poder reductor se pueden observar en las Figuras 30 y 31.

Se observó que la actividad antiradicalaria de los panes elaborados con mora fresca y liofilizada se mantuvo sin variaciones a lo largo de todo el almacenamiento, mientras que los panes elaborados con mora deshidratada a 65 °C presentaron una ligera tendencia a disminuir su actividad antiradicalaria a lo largo del almacenamiento (Figura 30).



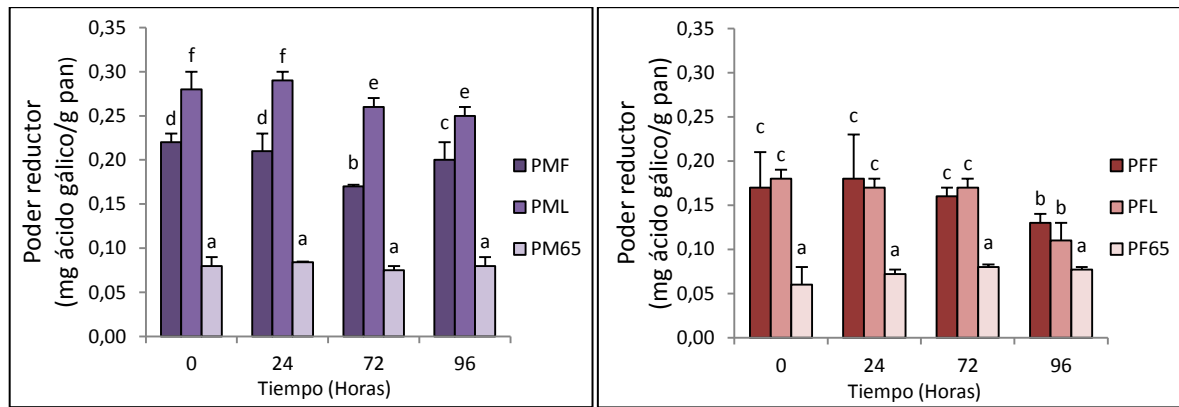
**Figura 30.** Evolución de la actividad antiradicalaria durante el almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora (a la izquierda) y frambuesa (a la derecha).

Pan con mora (PMF) y frambuesa (PFF) fresca, pan con mora (PML) y frambuesa (PFL) liofilizada y pan con mora (PM65) y frambuesa (PF65) deshidratadas a 65 °C.

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

En el caso de los panes con agregado de frambuesa, se observó una tendencia general a aumentar mínimamente la actividad antiradicalaria durante el almacenamiento (Figura 30). Sin embargo, la variación hallada en ambas frutas es despreciable considerando lo expuesto para el contenido de polifenoles. Por otro lado, al igual que lo observado en las etapas de elaboración, los panes con incorporación de fruta deshidratada a 65 °C presentaron una actividad antiradicalaria significativamente mayor que los panes con incorporación de fruta fresca y liofilizada.

La tendencia en el poder reductor de los panes elaborados con moras o frambuesas frescas y liofilizadas fue a disminuir con el transcurso del almacenamiento, mientras que el poder reductor de los panes elaborados con fruta deshidratada a 65 °C no sufrió variaciones (Figura 31).



**Figura 31.** Evolución del poder reductor durante el almacenamiento de pan de molde con incorporación de mora (a la izquierda) y frambuesa (a la derecha). Pan con mora (PMF) y frambuesa (PFF) fresca, pan con mora (PML) y frambuesa (PFL) liofilizada y pan con mora (PM65) y frambuesa (PF65) deshidratadas a 65 °C.

Letras distintas indican diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

Estos resultados ponen en evidencia que a pesar que durante el almacenamiento se observaron variaciones en el contenido de polifenoles y antocianinas y en la capacidad antioxidante, la magnitud de estos cambios fue despreciable en relación a lo observado durante las etapas de elaboración. Además, como se explicó anteriormente, las variaciones de los parámetros medidos durante el almacenamiento probablemente se deban a la heterogeneidad de las muestras.

Se deberían llevar a cabo investigaciones más específicas, así como también analizar la evolución de componentes bioactivos y de la capacidad antioxidante en corteza y miga por separado para facilitar un análisis más profundo.

# CONCLUSIONES



Los resultados obtenidos permitieron concluir que es posible obtener mora y frambuesa deshidratada con una importante conservación de sus componentes bioactivos y de sus características por deshidratación en estufa a 65 °C durante 20 horas. El color de las frutas deshidratadas se vio afectado durante la deshidratación, siendo la tonalidad roja el parámetro mayormente modificado y en menor medida la luminosidad y tonalidad amarilla, sin importantes diferencias entre la deshidratación a 50 o 65 °C. La deshidratación a 130 °C durante 2 horas provocó una gran pérdida de color.

Respecto a la evaluación del contenido de compuestos de interés, la fruta deshidratada a 65 °C presentó el máximo valor de polifenoles, actividad antiradicalaria y poder reductor. Este aumento podría estar relacionado con la despolimerización de polifenoles que generan una mayor reacción con el reactivo de Folin-Ciocalteu y un aumento significativo de ambos mecanismos de actividad antioxidante respecto a la fruta liofilizada. Por otro lado, las antocianinas fueron los componentes más afectados en la deshidratación en estufa a 50, 65 y 130 °C, disminuyendo drásticamente, tanto en mora como en frambuesa. Es importante remarcar que la mora presentó mayores valores en todos los parámetros analizados respecto a la frambuesa.

En función de los resultados obtenidos, se optó por elaborar panes pre-cocidos con incorporación de 5% de mora y frambuesa deshidratadas a 65 °C durante 20 horas tomando como referencia panes enriquecidos con la misma proporción de fruta liofilizada y fresca. El impacto de la incorporación de mora y frambuesa sobre la calidad tecnológica del pan se analizó a través de los siguientes parámetros: volumen específico, textura y estructura de la miga. También se evaluó el efecto de la incorporación de mora y frambuesa sobre el color de la corteza y la miga de los panes enriquecidos. De acuerdo a los resultados obtenidos podemos atribuir los cambios observados al hecho que la inclusión de la fruta en el pan, genera una estructuración diferente de los componentes, respecto al producto elaborado con harina de trigo sin sustitución. Se puede inferir un debilitamiento de la red de gluten ocasionado particularmente por las pectinas y polifenoles de la fruta, lo cual llevó a una reducción del 20% del volumen de los panes.

El perfil de textura mostró que la frambuesa incluida en la formulación de los panes produjo un aumento de la firmeza, sin diferencias entre los distintos tratamientos aplicados a la fruta, mientras que en los panes con mora deshidratada a 65 °C la firmeza disminuyó significativamente respecto del control, lo cual representa una mejora de esta propiedad al obtener panes más tiernos. La cohesividad de la miga sólo se vio disminuida con la incorporación de mora y frambuesa liofilizada y deshidratada a 65 °C. La incorporación de

fruta fresca no produjo cambios en este parámetro. De acuerdo a estos resultados, la masticabilidad se vio aumentada, excepto en los panes enriquecidos con mora deshidratada a 65 °C (menos firmes). Los panes con máxima masticabilidad fueron aquellos en los que se incorporó frambuesa fresca, mientras que los panes con frambuesa liofilizada y deshidratada a 65 °C mostraron un comportamiento intermedio. La luminosidad de la corteza de los panes con mora sólo disminuyó a causa de la incorporación de mora deshidratada a 65 °C, mientras que aumentó en el caso de frambuesa fresca y liofilizada. Por otro lado, la tonalidad roja y amarilla se vio disminuida por el agregado de fruta en todos los casos. La miga perdió luminosidad en menor proporción con el agregado de frambuesa respecto de mora sin diferencias entre los tratamientos aplicados (fresca, liofilizada, deshidratada). Tal como se esperaba, el mayor impacto de la incorporación de fruta en los panes fue en la tonalidad roja de la miga siendo menor el aumento en el caso de los panes con mora y frambuesa deshidratada a 65 °C. Esto es debido a la pérdida color que sufrieron las frutas al aplicarles el tratamiento antes mencionado.

La estructura de la miga se vio fuertemente afectada. Esto se encuentra asociado al detrimento descrito del volumen específico. En este sentido, con la incorporación de fruta se obtuvieron panes con un mayor número de alveolos, de menor tamaño, dando como resultado un aumento de la uniformidad. La mora deshidratada a 65 °C fue la que provocó menores cambios en los parámetros descriptos, presentando valores similares a los del control. La estructura de la miga de estos panes, se caracterizó por un mayor número de alvéolos con una menor reducción de su tamaño respecto al control. Esto generó una mínima disminución en la fracción de área ocupada por los alvéolos, explicando la firmeza similar al control. Además, no se observaron diferencias entre los panes con incorporación de frambuesa. La compactación de la miga observada a través del análisis de su estructura es lo que explica el aumento de firmeza observado. Esto probablemente se relaciona con el debilitamiento de la red de gluten producido por ciertos componentes de las frutas, la cual no puede retener todo el gas generado durante la fermentación.

La elaboración de panes pre-cocidos supone un aumento de la vida útil del pan y permite su consumo recién horneado, pero este hecho no le resta importancia a la determinación de la velocidad de endurecimiento una vez horneado. Los resultados pusieron en evidencia que el enriquecimiento con mora llevó a que los panes elaborados tuvieran una menor tasa de aumento de la firmeza respecto de los elaborados con frambuesa, comparando el agregado de frutas en las mismas condiciones (fresca, liofilizada y deshidratada a 65 °C); presentando valores similares al control hasta las 72 horas de almacenamiento.

La calidad tecnológica de los panes se vio afectada por la sustitución de harina de trigo por fruta, pero ese detrimento no fue excesivo e incluso podrían verse minimizados por el uso de aditivos mejoradores (fuera del objetivo de este trabajo). Sin embargo, este análisis no es suficiente para establecer que se ha obtenido un alimento funcional por lo que es imprescindible evaluar, en una primera instancia aquellas etapas del proceso que provocan las mayores pérdidas de componentes bioactivos y capacidad antioxidante y, si con el almacenamiento, dichas pérdidas también tienen lugar. De esta manera, se podrá establecer la magnitud de la mejora en la calidad nutricional, e incluso poder determinar las diferencias que se generan por la incorporación de fruta fresca, liofilizada y deshidratada. En este sentido, durante la elaboración de panes enriquecidos con fruta se vio que la mayor pérdida de polifenoles, antocianinas y actividad antioxidante tuvo lugar en el amasado, asociado a la incorporación de oxígeno que promueve la oxidación de los compuestos, los cuales pierden su actividad. Los panes elaborados con fruta deshidratada a 65 °C presentaron un contenido de polifenoles muy similar a los elaborados con fruta fresca o liofilizada, mientras que el contenido de antocianinas fue nulo, ya que el propio proceso de deshidratación generó la degradación casi completa de este bioactivo. A pesar de ello, tanto en los panes elaborados con fruta fresca como liofilizada, alrededor del 50 % de antocianinas monoméricas se destruyen durante el amasado y el 50 % de las restantes durante la fermentación, poniendo en evidencia la baja estabilidad que presentan estos compuestos.

Por otro lado, la capacidad atrapadora de radicales libres (mecanismo de actividad antioxidante predominante en las frutas utilizadas en el presente trabajo) fue máxima para aquellos panes con incorporación de fruta deshidratada a 65 °C. Esto demuestra que las diferencias en el contenido de polifenoles generadas por el método de deshidratación aplicado a la fruta se refleja claramente en el producto final. Tal como se observó con el contenido de polifenoles, las mayores pérdidas se ocurrieron en la etapa de amasado. Respecto a los resultados del poder reductor, los valores hallados son muy bajos para todas las muestras, siendo prácticamente nulo en los panes con fruta deshidratada a 65 °C. En todos los casos, los panes enriquecidos con mora presentaron mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante que los enriquecidos con frambuesa.

Estos resultados ponen en evidencia que la incorporación de fruta deshidratada en estufa a 65 °C durante 20 horas es una excelente alternativa para la obtención de panes con una calidad nutricional mejorada. Además dicha calidad es comparable a la obtenida con adición de fruta liofilizada, cuya obtención es más compleja y costosa; o fruta fresca, la cual tiene una corta vida útil.

# **BIBLIOGRAFÍA**

AACC International. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 10th Edition. 2000.

Adak, N., Heybeli, N., & Ertekin, C. (2017). Infrared drying of strawberry. *Food Chemistry*, 219, 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.103>

Agencia Argentina de inversiones y Comercio Internacional. Datos del sector frutihortícola de Argentina, Enero 2017.

AOAC International (2007) Official methods of analysis, 18th edn., 2005; Current through revision 2, 2007 (On-line). AOAC International, Gaithersburg, MD

Arancibia-Avila, P., Namiesnik, J., Toledo, F., Werner, E., Martinez-ayala, A. L., Rocha-Guzmán, N. E., Gorinstein, S. (2012). The influence of different time durations of thermal processing on berries quality. *Food Control*, 26(2), 587- 593.

Arts I.C., Hollman P.C. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005;81:317S–325S.

Atwell WA, Hood LF, Lineback DR, Varriano-Marston E, Zobel HF. 1988. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World*, 33: 306–311.

Barcenas, M. E. and Rosell, C. M. 2006. Effect of Frozen Storage Time on the Bread Crust and Aging of Par-Baked Bread. *Food Chem.*, 95: 438-445.

Barrett F. 1975. Role of bread in international nutrition. *Cereal Foods World*, 20: 323.

Barrett, D. M., Beaulieu, J. C., & Shewfelt, R. (2010). Color, Flavor, Texture, and Nutritional Quality of Fresh-cut Fruits and Vegetables - Desirable Levels, Instrumental and Sensory Measurement, and the Effects of Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(5), 369–389

Battino, M., Beekwilder J., Denoyes-Rothan B., Laimer M., McDougall G.J. and Mezzetti B., 2009. Bioactive compounds in berries relevant to human health. *Nutrition reviews*, no 67, pp. S145-S150.

Beattie J, Crozier A, Duthie G. 2005. Potential health benefits of berries. *Current Nutrition and Food Science*, 1: 71 - 86.

Beekwilder J., Hall R. D., de Vos C. H. 2005 b. Identification and dietary relevance of antioxidants from raspberry. *BioFactors*, 23(4): 197–205.

Belton P. 1999. On the elasticity of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 29:103-107.

Bennett, L. E., Jegasothy, H., Konczak, I., Frank, D., Sudharmarajan, S., & Clingeleffer, P. R. (2011). Total polyphenolics and anti-oxidant properties of selected dried fruits and relationships to drying conditions. *Journal of Functional Foods*, 3(2), 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.03.005>

BetcheL W. 1955. A review of bread staling research. *Cereal Chemistry*, 13:108-121.  
Cauvain SP. 1998. Improving the control of staling in frozen bakery products. *Food Science and Technology*, 9: 56-61.

Bettge A.D.y Morris C.F. 2000. Relationships among grain hardness, pentosan fractions and end-use quality of wheat. *Cereal Chemistry*, 77: 241-247.

Bloksma, A.H. 1990. Dough structure, dough rheology and baking quality. *Cereal 698 Foods World* 35, 237-244.

Bourne, M. (2002). *Food texture and viscosity: concept and measurement* (2nd ed.). New York: Academic Press.

Bowen-Forbes C.S., Zhang Y., Nair M.G. 2010. Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. *Journal of Food composition and Analysis*, 23(6): 554- 560.

Bravo L. Poliphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr Rev*, 1998; 56 (11): 317-333.

Bruzone I. Alimentos Argentinos.  
[http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/ediciones/44/cadenas/r44\\_07\\_Frambuesas.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/ediciones/44/cadenas/r44_07_Frambuesas.pdf) (consultada en agosto 2017)

Byamukama R., Kiremire B., Andersen O.M., Steigen A. 2005. Anthocyanins from fruits of *Rubus pinnatus* and *Tubus rigidus*. *Journal of food composition and analysis*, 18: 599- 605.

Cámara C., Grabois M., Luque V., Regodesebes A., Pirovani M.E. 2014. *Vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva de la cadena de frutas finas*. 1a edición. Buenos Aires: Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Disponible en: <http://www.mincyt.gob.ar/adjuntos/archivos/000/036/0000036221.pdf>

Carr N.O., Daniels N.W.R., Frazier P.J. 1992. Lipid interactions in breadmaking. *Critical Reviews in Food Science y Nutrition*, 31: 237-258.

Cauvain S.P. 2004. How much more bread research do we need. *Getreide technologie*, 58: 364-366.

Cauvain SP, Young LS. 2000. *Bakery Food Manufacture y Quality: Water Control and Effects*, Oxford, Blackwell Science.

Cauvain SP. 1998. Improving the control of staling in frozen bakery products. *Food Science and Technology*, 9: 56-61.

Chamorro, S., Goñi, I., Viveros, A., Hervert-Henández, D., & Brenes, A. (2012). Changes in polyphenolic content and antioxidant activity after thermal treatments of grape seed extract and grape pomace. *European Food Research and Technology*, 234, 147–155. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1621-7>

Chung OK. 1986. Lipid-protein interactions in wheat flour, dough, gluten, and protein fractions. *Cereal Food World*, 31: 242-256.

C.I.E. 1986. *Colorimetrie*, 2nd. ed. Publication C.I.E. N° 15, 2. Viena: Central Bureau of the Comisión Internationale de L'Éclairage.

Cluster Patagónico de Frutas Finas. Plan de mejora competitiva. 2013.

Cortés, M. y Chiralt, A. 2008. Cinética de los cambios de color en manzana deshidratada por aire fortificada con vitamina E. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. Universidad de Antioquía, Medellín, Colombia. 15(1): 8 – 16.

Courtin CM, Delcour JA. 2002. Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour bread-making. *Journal of Cereal Science*, 35: 225–243.

Courtin CM, Roelants A, Delcour JA. 1999. Fractionation reconstitution experiments provide insight into the role of endoxylanases in bread-making. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1870–1877.

Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2012). *Infostat version 2012*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Retrieved from <http://www.infostat.com.ar>

Di Rienzo, J., Guzman, A., & Casanoves, F. (2002). A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of Agricultural Biological and Environmental Statistics*, 7 (2), 129{142. doi:10.1198/10857110260141193.

Ding, M., Feng, R., Wang, S. Y., Bowman, L., Lu, Y., Qian, Y., Shi, X. 2006. Cyanidin-3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. *Journal of Biological Chemistry*, 281(25), 17359–17368.

Eliasson A, Larsson K. 1993. A molecular colloidal approach. En: *Cereals in Breadmaking*. Editado por Eliasson A, Larson K. Marcel Dekker, USA. 376.

Eliasson A., Gudmundsson M. 1996. Starch: Physicochemical and functional aspects. En: *Carbohydrates in Food*. Editado por Eliasson A, Marcel Dekker, USA. 431-503.

Escarpa, A., & González, M. C. (2001). Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*, 427, 119–127.

Ewart JAD. 1989. Hypothesis for how linear glutenin holds gas in dough. *Food Chemistry*, 32 (2): 135-150. colloidal approach. En: *Cereals in Breadmaking*. Editado por Eliasson A, Larson K. Marcel Dekker, USA. 376

Faridi H, Faubion JM. 1990. Dough rheology and baked product texture. New York City, NY: Avi Books. 1–3, 356–358.

Finkel, T. & Holbrook, N.J. 2000. "Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing", en *Nature*. 408, pp. 239-247.

Gan Z, Ellis PR, Schofield JD. 1995. Mini review: Gas cell stabilization and gas retention in wheat bread dough. *Journal of Cereal Science*, 21: 215–230.

Gellynck X, Kühne B, Van Bockstaele F, Van de Walle D, Dewettinck K. 2009. Consumer perception of bread quality. *Appetite* 53, 16-23.

Giusti, M. and Wrolstad, R. E. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F:F1:F1.2.

González, M. J., Torres, J. L., & Medina, I. (2010). Impact of thermal processing on the activity of gallotannins and condensed tannins from *hamamelis virginiana* used as functional ingredients in seafood. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4274–4283. <https://doi.org/10.1021/jf904032y>

Gray JA, BeMiller JN. 2003. Bread staling: Molecular basis and control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2: 1–20.

Graybosch RA, Peterson CJ, Moore KJ, Stearns M and Grant DL. 1993. Comparative effects of wheat flour protein, lipid and pentosan composition in relation to baking and milling quality. *Cereal Chemistry*, 70: 95–101.



Greenwood C. 1976. Starch. En: *Advances in Cereal Science and Technology*, Vol. 1. Editado por Pomeranz Y. American Association of Cereal Chemists. USA. 119-157.

Grosch W, Wieser H. 1999. Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid. *Journal of Cereal Science*, 29: 1–16.

Gutteridge, J. & Halliwell, B. 1999. *Reactive oxygen species in biological systems*, pp. 189-218, New York, USA: D.L. Gilbert and C.A. Colton, eds.

Halliwell B, Rafter J, Jenner A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am J Clin Nutr*. 2005;81:268S–76S.

Hidalgo, A., Brandolini, A., Pompei, C. 2010. Carotenoids evolution during pasta, bread and water biscuit preparation from wheat flours. *Food Chemistry*, 121, 746-751.

Hoseney RC. 1984. Functional properties of pentosans in baked foods. *Food Technology*, 38: 114–117.

Hoseney RC. 1994a. Structure of Cereal. En: *Principles of Cereal Science and Technology*, Second Edition. Editado por Hoseney RC. American Association of Cereal Chemists, USA. 1-27.

Hoseney RC. 1994b. Dry Milling of Cereal. En: *Principles of Cereal Science and Technology*, Second Edition. Editado por Hoseney, C. American Association of Cereal Chemists, USA. 125-145.

Hoseney RC. 1994c. Rheology of doughs and batters. En: *Principles of Cereal Science and Technology*, Second Edition. Editado por Hoseney RC. American Association of Cereal Chemists, USA. 213-228.

Hoseney RC. 1994d. Gluten proteins. En: *Principles of Cereal Science and Technology*, Second Edition. Editado por Hoseney RC. American Association of Cereal Chemists, USA. 197-211.

Hoseney R.C. 1994e. Yeast-Leavened products. En: *Principles of cereal science and technology*, Second Edition. Editado por Hoseney R.C. American Association of Cereal Chemists, USA. 225-111.

Huang, W., Zhang, H., Liu, W., & Li, C. 2012. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 13(2), 94–102.

Jangam, S. Law, C. y Mujumdar, A. 2010. *Drying of Food, Vegetables and Fruits*, Volume 1, ISBN: 978-981-08-6759-1.

Jeffrey GA, Saenger W. 1994. *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer-Verlag, Berlin.

Johnson RH, Welch EA. 1968. Baked goods dough and method. US Patent Application US, 3: 368-903.

Joshi P, Brimelow C. 2002. Colour measurement of food by colour reflectance. En *Colour in food*. Woodhead Publishing Limited and CRC Press, LLC. Editado por Douglas B. MacDougall.

Karam M. C. , Petit J., Zimmer D., Baudelaire Djantou E. and Scher J., *J. Food Eng.*, 2016, 188, 32–49 Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review.

Karam, M. C., Petit, J., Zimmer, D., Baudelaire Djantou, E., Scher, J., Baudelaire, E., Scher, J. (2016). Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review. *Journal of Food Engineering*, 188, 32–49. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.001>

Kasarda D.D., Bernardin J., Nimmo C. Wheat proteins. [ed.] Pomeranz Y. *Advances in Cereal Science and Technology*. American Association of Cereal Chemists, 1976, vol. 1, p. 158-236.

Khanal, R. C., Howard, L. R., & Prior, R. L. (2009). Procyanidin content of grape seed and pomace , and total anthocyanin content of grape pomace as affected by extrusion processing. *Journal of Cereal Science*, 74(6), H174–H182. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01221.x>

Khatkar BS, Fido RJ, Tatham AS, Schofield JD. 2002. Functional properties of wheat gliadins. II. Effects on dynamic rheological properties of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 35: 307- 313.

Kulp K, Ponte JG. 1981. Staling of white pan bread: Fundamental causes. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15: 1–48.

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726–732.

Laaksonen, O., Knaapila, A., Niva, T., Deegan, K. C., & Sandell, M. (2016). Sensory properties and consumer characteristics contributing to liking of berries. *Food Quality and Preference*, 53, 117–126.

Lee M.R., Swanson B.G., Baik B.K. 2001. Influence of amylose content on properties of wheat starch and breadmaking quality of starch and gluten blends. *Cereal Chemistry*, 78: 701-706.

Lindahl L. 1990. Rheological properties in wheat flour systems. Molecular and interfacial basis. Thesis Doctoral. Lund University, Sweden.

Lindsay M. y Skerritt J. 1999. The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure function perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 247- 253.

Liu M., Li X.Q., Weber C., Lee C.Y., Brown J., Liu R.H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10): 2926- 2930.

Lü J-M, Lin PH, Yao Q, Chen C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2010;14(4):840-860. doi:10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x.

Lukton, A., Chickester, C. O., & Mackinney, G. (1956). The breakdown of strawberry anthocyanin pigment. *Food Technology*, 10, 427.

M. and Wrolstad, R. E. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F:F1:F1.2.

MacRitchie F. 1981. Flour lipids: Theoretical aspects and functional properties. *Cereal Chemistry*, 58: 156-158.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., and Jimenez, L., 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, no. 79, pp. 727–747.

Manzocco, L., Cagliari, S., Mastrocola, D., Nicoli. M. C. and Lericci. C. R., 2001. Review of nonenzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science and Technology*, no. 11, pp. 340-346.

Marques, L. G., Silveira, A. M., & Freire, J. T. (2007). Freeze-drying characteristics of tropical fruits. *Drying Technology*, 24, 457–463.  
<https://doi.org/10.1080/07373930600611919>

Martínez- Valverde I., Periago, M.J., Ros G., 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(1), 5-18

Matz S. 1999. Ingredients from wheat. En: *Bakery Technology and Engineering*, 3<sup>rd</sup> Edition. Editado por Matz S. Pan-Tech Internarional, USA. 1-21.

Mazza O., Miniati C., 1994. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. CRC Press, Boca Ratón. FL.

McEvily A., Iyenger R. y Gross A. Inhibition of polyphenols oxidase by phenolics compounds. En: *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I: Analysis, Occurrence and Chemistry*, Ho C., Lee C., Huang M. Eds., ACS Symposium Series 506. American Chemical Society, Washington, DC, 1992: 318-321

McRitchie, F., 2016. Seventy years of research into breadmaking quality. *Journal of Cereal Science* 70: 123-131.

Michalska, A., Honke, J., Lysiak, G., & Andlauer, W. (2016). Effect of drying parameters on the formation of early and intermediate stage products of the Maillard reaction in different plum (*Prunus domestica* L.) cultivars. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 932–938. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.015>

Mills, E.N.C., Wilde, P.J., Salt, L.J., Skeggs, P. 2003. Bubble formation and 855 stabilization in bread dough. *Transactions of the Institute of Chemical 856 Engineers* 81 Part C, 189-193.

Morrison WR, Law RV, Snape CE. 1993. Evidence for inclusion complexes of lipids with V-amylose in maize, rice and oat starches. *Journal of Cereal Science*, 18: 107–109.

Olesen T, Qi Si J, Donelyan V. 1994. Use of lipase in baking. *International Patent Application* WO 94/04035.

Omolola, A. O., Jideani, A. I. O., & Kapila, P. F. (2015). Quality properties of fruits as affected by drying operation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(1), 95–108. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.859563>

Papadakis S.E., Abdul-Malek S., Kamdem R.E., Yam K.L. 2000. A versatile and inexpensive technique for measuring colour of foods. *Food Technology* 54: 48– 51.

Pogna N, Redaelli R, Dachkevitch A, Dal Belin Peruffo A. 1994. Genetics of wheat quality and its improvement by conventional and biotechnological breeding. En: *Wheat Production, Properties and Quality*. Editado por Bushuk W, Rasper V. Chapman Hall. USA. 205 - 224.

Prior, Rl, Wu, X. and Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal and Agricultural Food Chemistry*, no. 53, pp. 4290-4302.

Pulido, R., Bravo, L. and Saura-Calixto, F., 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified Ferric reducing/Antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, no. 48, pp. 3396-3402.

Quiñones M., Miguel M., Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr. Hosp.* [online]. 2012, vol.27, n.1, pp.76-89. ISSN 1699-5198.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., and Rice-Evans C., 1999. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, no. 26, pp. 1231–1237.

Ross, C. F., Hoye, C., & Fernandez-Plotka, V. C. (2011). Influence of Heating on the Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of Grape Seed Flour. *Journal of Food Science*, 76(6), 884–890. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02280.x>

Sablani, S. S., Andrews, P. K., Davies, N. M., Walters, T., Saez, H., Syamaladevi, R. M., & Mohekar, P. R. (2010). Effect of thermal treatments on phytochemicals in conventionally and organically grown berries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 769–778. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3882>

Sablani, S.S. Drying of fruits and vegetables: Retention of nutritional=functional quality. *Drying Technology* 2006, 24, 123–135.

Sandstedt R. 1961. The function of starch in the baking of bread. *Baker's Dig.* 35: 36-41. Belitz H, Grosch W. 1999. Polysaccharides. En: *Food Chemistry*, Second Edition. Editado por Belitz H, Grosch W. Springer, Germany. 237-318.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. <http://www.sagpya.gov.ar>; <http://www.alimentosargentinos.gov.ar> (Consultada en agosto 2017).

Seeram N.P., Adams L.S., Zhang Y., Lee R., Sand D., Scheuller H.S., Heber D. 2006. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(25): 9329- 9339.

Shewry P.R., Popineau Y., Lafiandra D., Belton P. 2001. Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the Eurowheat Project. *Trend in Food Science and Technology*, 11: 433-441

Shewry PR, Tatham AS, Forde J, Kreis M, Mifflin BJ. 1986. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: A reassessment. *Journal of Cereal Science*, 4: 97–106.

Shewry PR, Tatham AS. 1990. The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochemical Journal*, 267: 1–12.

Shibanuma K., Takeda Y., Hizukuri S., Shibata S. 1994. Molecular structures of some wheat starches. *Carbohydrate Polymers*, 25: 111-116.

Sivam A.S., Sun-Waterhouse D., Perera C.O., Waterhouse G.I.N. 2013. Application of FT-IR and Raman spectroscopy for the study of biopolymers in breads fortified with fibre and polyphenols. *Food Research International*, 50(2): 574- 585.

Sivam A.S., Sun-Waterhouse D., Quek S., and Perera C.O. 2010. Physicochemical Properties of Bread Dough with Added Fiber Polysaccharides and Phenolic Antioxidants: A Review. *Journal of Food Science*, 75(8): 163-174.

Sivam, A. S., Sun-Waterhouse, D., Perera, C. O. & Waterhouse, G.(2013).Application of FT-IR and Raman spectroscopy for the study of biopolymers in breads fortified with fibre and polyphenols. *Food Research International*, 2013, 50, 574-585.

Spanos G., Wrolstad R. Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage-A review. *J Agric Food Chem* 1992; 40: 1478-1487.

Steffolani, M.E., Ribotta, P.D., Pérez, G.T. and León, A.E., 2010. Effect of Glucose Oxidase, Transglutaminase, and Pentosanase on Wheat Proteins. Relationship with Dough Properties and Bread-Making Quality. *Journal of Cereal Science*, no. 51(3), pp. 366–373.

Su, M. S., Chien, P. J.. 2007. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry*, 104, 182-187.

Sui, X, Zhang, Y, Zhou, W. 2016. Bread fortified with anthocyanin-rich extract from black rice as nutraceutical sources: Its quality attributes and in vitro digestibility. *Food Chemistry*, 196, 910-916.

Sun-Waterhouse D. Chen J., Chuah C., Wibisono R., Melton L.D., Laing W., Ferguson L.R., Skinner M.A. 2009. Kiwifruit-based polyphenols and related antioxidants for functional foods: kiwifruit extract-enhanced gluten-free bread. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(S7): 251- 264.

Sun-Waterhouse D, Jin D., Waterhouse G.I.N. Effect of adding elderberry juice concentrate on the quality attributes, polyphenol contents and antioxidant activity of three fibre-enriched pastas. *Food Research International*, 54: 781- 789.

Sun-Waterhouse D., Sivam A.S., Cooney J., Zhou J., Perera C.O., Waterhouse G.I.N. 2011. Effects of added fruit polyphenols and pectin on the properties of finished breads revealed by HPLC/LC-MS and Size-Exclusion HPLC. *Food Research International*, 44 (2011) 3047–3056.

Swieca, M., Se czyk, Ł., Gawlik-Dziki, U., & Dziki, D. (2014). Bread enriched with quinoa leaves—the influence of protein–phenolics interactions on the nutritional and antioxidant quality. *Food Chemistry*, 162, 54–62.

Tatham A. 1995. The structures of wheat protein. En: *Wheat Structure. Biochemistry and Functionality*. Editado por Schofield, Journal Royal society of Chemistry, England. 53-63. Wrigley C, Andrews J, Bekes F, Gras P, Gupta R, MacRitchie F, Skerritt J. 1998.

Tatham AS, Shewry PR. 1985. The conformation of wheat gluten proteins. The secondary structures and thermal stabilities of a-, b-, g and o-gliadins. *Journal of Cereal Science*. 3: 104–113.

UIA - Unión Industrial Argentina (2006). Debilidades y desafíos tecnológicos del sector productivo de frutas finas (Arándanos, Cereza, Frambuesa y Frutilla). Tucumán, Entre Ríos, Neuquén y Santa Cruz. Recuperado el 02/09/2014. Disponible en: [http://www.cofecyt.mincyt.gov.ar/pcias\\_pdfs/neuquen/UIA\\_frutas\\_finas\\_08.pdf](http://www.cofecyt.mincyt.gov.ar/pcias_pdfs/neuquen/UIA_frutas_finas_08.pdf)

UIA - Unión Industrial Argentina (2008). Debilidades y desafíos tecnológicos del sector productivo de frutas finas (Arándanos, Cereza, Frambuesa y Frutilla). Tucumán, Entre Ríos, Neuquén y Santa Cruz. Recuperado el 02/09/2014. Disponible en: [http://www.cofecyt.mincyt.gov.ar/pdf/productos\\_alimenticios/Frutihorticola/Frutas\\_Finas.pdf](http://www.cofecyt.mincyt.gov.ar/pdf/productos_alimenticios/Frutihorticola/Frutas_Finas.pdf)

Valores estándares de la USDA para ser usados como referencia. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list> (Consultada en agosto 2017).

van Oort M, van Straaten F, Laane C. 1995. Pentosans and pentosanases in bread-making. *International Food Ingredients*, 2:23-27

Veraverbeke W.S., Delcour J.A. 2002. Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42: 179–208.

Wang M, van Vliet T, Hamer RJ. 2005. Interaction of water unextractable solids and xylanase with gluten protein: effect of wheat cultivar. *Journal of Cereal Science*, 41: 251-258.

Whilster R, Daniel J. 1984. Molecular structure of Starch. En: Starch Chemistry and Technology. Ed. Whilster R, BeMiller J, Paschal E. Academic Press. NY. EUA. 153-182.

Whitte, B. L., Howard, L. R., & Prior, R. L. (2010). Release of bound procyanidins from cranberry pomace by alkaline hydrolysis. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7572–7579. <https://doi.org/10.1021/jf100700p>

Wieser H. 2003. The use of redox agents. In: Cauvain, S.P. (Ed.), *Bread Making-Improving Quality*. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, pp. 424–446.

Wieser H. 2006. Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24: 115-119  
Shewry PR, Halford NG, Tatham AS. 1992. High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science*, 15: 105–120.

Zielinska, M., & Michalska, A. (2016). Microwave-assisted drying of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits: Drying kinetics, polyphenols, anthocyanins, antioxidant capacity, colour and texture. *Food Chemistry*, 212, 671–680.



