



**Instituto de Tecnología de Alimentos.
Facultad de Ingeniería Química.
Universidad Nacional del Litoral.**

**ESTUDIO DEL EFECTO DE ACCIONES QUÍMICAS Y
BIOLÓGICAS SOBRE LA MASA PANARIA.**

**TESISTA:
Bqca. Bot, B.**

**DIRECTOR DE TESIS:
Ing. Sánchez, H. D**

**CODIRECTOR DE TESIS:
Mag. Alim. Osella, C. A.**

2008

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|-----|
| ÍNDICE DE TABLAS | IV |
| ÍNDICE DE FIGURAS | VI |
| RESUMEN | VII |
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE EL PAN | 1 |
| 1.2 MATERIAS PRIMAS | 2 |
| 1.2.1 Harina | 2 |
| 1.2.2 Agua | 4 |
| 1.2.3 Levadura | 4 |
| 1.2.4 Sal | 5 |
| 1.2.5 Aditivos | 5 |
| 1.3 PROCEDIMIENTOS | 8 |
| 1.3.1 Amasado | 8 |
| 1.3.2 Fermentación | 9 |
| 1.3.3 Cocción | 13 |
| 1.4 OBJETIVOS | 15 |
| 1.4.1 Objetivo general | 15 |
| 1.4.2 Objetivos específicos | 15 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS | 16 |
| 2.1 MATERIALES | 16 |
| 2.1.1 Harinas | 16 |
| 2.1.2 Masa Madre | 19 |
| 2.1.3 Aditivos | 21 |

| | | |
|------------|--|----|
| 2.2 | MÉTODOS | 21 |
| 2.2.1 | Selección del método de panificación | 21 |
| 2.2.1.1 | Pan francés | 21 |
| 2.2.1.2 | Pan de molde | 22 |
| 2.2.1.3 | Pan tipo casero | 22 |
| 2.2.1.4 | Ensayos previos y selección del método | 24 |
| 2.2.2 | Selección de los niveles de los agentes oxidantes | 24 |
| 2.2.3 | Análisis de la masa madre y niveles de utilización | 24 |
| 2.2.4 | Evaluación del efecto combinado de oxidante y masa madre | 25 |
| 2.2.4.1 | Energía absorbida por la masa (<i>work input</i>) | 25 |
| 2.2.4.2 | Comportamiento tecnológico | 25 |
| 2.2.4.3 | Diseño experimental | 27 |
| 2.2.4.4 | Verificación del diseño experimental | 28 |
| 3 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 30 |
| 3.1 | SELECCIÓN DEL MÉTODO DE PANIFICACIÓN | 30 |
| 3.1.1 | Ensayos previos | 30 |
| 3.1.2 | Selección del método | 30 |
| 3.2 | SELECCIÓN DE LOS NIVELES DE USO DE AGENTES OXIDANTES | 33 |
| 3.3 | SELECCIÓN DE MASA MADRE | 33 |
| 3.3.1 | Análisis de la masa madre | 33 |
| 3.3.2 | Selección del nivel de utilización | 36 |
| 3.4 | EFFECTO COMBINADO DE OXIDANTE Y MASA MADRE | 37 |
| 3.4.1 | <i>Work input</i> | 38 |
| 3.4.2 | Volumen específico | 40 |

| | | |
|-----------|--------------------------------------|----|
| 3.4.3 | Estructura de la miga | 45 |
| 3.4.4 | <i>Flavor</i> | 48 |
| 3.4.5 | Puntaje total | 50 |
| 3.4.6 | Verificación del diseño experimental | 53 |
| 4. | CONCLUSIÓN | 55 |
| 5. | BIBLIOGRAFÍA | 57 |
| 6. | ANEXO | 64 |
| | Presentaciones en congresos | 64 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|-------------------|--|----|
| Tabla 2.1 | Características de las harinas de trigo utilizadas | 16 |
| Tabla 2.2 | Formulaciones y procesos para los diferentes tipos de panes | 23 |
| Tabla 2.3 | Puntajes correspondientes a las diferentes características tenidas en cuenta por el panel de expertos | 26 |
| Tabla 2.4 | Calificaciones de los panes | 26 |
| Tabla 2.5 | Variables reales del diseño experimental | 27 |
| Tabla 3.1 | Volumen específico (por triplicado) media y desviación estándar de los diferentes ensayos con la harina de trigo comercial A | 30 |
| Tabla 3.2 | Test de hipótesis comparando el volumen específico obtenido con la harina de trigo comercial A y las harinas B, C y D, para los tres tipos de panificaciones | 31 |
| Tabla 3.3 | Puntaje total asignado a los panes elaborados con diferentes niveles de ácido ascórbico (AA) y azodicarbonamida (ADA) | 33 |
| Tabla 3.4 | Puntaje total asignado a los panes elaborados con diferentes niveles de reemplazo con masa madre (MM) | 36 |
| Tabla 3.5 | Energía absorbida por la masa (<i>work input</i>), volumen específico, estructura de la miga, <i>flavor</i> y puntaje total | 37 |
| Tabla 3.6 | Resultados de Análisis de Variancia (ANOVA) para <i>work input</i> | 38 |
| Tabla 3.7 | Coeficientes de regresión para <i>work input</i> | 39 |
| Tabla 3.8 | Resultados de Análisis de Variancia (ANOVA) para volumen específico | 41 |
| Tabla 3.9 | Coeficientes de regresión para volumen específico | 42 |
| Tabla 3.10 | Resultados de Análisis de Variancia (ANOVA) para la estructura de la miga | 45 |
| Tabla 3.11 | Coeficientes de regresión para estructura de la miga | 46 |
| Tabla 3.12 | Resultados de Análisis de Variancia (ANOVA) para <i>flavor</i> | 48 |
| Tabla 3.13 | Coeficientes de regresión para <i>flavor</i> | 49 |
| Tabla 3.14 | Resultados de Análisis de Variancia (ANOVA) para puntaje total del pan | 51 |

| | | |
|-------------------|---|----|
| Tabla 3.15 | Coeficientes de regresión para puntaje total | 51 |
| Tabla 3.16 | Puntajes total de las experiencias realizadas para verificar el diseño experimental | 54 |
| Tabla 3.17 | Valores del test de hipótesis | 54 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|--------------------|--|----|
| Figura 2.1 | Farinogramas obtenidos con las harinas A, B, C y D | 17 |
| Figura 2.2 | Alveogramas obtenidos con las harinas A, B, C y D | 18 |
| Figura 3.1 | Panes elaborados con los tres métodos propuestos y con las harinas A, B, C y D | 32 |
| Figura 3.2 | Acidez y pH vs. Tiempo de MM sin refrescar | 34 |
| Figura 3.3 | pH vs. tiempo | 35 |
| Figura 3.4 | Acidez vs. tiempo | 35 |
| Figura 3.5 | Superficie de la respuesta work input | 40 |
| Figura 3.6 | Superficie de la respuesta volumen específico | 43 |
| Figura 3.7 | Estructura química de la azodicarbonamida (ADA) | 44 |
| Figura 3.8 | Contorno de estimación de volumen específico | 44 |
| Figura 3.9 | Superficie de la respuesta estructura de la miga | 47 |
| Figura 3.10 | Superficie de la respuesta <i>flavor</i> | 50 |
| Figura 3.11 | Superficie de la respuesta puntaje total | 52 |
| Figura 3.12 | Contorno de estimación de puntaje total | 53 |

RESUMEN

RESUMEN

El pan es un producto de consumo masivo se puede fabricar con distintas formulaciones obteniendo así variedades tales como: el pan francés, el pan de molde y el pan tipo casero. La percepción sensorial es muy importante para la aceptación del producto por parte del consumidor, por lo que se le suelen agregar a los ingredientes básicos (harina, agua, levadura y sal) oxidantes, emulsionantes, conservantes, entre otros, cuya finalidad es mejorar la calidad del producto. En particular las sustancias oxidantes actúan durante el amasado favoreciendo la reestructuración de los enlaces presentes en las proteínas, lo que mejora las características físicas del producto.

Dentro del proceso de panificación, la fermentación es relevante en las características del pan. Este proceso es realizado por levaduras biológicas ya sean de producción industrial (levadura prensada, cepa pura de *Saccharomyces cereviceae*), o de producción artesanal (levadura natural o masa madre). Esta masa madre se produce por acción de levaduras y bacterias presentes en el medio ambiente sobre una masa de harina y agua que se deja fermentar a temperatura ambiente (a 25°C aproximadamente) y se le realizan posteriores refrescos para su conservación. Este tipo de fermentación es más lenta y más ácida que la que se produce con levadura comercial y presenta un mayor contenido de aminoácidos y azúcares simples. Dado que en la levadura natural coexisten diversos microorganismos, es que además de la fermentación alcohólica, se producen también fermentación láctica, propiónica, butírica y acética. Esto da origen a ácidos de cadena corta que contribuyen al aroma y sabor del pan.

En el presente trabajo se estudió el efecto de dos oxidantes, ácido ascórbico (AA) y azodicarbonamida (ADA) y de la levadura natural (masa madre MM) sobre la masa panaria. El tipo de panificación seleccionada para tal fin fue la de pan francés, el cual se obtiene a través del amasado, fermentación y cocción de harina de trigo, agua, levadura y sal. La pieza así obtenida se coloca sobre tela y tabla y se cocina directamente sobre el piso del horno Este pan se caracteriza por presentar una corteza lisa, dorada y bien adherente a la miga, con cortes parejos, superficie unida y crestas bien separadas La textura de la miga se presenta elástica, bien aireada, con alvéolos bastante irregulares.

El diseño del trabajo y el análisis de los resultados se realizaron con el programa Statgraphics plus 7.1, tomando como variables independientes: la masa madre, el AA y la ADA, y como respuestas: *work input*, volumen específico, estructura de la miga, aroma, sabor y puntaje total.

Cuando pasan 5 y 6 días del refresco de la masa madre (MM), esta presenta características fisicoquímicas adecuadas, tales como valores de $\text{pH} = 3,9 \pm 0,10$ y de acidez = $11 \pm 1,29$ meq/100 g de muestra. La relación ácido láctico/ácido acético es de 3:1, lo que se corresponde con los valores aceptados para trabajar en panificación según determina la bibliografía. Por esta razón se establece al día cinco, luego del refresco, como tiempo adecuado para la utilización de masa madre en panificación.

El volumen específico obtenido en las diferentes experiencias indica que los mejores resultados se obtienen al trabajar con MM y oxidantes, principalmente AA.

El puntaje total de los panes tiene en cuenta el volumen, el *flavor*, estructura de la miga, características de la corteza y la textura. Esta respuesta se ve favorecida cuando se utilizan concentraciones de AA y ADA de 160 ppm y 20 ppm ó 20 ppm y 110 ppm respectivamente y un nivel de reemplazo de MM del 5%. En el puntaje total se observó que la masa madre posee efecto significativo con $p < 0,05$.

Se puede concluir que una acidez elevada modifica las propiedades reológicas de la masa, lo cual influye de manera significativa en la calidad del producto. Por lo que cuando hay altas concentraciones de ácido ascórbico y/o elevado porcentaje de reemplazo de masa madre, que presenta una acidez elevada, ninguno de los parámetros utilizados como respuestas se ven favorecidos.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE EL PAN

El pan es un producto de consumo masivo que ha acompañado la evolución del hombre. Se lo ha elaborado de diversas maneras: sin levadura, blanco, negro, primeramente de un modo artesanal y luego con maquinarias. Independientemente del tipo de elaboración, integra desde la antigüedad la mesa de la mayoría de los hogares, ya sea para acompañar las comidas o como único alimento.

Cuando nos referimos al pan estamos hablando en forma genérica, ya que se puede fabricar con distintas formulaciones y procesos, obteniéndose así una variedad de definiciones de este producto y una variedad de formas dentro de la misma definición. Así podemos destacar dentro de las diferentes formulaciones: pan francés, pan de molde y pan tipo casero.

El pan francés se obtiene a través del amasado, fermentación y cocción de harina de trigo, agua potable, levadura y sal, y se le pueden añadir aditivos y coadyuvantes tecnológicos que no afecten el valor nutritivo del pan. (Ortega, 2002; Bloksma, 1978; Calvel, 1983, 1977; Sánchez, 1987). Estos panes se caracterizan por presentar una corteza lisa, dorada y bien adherente a la miga, con cortes parejos, superficie unida y crestas bien separadas. La textura de la miga se presenta elástica, bien aireada, con alvéolos bastante irregulares. (Calvel, 1983)

El pan de molde tiene grasa, a diferencia del pan francés, lo que lo hace más fácil de masticar y que su período de conservación sea muy superior. Pertenece a la categoría de panes especiales y en su elaboración se puede emplear, además de los ingredientes que se utilizan en el pan francés, azúcar, lácteos (leche, leche condensada, en polvo, total o parcialmente desnatada, suero en polvo) emulsionantes y condimentos, entre otros aditivos. El color de la miga debe ser blanco, la textura se compone de alvéolos finos y regulares (Calvel, 1983).

El pan tipo casero se obtiene agregando, además de los cuatro ingredientes básicos, una proporción mayor de grasa que en el pan de molde y no lleva leche en su formulación. Su aporte de hidratos de carbono es ligeramente superior con respecto al aporte del pan de molde, ha sido desde siempre la forma tradicional de elaborar el pan en los pueblos (Inti, 2006). Una característica peculiar es su gran tamaño y forma redondeada con una miga abundante y compacta. En relación a los otros panes mencionados, presenta una corteza gruesa, esta característica le permite conservarse tierno y fresco por varios días. El mayor contenido graso hace

que este pan presente un excelente sabor, más intenso y concentrado que otros panes.

Cuando se elige un alimento (en nuestro caso pan) la percepción sensorial es muy importante, por lo que el fabricante siempre intenta satisfacer los requerimientos de los consumidores (Hersleth et al, 2005). Por esto, además de los ingredientes tradicionales harina, agua, levadura, sal, grasa, hoy en día se le agrega a la preparación gluten, oxidantes, emulsionantes, conservantes, enzimas entre otros componentes que tienen como finalidad la obtención de un producto más apetitoso y de mejor calidad (Aamodt et al, 2005; Tejero. 2002).

En la elaboración del pan es importante tener en cuenta dos factores que hacen a la calidad del producto:

- ◆ Las materias primas (en todo tipo de pan los ingredientes básicos, como ya hemos mencionado, son: la harina, el agua, la levadura y la sal. En ocasiones suelen agregarse diferentes aditivos).
- ◆ El procedimiento a utilizar (amasado, fermentación y cocción).

1.2 MATERIAS PRIMAS

1.2.1 Harina

Se entiende por harina, al producto obtenido de la molienda del endospermo del grano de trigo, limpio e industrialmente puro (que debe cumplir con las exigencias del Código Alimentario Argentino. Capítulo IX art. 661). En general las harinas se componen de almidón, agua, proteínas, azúcares simples, materias grasas, materias minerales, vitaminas (Inti, 2006). Para una harina 000 la composición aproximada es de:

- Agua 14%.
- Proteínas 13%.
- Azúcares simples 1 – 2 %.
- Grasa 1 %.
- Cenizas 0,68 %.

En las harinas para controlar su calidad, comercial y tecnológica, se realizan diferentes determinaciones tales como: humedad, cenizas, gluten, ensayo en amilógrafo y farinógrafo Brabender, ensayo en alveógrafo Chopin, ensayo de panificación, entre otros.

El porcentaje de humedad entre las harinas comerciales es variable, se acepta como valor óptimo el comprendido entre el 13 y 15,5 %. El valor de las cenizas es de 0,68 % en base seca.

El gluten, compuesto por las proteínas gliadina y glutenina, constituye la fracción no soluble de las materias nitrogenadas que se encuentran en la harina. El porcentaje de agua presente en el gluten húmedo está en relación con la cantidad de agua que deberá agregarse cuando se realice el proceso de panificación. No es suficiente que una harina contenga un gran porcentaje de gluten para poseer un buen valor panadero, sino que es necesario que éste sea firme y equilibrado en elasticidad y extensibilidad.

El ensayo con el amilógrafo Brabender mide las propiedades fermentativas de la harina y determina en forma indirecta su actividad amilásica.

Al trabajar con el farinógrafo Brabender se determina la absorción de agua de la harina y el comportamiento durante el amasado (Desarrollo, Estabilidad, Tolerancia, Índice Valorimétrico).

Con el alveógrafo Chopin se mide las características plásticas de la masa, informando sobre la calidad del gluten.

La calidad de trigo determina su conveniencia para un producto en particular y el valor de uso de los productos finales. La calidad de panificación está determinada por las propiedades físicas de la masa, su potencial oxidativo, la absorción de agua por parte de la harina, el volumen del pan, y el color de la miga y la corteza (Iwona et al, 2004; Menkovska et al, 2002).

Algunas clases de trigo son particularmente apropiadas para objetivos específicos. Por ejemplo, el trigo débil es el mejor adaptado para hacer galletas, tortas y otros productos derivados (Robutti et al, 1998; Hou et al, 1996). Las propiedades tecnológicas de la harina son fuertemente influenciadas por el genotipo y condiciones de crecimiento ambientales. Estas propiedades se deben principalmente a la cantidad y la estructura de las proteínas del gluten (Wieser et al, 1998).

La textura de los productos de panificación se ve influenciada por varios factores tales como la fuerza de la harina, el contenido de proteínas y oxidantes, y la capacidad de absorción de agua (Zghal et al, 2001).

1.2.2 Agua

Es muy importante la cantidad y calidad del agua, ya que es el componente que hidrata la harina, hincha los gránulos de almidón y favorece el ablandamiento y alargamiento del gluten, dándole a la masa las características de plasticidad que permiten su desarrollo y manejo. La presencia del agua proporciona un medio húmedo indispensable para la creación y desarrollo de la fermentación. Es por ello que el agua debe ser potable (Inti, 2006; Calvel, 1983).

1.2.3 Levadura

La levadura provoca la fermentación de los azúcares de la harina, que se traducen en la liberación de gas, lo que facilita el leudado del pan y la formación de los alvéolos de la miga.

En panificación se puede utilizar levadura biológica, la cual puede ser de producción industrial (levadura prensada) o de producción artesanal (levadura natural o masa madre).

La **levadura prensada**, utilizada comercialmente, es una cepa pura de un microorganismo denominado *Saccharomyces cereviceae*, que se obtiene por procesos industriales y se comercializa como levadura prensada o deshidratada, produce una fermentación activa, principalmente de tipo alcohólica, poco ácida y su acción es predecible y reproducible bajo condiciones apropiadas de fabricación (Quaglia, 1991; Calvel, 1983). Esta levadura ha sido la más estudiada, ya se han identificado genes responsables de la producción de los diferentes metabolitos de la fermentación, como los genes PDC y ADH1 responsables de la producción de alcohol etílico (Fumiko et al, 2006).

La **levadura natural**, masa madre, es el producto de una fermentación artesanal, realizada por el propio panadero, que se produce por acción de levaduras y bacterias presentes en el medio ambiente sobre una masa de harina y agua que se deja fermentar a temperatura ambiente (a 25°C aproximadamente) y se le realizan posteriores refrescos. Tiene efectos positivos en la masa panaria y sobre el pan resultante, debido al mayor contenido de aminoácidos (lisina, prolina,

valina) y azúcares simples (Sánchez, 1987; Calvel, 1977, 1983; Quaglia, 1991; Tejero, 1999, 2001b).

Existe un grupo de bacterias que son las principales responsables de la producción de aminoácidos que contribuyen al *flavor* del producto, estas bacterias son gram (+) y son llamadas bacterias ácido lácticas (BAL) (Thiele et al, 2002; Mills, 2004; Mc Feeters, 2004; Katina et al, 2002, 2006; Herve et al, 2006; Guerzoni et al, 2007).

1.2.4. Sal

Aunque en los comienzos de la panificación no fue considerada importante, la sal en la actualidad es uno de los principales elementos de la masa para obtener un producto apetitoso para el consumidor. La sal refuerza las propiedades plásticas de la masa y las mejora notablemente. Sus funciones son:

- Producir un fortalecimiento del gluten lo que aumenta la firmeza de la masa y mejora su manejabilidad.
- Aumentar la absorción de agua.
- Resaltar el sabor.
- Influir en la cocción en la coloración de la corteza.

Las proporciones deben ser adecuadas, ya que la falta de sal produce masas blandas, pegajosas y la miga del pan se desmorona, y un exceso tiende a reducir la capacidad de la levadura e incluso detener la fermentación (Inti 2006).

1.2.5 Aditivos

La Industria Panadera está en una constante búsqueda de la Calidad de sus productos, para lo cual trata siempre de satisfacer el gusto de los consumidores; es decir realizar productos que resulten más atractivos desde el punto de vista organoléptico y nutricional. Para tal fin, además de abocarse al desarrollo de diferentes procesos fermentativos, incorpora diferentes compuestos tales como oxidantes, reductores, conservantes, entre otros para lograr un mejor producto (Kihlberg et al 2004). Estos compuestos son llamados aditivos, es decir sustancias que se añaden intencionalmente a los alimentos con el fin de modificar sus características, técnicas de elaboración, conservación y/o para mejorar su adaptación al uso que se destine, sin modificar el valor nutritivo (Madrid,1987; Barber et al, 1991).

Para mejorar las características físicas y para evitar alteraciones del producto se utilizan **sustancias oxidantes** que actúan durante el amasado y favorezcan la reestructuración de los enlaces presentes en las proteínas (Quaglia,1991; Dong and Hoseneey, 1995).

En general estas sustancias oxidantes se adicionan en concentraciones predeterminadas; sus funciones son:

- Reforzar las propiedades mecánicas del gluten.
- Aumentar la capacidad de retención de CO₂, con lo que se obtienen panes con mayor volumen, mejores alvéolos y una miga más uniforme.

Una masa obtenida con harina de trigo, tiene una estructura característica, el gluten, el cual es formado por proteínas, gliadinas y gluteninas. El gluten se forma por la acción del agua y la energía mecánica proporcionada a la masa durante el amasado, resultando en la formación de una red proteica elástica a través de enlaces intermoleculares e intramoleculares. Estos enlaces proteicos pueden ser de tipo peptídico, como ocurre entre los aminoácidos; o de tipo enlace disulfuro como consecuencia de la unión de dos moléculas de cisteína por deshidrogenación. El primero depende del pH, mientras que el segundo depende del potencial redox y de la presencia de oxidantes (Quaglia, 1991). Sobre estos enlaces actúan los compuestos químicos, que tienen la función de generar una red de gluten más fuerte. Esto provoca una mayor tolerancia de las masas ya que son menos pegajosas y, por tanto, más fácilmente manejables. Además, la malla reforzada de gluten permite una mejor retención de los gases liberados en la fermentación (Quaglia, 1991; Allen, 1999; Liao et al, 1998).

Existen diferentes sustancias oxidantes utilizadas en la industria panadera, tales como bromato de potasio, yodato de calcio, yodato de potasio, azodicarbonamida (ADA), ácido L-ascórbico entre otros. Estos aditivos actúan en diferentes partes del proceso de panificación, algunos tienen su efecto durante el mezclado como el ácido ascórbico, otros actúan durante la fermentación, como es el caso del bromato de potasio. Esta diferencia es debida a que el pH condiciona la acción de estas sustancias. (Popper 1997; Hoseneey 1998).

El bromato de potasio es un muy buen oxidante, es uno de los oxidantes que primero se introdujo en la industria panadera, se lo utiliza desde 1916 (Fitchett and Frazier, 1986). Primeramente la FDA permitió su uso en harinas en una concentración de 50 ppm (Giesecke and Taillie, 2000); luego en 1992 el Joint

FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) recomienda excluirlo como aditivo panario, ya que es considerado una sustancia cancerígena para el hombre (Dupuis, 1997). Luego de ser considerado cancerígeno la FDA realizó estudios que demostraron que 20 ppb de bromato de potasio residual es un límite seguro (Giesecke and Taillie, 2000). Se lo ha tratado de sustituir por compuestos químicos, por enzimas como la gluco-oxidasa o variando las condiciones de trabajo, como por ejemplo, la temperatura (Deplace, 1995; Miller and Hosenev, 1999; Gélinas et al, 2001). La calidad de la fermentación de la masa está condicionada por la rapidez con que la enzima desarrolla la oxidación, por lo que es utilizada en conjunto con un oxidante químico (Deplace, 1995).

El ácido L-ascórbico se comenzó a utilizar en la masa panaria en 1935 (Fitchett and Frazier, 1986). Es el oxidante de elección hoy día, debido a que no es perjudicial para la salud, no influye en el sabor del pan y da buenos resultados, (Calvel, 1995b). La dosis utilizada depende de la calidad y el origen de la harina, permitiéndose un máximo de 200mg/Kg de harina (Popper, 1997). Su adición disminuye el pH, el aumento de los H⁺ favorece la formación de enlaces puente hidrógeno entre las cadenas de proteínas, dado que al ser ricas en glutaminas y aminoácidos hidroxilados tienden a formar este tipo de unión, esto también favorece la absorción de agua (Cheftel, 1985).

Químicamente, el ácido L-ascórbico es un agente reductor, conocido como un antioxidante natural, que se lo suele emplear como conservante de alimentos para evitar o retardar su oxidación (Nakamura and Kurata, 1997; Popper, 1997; Tejero, 2002) mientras que en panificación es utilizado como oxidante. Esto es posible debido a la acción de la enzima ascorbicoxidasa que en presencia de oxígeno del aire incorporado a la masa durante el amasado, produce la oxidación del ácido L-ascórbico a ácido dehidro-L-ascórbico que es el que actúa como oxidante. Parte del dehidroascórbico, una vez agotado el oxígeno presente en la masa, por acción de la enzima ácido dehidroascórbico reductasa vuelve a originar ácido ascórbico, produciendo un leve debilitamiento de la malla proteica al final de la fermentación, lo que facilita una mayor expansión en el horno. (Quaglia, 1991; Nakamura and Kurata, 1997; Tejero, 1997). El ácido dehidro-L-ascórbico, que es el que ejerce la acción oxidante, se descompone rápidamente, esta inestabilidad hace que se deba incorporar su precursor, el ácido L-ascórbico para que lo origine durante el amasado.

Como mejorante, el ácido ascórbico produce los siguientes efectos: (Tejero, 2000, 1997):

- Aumenta la tenacidad y la elasticidad de la masa.
- Aumenta la capacidad de absorción de agua de la masa y fortalece el gluten. Esta acción es más favorable cuando el gluten es de buena calidad.
- Mejora el volumen del pan y algunas características organolépticas:
 - o Mejor color de la corteza.
 - o Miga más blanca.

El ADA es un oxidante que se ha incorporado en la industria panadera desde 1962. Actúa produciendo grupos disulfuros por oxidación de los grupos tioles de las proteínas presentes en la harina, esto hace que la masa pueda absorber mayores cantidades de agua y obtener así un pan de mejor textura y volumen (Fitchett and Frazier, 1986), también es adicionado como agente blanqueador (Becalski et al, 2004; Noonan et al, 2005). En comparación con el iodato utilizado como oxidante, se sabe que la ADA incrementa la resistencia al amasado y se obtienen panes de mejor calidad (Lang et al, 1992). La concentración utilizada va a estar determinada por la incorporación de ADA sólo o conjuntamente con otros oxidantes. (Baker et al, 1988). Si bien los beneficios son muchos, se debe tener precaución en su uso, ya que hay estudios que indican que su adición en diferentes productos origina compuestos tóxicos como el etil carbamato. (Dennis et al, 1997).

1.3 PROCEDIMIENTO

1.3.1 Amasado

El amasado es la primera operación de la panificación, ya sea a mano o mecánico, asegura la mezcla de las materias primas y la formación de la masa (Calvel, 1983).

La calidad del pan es controlada por la composición de la harina de trigo y también por las variables de amasado como el diseño de la amasadora, el tiempo y la velocidad de amasado y el contenido de agua. La intensidad del amasado debe ser mayor que un nivel mínimo crítico que varía tanto con la harina como con la amasadora y el trabajo impartido a la masa debe ser mayor que una cantidad crítica

mínima dependiente de la harina utilizada. Durante el proceso, cada paso de fabricación del pan afecta considerablemente la calidad de producto.

Varias determinaciones se han utilizado para medir las propiedades reológicas de la masa de harina de trigo; tales medidas son ser sensibles al contenido de agua de la masa, ya que las propiedades mecánicas óptimas son el resultado de una proporción adecuada de harina y agua.

En escala de laboratorio se utilizan amasadoras para predecir el comportamiento de la masa en una escala industrial. Los dos instrumentos tradicionales para testear la masa de trigo son el farinografo y el mixografo, los cuales mezclan la harina y el agua y determinan la extensibilidad y el desarrollo de la masa. Dado que la mezcla a escala de laboratorio es utilizada para predecir el comportamiento de la mezcla a escala industrial, su mecanismo de amasado debe ser similar a los de la amasadora que se utilizan en la industria. En Argentina, la escala industrial del pan es producida principalmente por un desarrollo mecánico de la masa, el cual utiliza altas velocidades de mezclado y un agente oxidante. (Osella et al, 2007).

En esta etapa es importante determinar la temperatura de la masa para alcanzar la temperatura deseada (aproximadamente 25°C). La operación de mezclar y amasar produce un aumento de temperatura de la masa, causada principalmente por el calor producido por la hidratación de la harina al iniciar la absorción de agua y por el calor generado por la fricción de la masa durante el amasado. Por lo que se puede controlar variando la temperatura del agua a agregar, ya sea con hielo o calentándola, según corresponda. (Inti, 2006).

1.3.2 Fermentación

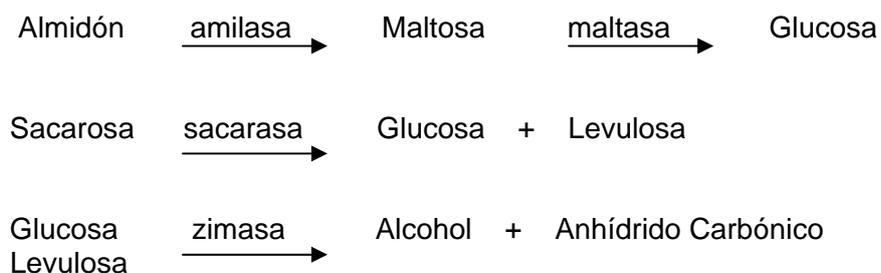
La fermentación se comenzó a utilizar, desde épocas remotas, en los productos alimenticios como método para preservar los mismos. Hoy es considerada en la industria de alimentos, como una tecnología del futuro (Cherl-Ho, 2004; Mills, 2004). En la elaboración del pan la fermentación es un paso fundamental para su calidad, ya que de ella dependen varias características del producto final, tales como el volumen o el alveolado de la miga (Tejero, 2001(a); Arendt et al, 2007; Löner and Preve-Akesson, 2005). Los microorganismos responsables de este proceso son las levaduras. Sobre la actividad de las mismas influyen diferentes factores químicos como: el pH, los nutrientes disponibles y la

presencia de sustancias capaces de bloquear el desarrollo o de inhibir la actividad de fermentación (Quaglia, 1991; Cortés, 2001).

Cuando se utiliza levadura comercial, el producto principal que se forma es el etanol, y en menor proporción también pueden hallarse diferentes ácidos que contribuyen al *flavor* del producto. Los microorganismos responsables de la fermentación, se nutren de azúcares (glucosa y levulosa) presentes en la masa, los cuales sufren una transformación enzimática dando como productos principales anhídrido carbónico y alcohol (Calvel, 1995).

El gas es el responsable de esponjar la masa y de la presencia de los alvéolos en el pan. El dióxido de carbono producido, es retenido por la masa en dos fases: 1) como gas retenido dentro de la célula, y 2) como gas disuelto en fase acuosa. Este último es inversamente proporcional a la temperatura y es afectado por el pH de la masa, en donde existe mayoritariamente como CO_2 y en menor proporción como H_2CO_3 y HCO_3^- (Hoseney, 1998).

Los azúcares, que utilizan los microorganismos como nutrientes, son aportados por la harina y por la actividad de las enzimas sobre el almidón. La mayor producción se consigue por el ataque de las amilasas sobre el almidón, produciendo maltosa y luego por acción de la maltasa se obtiene glucosa. La secuencia es la que se detalla a continuación: (Calvel, 1977, 1983; Sánchez, 1987).



Las distintas enzimas involucradas en la producción de azúcares simples son aportadas por la harina, por las levaduras y en ocasiones son adicionadas con el fin de mejorar la calidad del producto.

| Enzimas | Proviene de |
|----------|------------------------------|
| Amilasa | Harina y productos malteados |
| Maltasa | Harina y levadura |
| Sacarasa | Harina y levadura |
| Zimasa | Levadura |

En el proceso de fermentación las enzimas no solo intervienen en la formación de azúcares, sino que también están involucradas en otras reacciones químicas importantes para la calidad del producto. Tales enzimas son:

- **Proteasas:** Dan lugar a péptidos y aminoácidos que pueden ser metabolizados por las levaduras. Estos pueden ser oxidados a ácidos o reducidos a alcoholes y originar ésteres, obteniéndose así compuestos que aportan al aroma y sabor del producto final. Los aminoácidos en la cocción también contribuyen al aroma y sabor del pan, a través de la reacción de Maillard. Los péptidos son reconocidos como potenciales oxidantes, exaltadores de sabor, edulcorantes y principios amargos.

- **Oxidoreductasas** que intervienen en los sistemas de oxidación y reducción de las proteínas del gluten (responsables de la calidad del pan además de la blancura de la miga), y

- **Fitasas** que se activan durante la fermentación y degradan el fósforo orgánico del ácido fítico a fósforo inorgánico asimilable y no quelante de metales. (Benedito, 1991).

La fermentación realizada con masa madre natural es más lenta y más ácida que la que se produce con levadura comercial. La fermentación alcohólica no es la única que se produce, dado que con la *Saccharomyces* coexisten otros microorganismos tales como *Lactobacillus plantarum* que realiza una fermentación **láctica** transformando la glucosa en ácido láctico; *Propionibacterium shermanii* que realiza la fermentación **propiónica** transformando glucosa en ácido propiónico, acético y anhídrido carbónico; *Clostridium butyricum* que realiza una fermentación **butírica**, con producción de ácido butírico y anhídrido carbónico a partir de ácido láctico; *Lactobacillus brevis* que realiza una fermentación **acética** con producción de ácido acético a partir de alcohol etílico que se generó en la fermentación alcohólica. La producción de ácidos de cadena corta contribuye al aroma y sabor

del pan. Los lactobacilos heterofermentadores producen anhídrido carbónico (Calvel,1983; Benedito, 1991; Meignen et al, 2001; Arendt et al, 2007).

La formación de los distintos ácidos tiene efectos diferentes en la fermentación y en el proceso de panificación, dependiendo de la concentración en que se encuentran. Una pequeña cantidad de ácido láctico favorece el desarrollo de *Saccharomyces* impidiendo el crecimiento de otros microorganismos y hace más elástica la masa; en cambio el ácido acético tiene efecto negativo sobre las características del gluten provocando una masa más corta y rígida; ambos ácidos influyen en la estructura de la miga (Hoseney, 1998).

Si bien existe poca información acerca de los microorganismos presentes en la masa madre, se sabe que son ellos, a través de sus metabolitos producidos durante la fermentación, los responsables de los cambios en la calidad panadera de la masa, aroma, sabor y textura del producto. Se ha comprobado que a pH < 5,5 se produce una mayor liberación de fenilalanina, lisina y cisteína, que son los aminoácidos que mejor contribuyen al aroma y sabor del pan. Estas condiciones de trabajo se logran trabajando con bacterias ácido lácticas y levaduras (Onno and Ragot 1988; Thiele et al 2002). Esto es corroborado por trabajos realizados por el Laboratorio de Cereales del IATA (España), quienes aseguran que el procedimiento de preparación de la masa madre influirá en el comportamiento de la masa panaria (Barber and Báguena, 1988; Benedito, 1998).

Es fundamental que la cantidad de ácido esté en proporciones óptimas, la relación láctico: acético debe ser 3:1, para proporcionar a la masa una acidez mayor de la que se obtiene con el empleo de levadura comercial, (la acidez de la masa la dan los ácidos producidos y el anhídrido carbónico formado) (Hoseney, 1998; Löner and Preve-Akesson, 2005). La diferente consistencia y temperatura de la masa determina cantidades diferentes de ácidos. Así, una mayor consistencia, al igual que temperaturas bajas, favorece la producción de ácido acético y va en detrimento del ácido láctico. (Quaglia, 1991).

Las ventajas de la utilización de levadura natural con respecto a la comercial son:

- Mejor conservación del producto debido a la mayor acidez de la masa que retarda el desarrollo de hongos.

- Una miga con porosidad más fina y regular, debido a una producción de anhídrido carbónico más lenta y gradual, como consecuencia de una mayor duración del proceso de fermentación.

- Sabor y aroma característicos, acentuados por la formación de sustancias orgánicas volátiles y por productos aromáticos que se forman durante la cocción entre los aminoácidos y los azúcares.

- Más fácil digestión y asimilación de los productos, ya que en la fermentación natural, la mayor duración del proceso de fermentación permite una acción más prolongada de las enzimas proteolíticas, que hacen al producto rico en aminoácidos. Estos se producen por transformaciones análogas a las que tienen lugar en la digestión de los alimentos, facilitando así la labor del aparato digestivo. (Calvel, 1996; Valls, 1997; Quaglia, 1991).

Debido a la importancia del proceso de fermentación en la calidad del producto final, es que la tecnología de alimentos tiene como desafío importante el desarrollo de estudios sobre este proceso (Dobraszcyk and Morgenstern, 2003; Cherl-Ho, 2004; Carnevali et al, 2006; Markus J, 2007).

1.3.3 Cocción

Durante la cocción se produce la transformación de la masa fermentada en pan. Se realiza en dos etapas:

- Primeramente, la fermentación en el interior de la pieza continúa hasta que se alcanza una temperatura de 45-50°C, lo que provoca la destrucción de las levaduras. En esta etapa continúa la producción de CO₂ y como consecuencia del calor, el gas produce un empuje sobre la masa y hace que esta se hinche, los alvéolos interiores aumentan su volumen y sus paredes se adelgazan.

Cuando la temperatura es de 60-70 °C, el gluten se coagula y el almidón gelatiniza, lo que provoca pérdida de la plasticidad de las paredes de la masa y la adquisición de la estructura definitiva del pan.

- En una segunda etapa, la acción del calor produce el desecamiento de la superficie de la pieza, lo que formará la corteza y luego de un tiempo el cocimiento del pan (Calvel, 1983).

En definitiva, tanto la masa madre natural como los oxidantes mejoran la calidad del pan, pero la interacción masa madre espontánea-aditivo no es

equivalente a la suma de efectos individuales. Los cambios no se producen estrictamente, sino que van a depender de las características de la harina utilizada. (Barber et al, 1991).

La mayoría de los trabajos se han llevado a cabo a través de la experimentación. La cual es considerada parte del proceso científico y una de las formas en que se puede aprender como funcionan los sistemas o procesos de interés.

En las investigaciones se pueden realizar experimentos diseñados, es decir, una prueba o serie de pruebas en las cuales se producen cambios deliberados en las variables de entrada de un proceso o sistema, de manera que sea posible observar o identificar las causas de los cambios en las respuestas (Montgomery, 1991).

Los métodos de diseño experimental son importantes en el desarrollo de procesos y en la depuración de procesos para mejorar el rendimiento.

La aplicación de técnicas de diseño experimental tiene las siguientes ventajas:

- Mejora en el rendimiento del proceso.
- Menor variabilidad.
- Menor tiempo de desarrollo.
- Menores costos globales.
- Evaluación y comparación de diseños.
- Evaluación de materiales alternativos.
- Selección de parámetros de diseños

Los métodos estadísticos pueden incrementar la eficiencia de los experimentos (Montgomery, 1991)

La metodología de superficie respuesta es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas útiles para modelar y analizar problemas en los cuales una respuesta de interés es influida por varias variables y el objetivo es optimizar esta respuesta. Por lo general, para tal fin, se utiliza un polinomio de orden bajo sobre alguna región de las variables independientes. Si la respuesta es descripta

por una función lineal de las variables independientes, la función de aproximación es el modelo de primer orden.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \epsilon$$

Cuando existe curvatura en el sistema debe usarse un polinomio de mayor grado

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{l=1}^k \sum_{j=1}^k \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon$$

El método de los cuadrados mínimos sirve para estimar los parámetros del polinomio de aproximación. La estimación de los parámetros del modelo se hace más eficazmente si se utilizan los diseños experimentales apropiados para recopilar los datos. Estos diseños se denominan “diseño de superficie de respuesta”.

La respuesta se presenta como una superficie sólida en un espacio tridimensional. Para una mejor visualización se pueden graficar los contornos de dichas superficies. En este tipo de gráficas se trazan líneas de respuesta en el plano (Montgomery, 1991).

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general.

En el presente trabajo el objetivo general es estudiar el efecto de ciertas acciones químicas y otras de carácter biológico sobre el comportamiento de la masa para elaboración de pan.

1.4.2 Objetivos específicos

- Encontrar el tipo o variedad de pan que mejor refleja las variaciones de los parámetros de calidad de la harina.
- Seleccionar niveles de uso de agentes oxidantes en panificación.
- Determinar las condiciones más apropiadas para llevar a cabo la elaboración de masa madre y su nivel de uso en panificación.
- Evaluar el efecto combinado de masa madre y de agentes oxidantes sobre las principales características que determinan la calidad del pan.

MATERIALES Y MÉTODOS

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 MATERIALES

2.1.1. Harinas

Se trabajó con cuatro tipos de harinas de trigo:

- **Harina A:** Harina de trigo comercial provista por Molinos Matilde.
- **Harinas B, C y D:** Harinas de trigos provistos por INTA

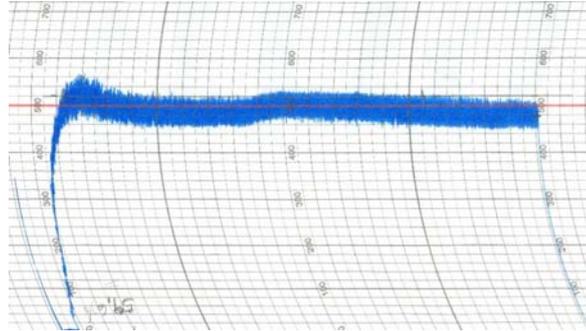
Pergamino

Las características de cada harina se detallan en la Tabla 2.1. En las Figs. 2.1 y 2.2, se presentan los farinogramas y alveogramas de cada una de ellas.

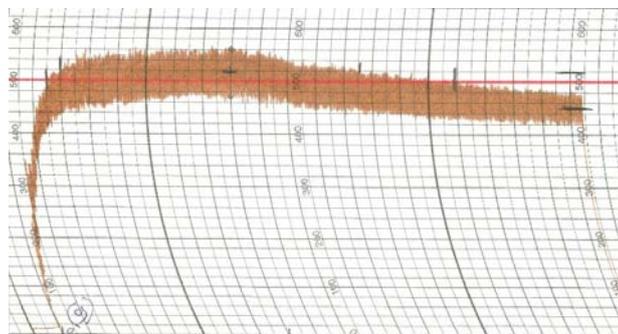
Tabla 2.1
Características de las harinas de trigo utilizadas

| Harina | A | B | C | D |
|---------------------------------------|------|------|------|------|
| Determinaciones | | | | |
| HUMEDAD (%) | 13.5 | 13.7 | 13.5 | 14.2 |
| GLUTEN HÚMEDO (%) | 28 | 25.5 | 27 | 29 |
| AMILOGRAMA | | | | |
| Pico máximo (UB) | 700 | 1000 | 870 | 900 |
| FARINOGRAMA | | | | |
| Absorción de agua (%) base 14% | 60 | 60 | 56 | 62 |
| Desarrollo (min.) | 2,5 | 10 | 5 | 4 |
| Estabilidad (min.) | 18 | 14 | 8,5 | 4 |
| Ablandamiento (UB) | 0 | 40 | 50 | 170 |
| ALVEOGRAMA | | | | |
| W | 270 | 240 | 180 | 130 |
| P/L | 1,31 | 1,1 | 0,45 | 1,5 |

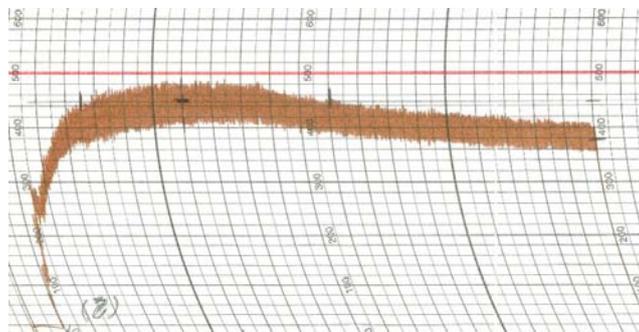
A



B



C



D

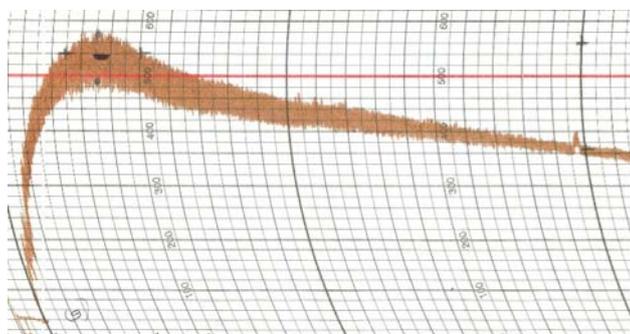


Fig.2.1 Farinogramas obtenidos con las harinas A, B, C y D

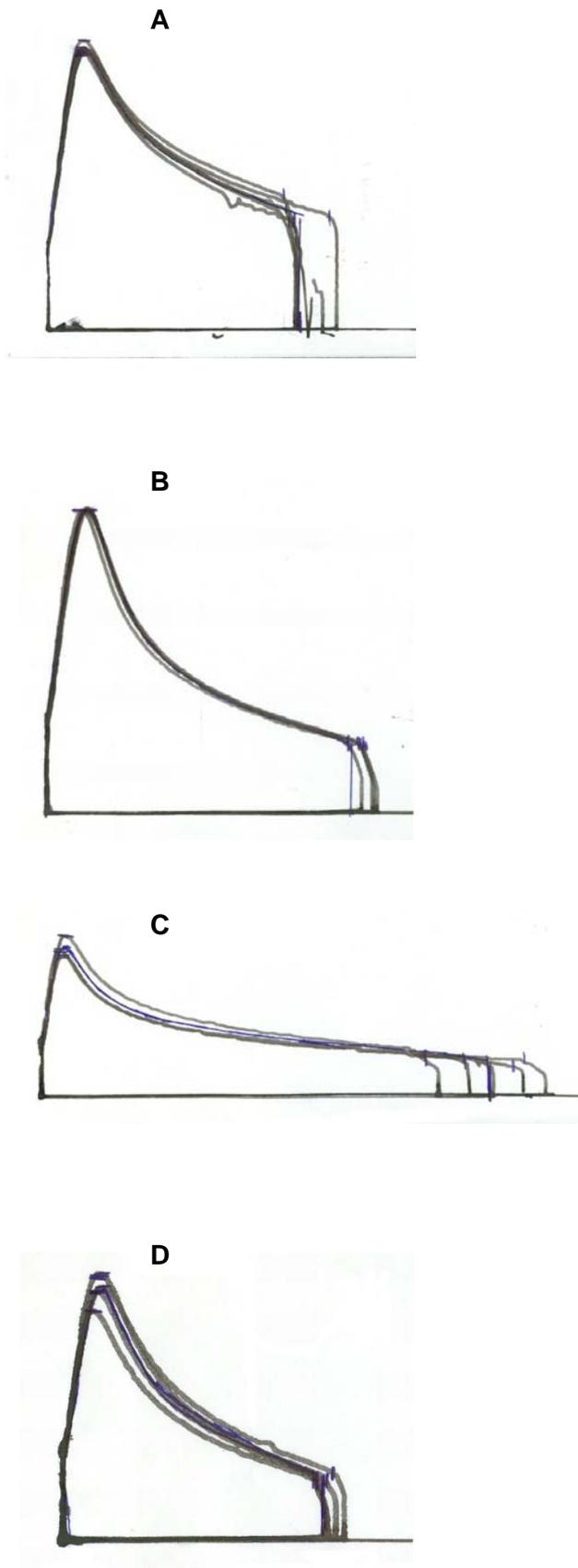


Fig. 2.2 Alveogramas obtenidos con las harinas A, B, C y D

Para las determinaciones de humedad y gluten húmedo se utilizó la metodología de la AACC., para humedad la técnica seleccionada fue la 44-15A y para gluten la 38-10 (Approved Methods of the AACC 1994).

Medida de la actividad enzimática

Los Amilogramas fueron realizados según ICC-N°126/1-1992, en viscoamilógrafo Brabender utilizando 80 g de muestra (base 14 % de humedad) y 450 ml agua, agitando a 75 rpm y calentando a 1.5°C / min hasta alcanzar el pico amilográfico. El resultado se expresa en Unidades Brabender (UB).

Propiedades físicas de la masa

Los Farinogramas fueron realizados en el farinógrafo Brabender (amasadora para 300 g) utilizando la técnica (AACC 54-21). Se midió absorción de agua (%), tiempo de desarrollo (minutos), estabilidad al amasado (minutos) y ablandamiento (UB).

Los Alveogramas fueron realizados en alveógrafo Chopin sobre 250 g de harina (AACC 54-30). Se midió energía a la ruptura W ($J \times 10^{-4}$) y la relación P/L.

2.1.2. Masa Madre

La masa madre natural (MM) a utilizar se elaboró siguiendo los pasos convencionales, respetando las proporciones pero modificando el tiempo de reposo a temperatura ambiente **en todas las etapas**, que en nuestro estudio fue de 1 hora **a temperatura ambiente** y luego a 4°C.

El método convencional de elaboración de MM es el que se detalla a continuación:

| | | | |
|--------------|---|------------|----------------------------|
| 1ª Etapa: | } | - 0,250 Kg | Harina de centeno integral |
| Masa inicial | | - 0,300 Kg | Agua a 45°C |
| | | - 0,005 Kg | Azúcar simple |

Incorporar todos los ingredientes en un recipiente y mezclar bien con ayuda de una espátula. Tapar el recipiente y dejar reposar 24 horas a temperatura ambiente.

| | | | |
|------------------------|---|------------|---------------------|
| 2ª Etapa: | } | - 0,555 Kg | Masa inicial |
| Primer refresco | | - 0,500 Kg | Harina de trigo |
| | | - 0,125 Kg | Agua a 35°C |

En **esta segunda etapa** mezclar los ingredientes, formar una masa y dejarla reposar en un recipiente tapado con una tela durante 12 horas a temperatura ambiente.

| | | | |
|-------------------------|---|------------|-----------------|
| 3ª Etapa: | } | - 1,150 Kg | Primer refresco |
| | | - 1,150 Kg | Harina de trigo |
| Segundo refresco | | - 0,650 Kg | Agua a 25 °C |
| | | - 0,025 Kg | Sal |

Seguir el mismo procedimiento que en la etapa anterior.

| | | | |
|-------------------|---|------------|------------------|
| 4ª Etapa: | } | - 3 Kg | Segundo refresco |
| | | - 3 Kg | Harina de trigo |
| MASA MADRE | | - 1,680 Kg | Agua a 25 °C |
| (MM) | | - 0,060 Kg | Sal |

Seguir el mismo procedimiento que el utilizado en el primero y segundo refresco pero dejando solo un reposo de 8 horas **a temperatura ambiente**.

Con esta **última etapa** ya está **lograda la MM natural** que se utilizará para refrescar regularmente, respetando la siguiente formulación:

- 1 Kg Masa madre
- 1 Kg Harina de trigo
- 0,560 Kg Agua a 25 °C
- 0,020 Kg Sal

2.1.3. Aditivos

Se trabajó con dos aditivos que tienen función oxidante. El más conocido, en la industria panificadora, es el ácido ascórbico (AA Merck) y el otro, una amida, la azodicarbonamida (ADA Inmobal-nutrer), ambos de uso relativamente frecuente en la panificación.

2.2 MÉTODOS

2.2.1. Selección del método de panificación

Se trabajó sobre la base de tres métodos de elaboración de pan: pan francés, pan de molde y pan tipo casero.

2.2.1.1. Pan francés

1. Amasado, de la harina con la levadura y el agua necesaria, durante 3 minutos en Amasadora Brabender de 300 g de capacidad. Se deja descansar por 2 minutos, y se vuelve a amasar por 12 minutos más. A los 5 minutos de esta segunda etapa se agrega la sal.

2. Primera fermentación en cámara con temperatura y humedad controladas (27°C y 75/80%HR), hasta duplicar el volumen de la masa. Este crecimiento producido por la fermentación se controla con un medidor de empuje que permite visualizar el avance de una muestra de masa de 25 gramos, en un cilindro transparente con un émbolo liviano que va elevándose con el empuje de esta masa.

3. Una vez duplicado el volumen se divide la masa en dos piezas (200 gramos cada una), se rebolla y se la deja reposar durante 10 minutos, luego se procede a laminación y armado manual de las piezas.

El laminado se realiza con un regulador que permite reducir la masa hasta 6 mm de espesor. Luego se lleva a cabo el arrollamiento para formar la pieza final.

4. Las piezas son colocadas sobre un lienzo y llevadas a una segunda fermentación en las mismas condiciones de temperatura y humedad que la primera fermentación. Se deja en esas condiciones hasta triplicar el volumen de masa. Este control se lleva a cabo con el medidor de empuje.

5. Una vez triplicado el volumen se sacan las piezas de la cámara y se realizan los cortes, llevándolas a cocción en horno eléctrico de laboratorio a 210°C durante 30 minutos y en presencia de vapor.

2.2.1.2. Pan de molde

1. Amasado, de la harina con los ingredientes (levadura, sal, leche, azúcar, grasa) y el agua necesaria, durante diez minutos en Amasadora Brabender de 300 g de capacidad.

2. Primera fermentación en cámara con temperatura y humedad controladas (27 °C y 75/80 %HR), hasta duplicar el volumen de la masa. Este control se realiza con el medidor de empuje.

3. Una vez duplicado el volumen se divide la masa en dos piezas (230 gramos cada una), se rebolla y se la deja reposar durante 10 minutos, luego se procede al laminación y armado manual de las piezas. El laminado se realiza con un regulador que permite reducir la masa hasta 6 mm de espesor, produciendo un arrollamiento para dejar formada la pieza final.

4. Se coloca la pieza recién armada en un molde metálico previamente lubricado y se lleva a segunda fermentación en las mismas condiciones de temperatura y humedad que la primera fermentación. Se deja en esas condiciones hasta cuadruplicar el volumen de masa. Este control se lleva a cabo con el medidor de empuje.

5. Una vez cuadruplicado el volumen se sacan las piezas de la cámara y se llevan los moldes a cocción en horno eléctrico de laboratorio a 210 °C durante 25 minutos sin vapor.

2.2.1.3. Pan tipo casero

1. Amasado, de la harina con los ingredientes (levadura, sal, grasa) y el agua necesaria, durante doce minutos en Amasadora Brabender de 300 g de capacidad.

2. Primera fermentación en cámara con temperatura y humedad controladas (27°C y 75/80%HR), hasta duplicar el volumen de la masa. Este control se realiza con el medidor de empuje.

3. El armado de las piezas se realiza dividiendo la masa en dos piezas de 230 gramos y luego se rebolla. Se deja reposar 10 minutos y se vuelve a rebollar.

4. Los bollos se colocan en un molde metálico lubricado y se lleva a segunda fermentación en las mismas condiciones de temperatura y humedad que la primera fermentación. Se deja en esas condiciones hasta triplicar el volumen de masa. Este control se lleva a cabo con el medidor de empuje.

5. Se lleva a cocción en horno eléctrico de laboratorio a 210°C durante aproximadamente 20 minutos y en presencia de vapor.

Las formulaciones y procesos para la elaboración de cada tipo de pan se detallan en la Tabla 2.2

Tabla 2.2
Formulaciones y procesos para los diferentes tipos de panes

| INGREDIENTES | PAN | | |
|---------------------------|---------------|--------------|--------------|
| | FRANCÉS | DE MOLDE | TIPO CASERO |
| HARINA (g) | 300 | 300 | 300 |
| (*) AGUA (%) | variable | variable | variable |
| LEVADURA (%) | 2 | 5 | 2 |
| SAL (%) | 2 | 2 | 2.2 |
| AZÚCAR (%) | - | 6 | - |
| GRASA (%) | - | 3 | 5 |
| LECHE EN POLVO (%) | - | 2 | - |
| AMASADO (min/rpm) | 3-2-12 / 60 | 10 / 60 | 12 / 60 |
| 1º FERMENTACION | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| 2º FERMENTACIÓN | 4.5 | 6 | 4.5 |
| COCCIÓN | 210°C/ 30 min | 210°C/30 min | 210°C/30 min |

(*) Variable según la absorción farinográfica de cada harina.

2.2.1.4. Ensayos previos y selección del método

En una primera etapa se llevó a cabo un entrenamiento para adquirir habilidades en la realización de los tests de panificación para pan francés, pan de molde y pan tipo casero. Los ensayos se realizaron con una harina de trigo comercial (A) y por triplicado.

En una segunda etapa, y dado que el interés de este trabajo se basa en observar si la utilización de la masa madre natural produce beneficios en los productos de panificación, se selecciona un ensayo de panificación en el que se puedan apreciar con mayor evidencia los cambios de calidad en el producto. La respuesta utilizada para analizar esta selección es el volumen específico de los panes. A tal fin, se trabaja con los cuatro tipos de harinas seleccionadas (A, B, C, D) y según las técnicas desarrolladas en el punto 2.2.1.

Tomando como hipótesis nula el valor de la media obtenida por los ensayos de panificación realizados con la harina A para los tres tipos de panes, se efectuó un test de hipótesis para determinar el tipo de pan que mejor exprese la calidad de la harina.

Los valores que se obtuvieron del test de panificación seleccionado realizado con la harina comercial (A), son los que representaran la hipótesis nula cuando se realice la inferencia estadística.

2.2.2. Selección de los niveles de los agentes oxidantes

Se trabajó con dos agentes oxidantes: el ácido ascórbico (AA) y la azodicarbonamida (ADA). Para determinar los puntos extremos de cada uno de ellos se realizaron ensayos de panificación utilizando las siguientes concentraciones 20, 100, 150, 200 y 300 ppm.

La respuesta utilizada para seleccionar los diferentes niveles de los agentes oxidantes fue el puntaje otorgado a los panes en la evaluación sensorial

2.2.3 Análisis de la masa madre y niveles de utilización

Una vez realizada la MM, hasta la cuarta etapa de su elaboración, según la técnica del punto 2.1.2, se la dividió en dos partes. A una parte se le realizó el seguimiento del pH y la acidez cada 24 horas durante 7 días, a la otra parte se le realizó el seguimiento de la evolución del pH y acidez, cada 24 horas, antes y después de los refrescos

La técnica analítica que se utilizó fue la siguiente: Pesar 10 gramos de masa, colocarla en un mortero y agregarle 5 ml de acetona para disgregarla. Luego con 95 ml de agua trasvasar a un vaso de precipitado. Medir el pH y titular la suspensión con hidróxido de sodio 0,05 N hasta pH = 8,3. Esperar 5 minutos y luego agregar hidróxido de sodio 0,05 N para llevar de nuevo a pH = 8,3.

Una vez estabilizada la masa madre se determinaron los ácidos orgánicos que prevalecían en ella. La metodología analítica utilizada para realizar esta determinación, fue la técnica de la AACC Method 04-20. Se analizaron cinco muestras y se encontró en todas ellas la presencia de los ácidos láctico y acético, no se detectó ácido butírico. La relación ácido láctico / ácido acético fue de $2,8 \pm 0,23$.

Para seleccionar los puntos extremos, se realizaron panificaciones con cuatro niveles de masa madre (5, 10, 15 y 20% de reemplazo de masa panaria), y se evaluó como respuesta el puntaje total.

2.2.4 Evaluación del efecto combinado de oxidante y masa madre

Se llevaron a cabo experiencias de panificación según la formulación seleccionada en el punto 2.2.1 con tres niveles de oxidantes y tres niveles de masa madre seleccionados en los puntos 2.2.2 y 2.2.3 respectivamente.

A efectos de optimizar la combinación de las variables, se utilizó un diseño experimental (diseño Box – Behnken), realizado con el Statgraphics Plus 7.1 En el mismo se efectuaron 16 ensayos con 4 repeticiones en el punto central.

2.2.4.1. Energía absorbida por la masa (*work input*)

El comportamiento al amasado de las formulaciones, obtenidas según diseño experimental, se midió con el aporte del farinógrafo Brabender. De las figuras farinográficas obtenidas durante el amasado, se determinó el área bajo la curva en cm^2 y se la multiplicó por el factor de transformación en energía (1 cm^2 equivale a 454 J/kg masa), obteniéndose así el valor de *work input* (Blokma, 1984).

2.2.4.2. Comportamiento tecnológico

Las variables a tener en cuenta en este punto fueron:

- ✓ Volumen específico, determinado por desplazamiento de semillas.

- ✓ Estructura de la miga. La calificación del alveolado de la miga se realizó a través de una tabla de comparación, en la cual los valores están comprendidos entre 1 y 8. El valor 1 significa “excelente” y el valor 8 significa “deficiente” y se corresponden a un alveolado irregular que contiene alvéolos grandes y pequeños, y a un alveolado homogéneo y de tamaño pequeño respectivamente.
- ✓ Puntaje total, por un panel de expertos que analizó sensorialmente los panes en sus características externas e internas. La asignación de puntaje resulta de considerar cada una de las características y los porcentajes que se detallan en la Tabla 2.3

La calificación correspondiente a los puntajes es la de la Tabla 2.4

Tabla 2.3
Puntajes correspondientes a las diferentes características tenidas en cuenta por el panel de expertos

| CARACTERISTICAS | PUNTAJE MÁXIMO |
|---------------------------|-----------------------|
| Volumen Específico | 15 |
| Corteza | 15 |
| Textura | 15 |
| Color | 10 |
| Estructura | 10 |
| Aroma | 15 |
| Sabor | 20 |
| Total | 100 |

Tabla 2.4
Calificaciones de los panes

| CALIFICACIÓN | PORCENTAJE |
|---------------------|-------------------|
| Excelente | 90-100 |
| Muy bueno | 80-89 |
| Bueno | 70-79 |
| Regular | 60-69 |
| Malo | 50-59 |
| Muy malo | 40-49 |

✓ *Flavor* es una combinación de sensaciones olfativas y gustativas, por lo que en él se evalúan el aroma y el sabor. Ésta característica es muy importante para el éxito de un producto. El valor máximo que puede tomar es de 35.

2.2.4.3 Diseño experimental

El diseño experimental para la obtención de superficies de respuestas, se realizó con el programa Statgraphics plus 7.1. Se establecieron cuatro repeticiones en el punto central y se consideraron tres variables de diseño: el porcentaje de reemplazo de la masa madre (MM) y la concentración de los dos oxidantes utilizados, el ácido ascórbico (AA) y la azodicarbonamida (ADA). Los datos obtenidos para realizar las diferentes experiencias se describen en la Tabla 2.5.

Tabla 2.5
Variables reales del diseño experimental

| Experiencia | MM | AA | ADA |
|--------------------|------------|--------------|--------------|
| Nº | (%) | (ppm) | (ppm) |
| 1 | 5 | 160 | 20 |
| 2 | 10 | 160 | 110 |
| 3 | 15 | 20 | 110 |
| 4 | 5 | 20 | 110 |
| 5 | 15 | 300 | 110 |
| 6 | 10 | 300 | 200 |
| 7 | 10 | 160 | 110 |
| 8 | 15 | 160 | 20 |
| 9 | 10 | 20 | 20 |
| 10 | 10 | 160 | 110 |
| 11 | 5 | 160 | 200 |
| 12 | 5 | 300 | 110 |
| 13 | 10 | 300 | 20 |
| 14 | 15 | 160 | 200 |
| 15 | 10 | 160 | 110 |
| 16 | 10 | 20 | 200 |

Para aproximar las funciones se usaron ecuaciones polinomiales de 2^{do} orden:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} x_i x_j$$

Donde: β_0 , β_i , β_{ii} y β_{ij} : son los coeficientes

X_i : son las variables codificadas.

Estas variables codificadas están linealmente relacionadas con los valores reales de las variables usadas (concentración de ácido ascórbico, concentración de ADA y porcentaje de reemplazo de MM)

Y corresponden a las respuestas (volumen específico, *work input*, estructura de la miga, *flavor* y puntaje total).

Los resultados experimentales se analizaron con el programa estadístico Statgraphics Plus 7.1. Dicho programa permitió ajustar la ecuación polinomial de 2^{do} orden a los datos experimentales, y graficar la superficie predicha a partir de cada uno de los modelos obtenidos.

Si bien es imposible que el método polinomial sea una aproximación razonable de la relación funcional real sobre todo el dominio de las variables independientes, funciona muy bien en regiones relativamente pequeñas de las variables independientes. En el análisis de la superficie de respuesta, la cima de la gráfica representa el punto de la respuesta máxima. (Montgomery, 1991).

2.2.4.4. Verificación del diseño experimental

Los contrastes de hipótesis, como la inferencia estadística en general, son herramientas de amplio uso en la ciencia en general.

La verificación del diseño experimental se realizó a través del Test de Hipótesis, es decir, por un procedimiento estadístico mediante el cual se investiga la verdad o falsedad de una hipótesis acerca de una población. Considerando que la probabilidad que se tiene de estar equivocados si se acepta la hipótesis alternativa tenga un nivel de significación, es decir un α , de 0,05. (Montgomery, 1991).

La hipótesis nula (H_0) es el valor obtenido de las panificaciones con la harina A, y la hipótesis alternativa (H_1), con la cual queremos contrastarla, son los valores obtenidos de las panificaciones realizadas con el agregado de oxidantes y masa madre en sus valores óptimos.

La verificación del diseño se realizó tomando en cuenta los valores del puntaje total asignados por el panel de expertos en la evaluación sensorial. Para

este fin se efectuaron seis repeticiones experimentales en el punto óptimo del modelo, cuyos resultados se evaluaron junto al valor obtenido del modelo, por comparación de medias para un $\alpha \leq 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. SELECCIÓN DEL MÉTODO DE PANIFICACIÓN

3.1.1. Ensayos previos

Se realizó la familiarización de los diferentes test de panificación propuesto, trabajando con la harina A, a efectos de adquirir destrezas en el manejo de las variables de cada proceso. Los ensayos se hicieron por triplicado durante 3 días no consecutivos. En la Tabla 3.1 se muestran los valores obtenidos de volumen específico, la media y la desviación estándar de los mismos.

Tabla 3.1
Volumen específico (por triplicado) media y desviación estándar de los diferentes ensayos con la harina de trigo comercial A.

| ENSAYO | VOLUMEN ESPECÍFICO (cc/g) | | |
|------------------------|---------------------------|--------------|-----------------|
| | PAN FRANCÉS | PAN DE MOLDE | PAN TIPO CASERO |
| 1 | 3.94 | 5.28 | 4.07 |
| 2 | 4.02 | 5.05 | 4.13 |
| 3 | 4.06 | 5.26 | 3.99 |
| MEDIA | 4.01 | 5.20 | 4.06 |
| DESVIO STANDARD | 0,06 | 0,14 | 0,07 |

3.1.2 Selección del método

Con los cuatro tipos de harina seleccionados (A, B, C, D) se realizaron los ensayos de panificación para pan francés, pan de molde y pan tipo casero, según la técnica desarrollada en el punto 2.2.1. y se determinó el volumen específico de los panes.

Comparando el volumen específico de los panes (pan francés, pan tipo casero y pan de molde) realizados con la harina comercial A, y los mismos tipos de panes obtenidos con tres harinas (B, C y D) que no están en el mercado y tienen características deficientes para panificar; se realizó un test de Hipótesis ($\alpha = 0,05$), del cuál se obtuvieron los datos que muestra la Tabla 3.2

Tabla 3.2
Test de hipótesis comparando el volumen específico obtenido con la harina de trigo comercial A y las harinas B, C y D, para los tres tipos de panificaciones

| | PAN TIPO FRANCÉS | | | PAN DE MOLDE | | | PAN TIPO CASERO | | |
|----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | HARINA | | | HARINA | | | HARINA | | |
| | B | C | D | B | C | D | B | C | D |
| H₀ | 4,01 | 4,01 | 4,01 | 5,20 | 5,20 | 5,20 | 4,06 | 4,06 | 4,06 |
| Media | 3,25 | 3,21 | 2,78 | 4,53 | 4,41 | 3,73 | 4,10 | 4,04 | 3,72 |
| Valor P | 0,0039 | 0,0027 | 0,0024 | 0,098 | 0,131 | 0,067 | 0,085 | 0,75 | 0,076 |
| Result (*) | R H ₀ | R H ₀ | R H ₀ | A H ₀ |

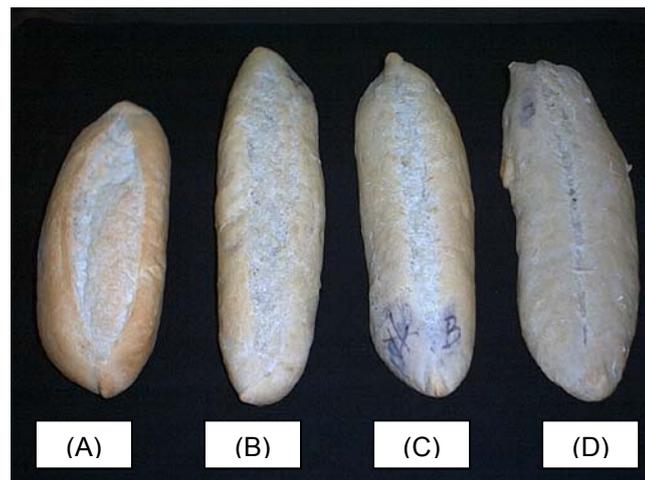
(*) R H₀: Se rechaza hipótesis nula y A H₀: Se acepta hipótesis nula.

En estadística, una hipótesis nula (H₀) es una hipótesis construida para anular o refutar, con el objetivo de apoyar una hipótesis alternativa. Cuando se la utiliza, la hipótesis nula se presume verdadera hasta que una evidencia estadística en la forma de una prueba de hipótesis indique lo contrario.

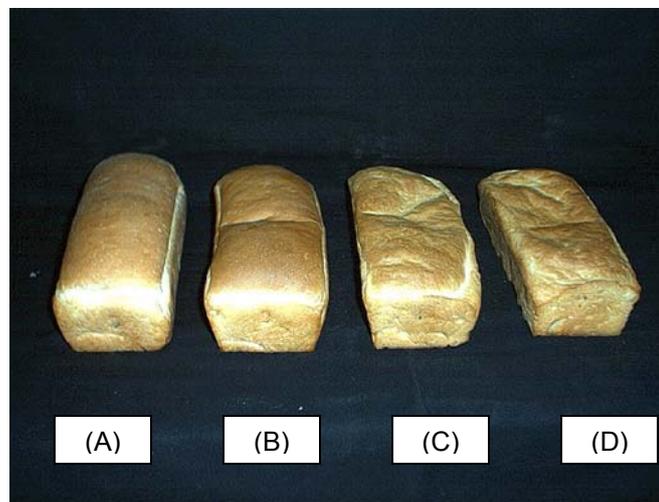
Según los datos de la Tabla 3.2, en la que se comparan los tests de panificación estudiados: pan francés, pan de molde y pan tipo casero; se aprecia que el primer test, donde la pieza se coloca sobre tela y tabla y se cocina directamente sobre el piso del horno, es el que mejor expresa la calidad de la harina. No ocurre así con los ensayos para panes de molde y panes tipo casero que llevan más ingredientes en su formulación con lo que se enmascara la diferencia de calidad de las harinas. Por lo que se selecciona, para realizar este trabajo, la panificación de pan francés

El puntaje que obtuvo la panificación de pan francés con la harina comercial A fue de 77,4

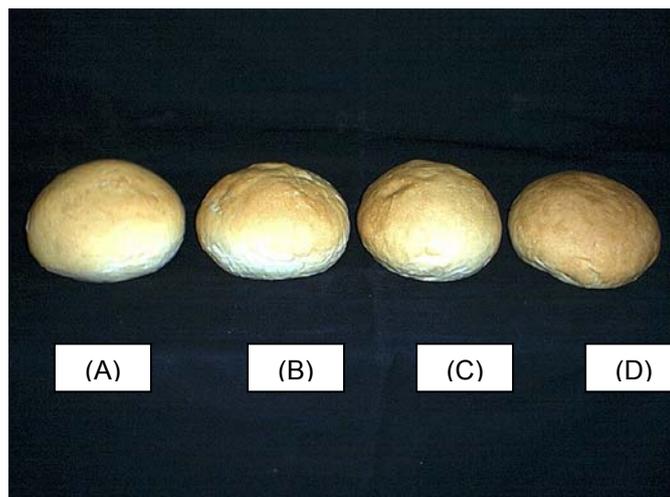
En la Figura 3.1 se pueden observar los tres tipos de panes elaborados con las diferentes harinas: A, B, C y D.



Pan francés



Pan de molde.



Pan tipo casero

Fig.3.1 Panes elaborados con los tres métodos propuestos y con las harinas A, B, C y D

3.2. SELECCIÓN DE LOS NIVELES DE USO DE AGENTES OXIDANTES

Se realizaron los ensayos de panificación para pan francés utilizando la harina comercial A, la respuesta evaluada para determinar los puntos mínimos y máximos para cada oxidante fue el puntaje total. El volumen específico no era adecuado para ser usado como respuesta, ya que cuando se aumentaba la concentración de oxidante, si bien aumentaba el volumen específico esto iba en desmedro de la calidad del producto debido a las características poco aceptables de la corteza. Los niveles de concentración de AA y ADA con los cuales se trabajó y los puntajes respectivos se detallan en la Tabla 3.3

Tabla 3.3
Puntaje total asignado a los panes elaborados con diferentes niveles de ácido ascórbico (AA) y azodicarbonamida (ADA)

| <i>AA (ppm)</i> | <i>Puntaje total</i> | <i>ADA (ppm)</i> | <i>Puntaje total</i> |
|-----------------|----------------------|------------------|----------------------|
| 20 | 63 | 20 | 62 |
| 100 | 65 | 100 | 64 |
| 200 | 73 | 200 | 65 |
| 300 | 75 | 300 | 58 |
| 400 | 55 | 400 | 55 |

Los niveles, mínimo y máximo, de concentración seleccionados de AA fueron 20 y 300 ppm, y las concentraciones de ADA que se tomaron como mínimo y máximo fueron 20 y 200 ppm. Estos valores de agentes oxidantes se escogieron teniendo en cuenta que a valores mayores de 300 ppm de AA el volumen mejoraba pero las características de la corteza se deterioraban considerablemente; y valores mayores de 200 ppm ADA no favorecían la calidad del producto.

3.3. SELECCIÓN DE MASA MADRE

3.3.1. Análisis de la masa madre.

Se realizaron las determinaciones de las variables fisicoquímicas pH y acidez por dos caminos:

A) Masa madre MM (cuarta etapa de elaboración), sin refresco posterior, durante 7 días mantenida a 4°C. Los resultados que se obtuvieron se muestran en la Figura 3.2.

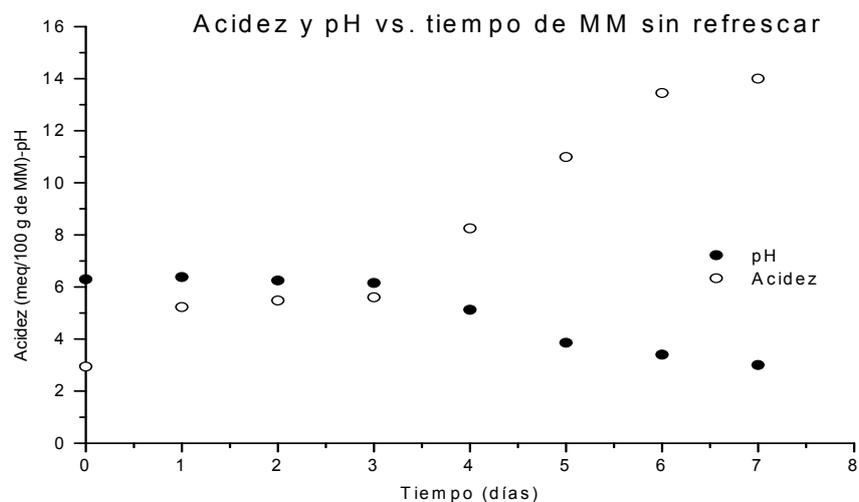


Figura 3.2

A partir del día 4 de preparada la MM, se observa una importante disminución en el valor de pH con un aumento de la acidez; comenzando a percibirse alteraciones organolépticas a partir del día 6, lo cual se evidencia con un aroma ácido persistente muy desagradable.

B) Masa madre MM (cuarta etapa de elaboración), con refresco cada 24 horas. Se midió el pH y la acidez antes y después de realizar el refresco durante 27 días y conservando la MM en ambiente a 4°C.

Los valores graficados de pH y acidez en función del tiempo se pueden ver en las Figuras 3.3 y 3.4

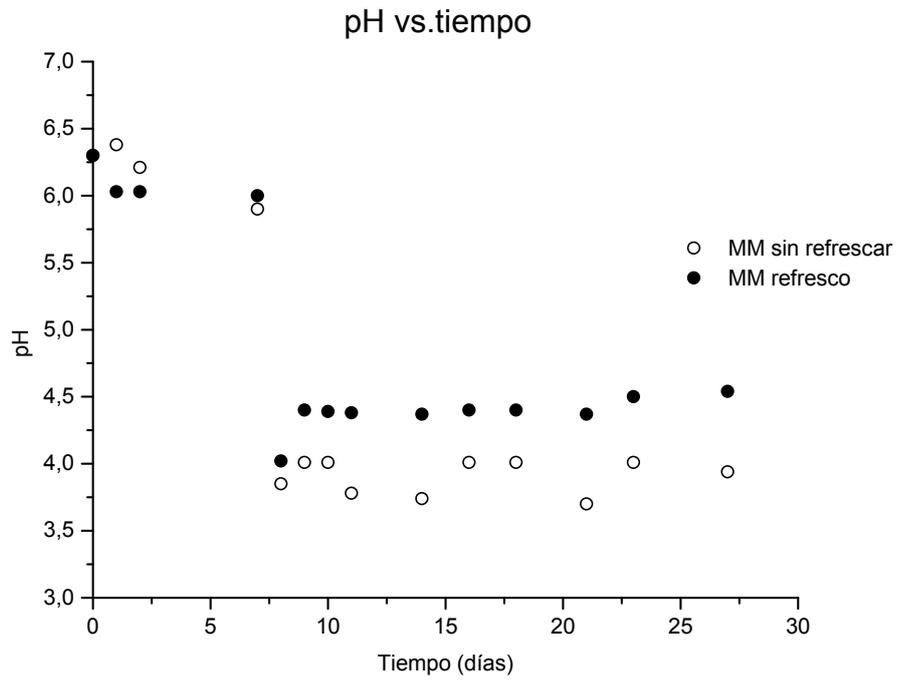


Figura 3.3

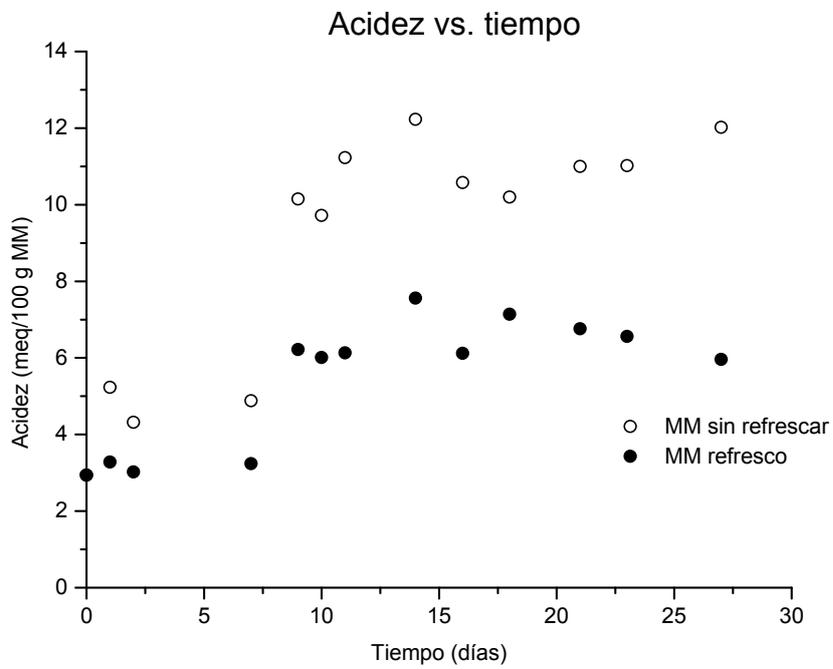


Figura 3.4

En esta MM, la cual se refresca cada 24 horas, el pH desciende de manera importante a partir del día 6, la variación de la acidez lo hace en forma inversa. Tanto el pH como la acidez se estabilizan a partir del día 10.

Se seleccionó el método de elaboración de MM para ser utilizada en las experiencias según la técnica detallada en el punto 2.1.2 y se la deja hasta el día 5 sin refrescar para que adquiera un pH y acidez adecuados, luego se refresca y se deja a 4°C por 5 días más y se vuelve a realizar el refresco. A partir de este segundo refresco la MM está en condiciones de ser utilizada en panificación

3.3.2. Selección del nivel de utilización

Se realizaron los ensayos de panificación para pan francés utilizando la harina comercial A para determinar los puntos mínimos y máximos para el reemplazo con MM. La respuesta evaluada fue, al igual que en el punto 3.2, el puntaje total asignado en la evaluación sensorial. Los niveles de reemplazo de MM con los cuales se trabajó y los puntajes respectivos se detallan en la Tabla 3.4

Tabla 3.4
Puntaje total asignado a los panes elaborados con diferentes niveles de reemplazo con masa madre (MM)

| <i>MM (%)</i> | <i>Puntaje total</i> |
|---------------|----------------------|
| 5 | 65 |
| 10 | 68 |
| 15 | 70 |
| 20 | 55 |

Considerando los valores de puntaje total, es que se seleccionaron como nivel mínimo y máximo de reemplazo de MM al 5 y 15 % respectivamente.

En la Tabla 3.5 se presentan los resultados obtenidos de las experiencias realizadas a partir del diseño experimental utilizando tres niveles de oxidantes (AA y ADA) y masa madre.

3.4. EFECTO COMBINADO DE OXIDANTE Y MASA MADRE

El diseño experimental que se utilizó es el que se observa en la Tabla 2.5. En este se consideraron tres niveles de oxidantes (AA y ADA) y tres niveles de masa madre (MM), los cuales fueron seleccionados previamente como se indica en los puntos 3.2 y 3.3.2 respectivamente, se analizaron las respuestas: energía absorbida por la masa (*work input*), volumen específico, estructura de la miga, *flavor* y puntaje total.

En la Tabla 3.5 se presentan los resultados obtenidos de las experiencias realizadas a partir del diseño experimental.

Tabla 3.5
Energía absorbida por la masa (*work input*), volumen específico, estructura de la miga, *flavor* y puntaje total

| Experiencia Nº | <i>Work input</i> (Kj/Kg masa) | Vol.Esp (cc/g) | Estructura de la miga (*) | <i>Flavor</i> (Máx. 35) | Puntaje total (Máx. 100) |
|----------------|--------------------------------|----------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 1 | 42,7 | 4,35 | 4 | 28,0 | 80,5 |
| 2 | 37,8 | 4,00 | 3 | 31,5 | 65,0 |
| 3 | 20,6 | 3,82 | 2 | 17,5 | 52,5 |
| 4 | 46,8 | 4,20 | 5 | 24,5 | 80,5 |
| 5 | 34,5 | 4,08 | 3 | 21,0 | 68,2 |
| 6 | 40,0 | 3,90 | 2 | 28,0 | 69,2 |
| 7 | 37,7 | 4,30 | 4 | 28,0 | 70,6 |
| 8 | 31,2 | 3,33 | 3 | 21,0 | 63,0 |
| 9 | 33,2 | 3,35 | 3 | 28,0 | 63,0 |
| 10 | 38,9 | 4,12 | 4 | 31,5 | 65,5 |
| 11 | 45 | 4,32 | 4 | 28,0 | 75,0 |
| 12 | 48 | 4,07 | 4 | 24,5 | 73,2 |
| 13 | 42,7 | 4,18 | 4 | 31,5 | 74,8 |
| 14 | 35,7 | 3,90 | 3 | 17,5 | 66,2 |
| 15 | 45,6 | 4,14 | 4 | 31,5 | 74,8 |
| 16 | 65,2 | 3,60 | 3 | 28,0 | 60,7 |

3.4.1. Work input

En Tabla 3.6 se presentan los resultados de ANOVA para la respuesta *Work Input*.

Tabla 3.6
Resultado de Análisis de Variancia (ANOVA) para *work input*

| Fuente | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | F-Ratio | Valor-p |
|-----------------|-------------------|--------------------|------------------|---------|---------------|
| A: MM | 457,531 | 1 | 457,531 | 32,15 | 0,0109 |
| B: AA | 0,045 | 1 | 0,045 | 0,00 | 0,9587 |
| C: ADA | 162,901 | 1 | 162,901 | 11,45 | 0,0430 |
| AA | 83,7225 | 1 | 83,7225 | 5,88 | 0,0937 |
| AB | 40,3225 | 1 | 40,3225 | 2,83 | 0,1909 |
| AC | 1,21 | 1 | 1,21 | 0,09 | 0,7896 |
| BB | 16,81 | 1 | 16,81 | 1,18 | 0,3567 |
| BC | 301,023 | 1 | 301,023 | 21,15 | 0,0193 |
| CC | 41,6025 | 1 | 41,6025 | 0,92,92 | 0,1859 |
| Falta de ajuste | 226,513 | 3 | 75,5042 | 5,30 | 0,1020 |
| Error total | 42,7 | 3 | 14,2333 | | |
| Total (corr) | 1374,38 | 15 | | | |

La tabla ANOVA evalúa la significación estadística de cada variable comparando la media al cuadrado de las respuestas con una estimación del error experimental. Este análisis indica que A (MM) y C (ADA) y BxC (AA x ADA) influyen significativamente ($p < 0,05$) sobre la respuesta *work input*

La falta de ajuste del ensayo esta diseñada para determinar si el modelo es adecuado para describir los datos observados, o si se debe usar otro modelo. Dado que el valor $p > 0,05$ el modelo resulta adecuado para los datos observados con el 95,0 % del nivel de confianza.

El R^2 80,4121 % de variabilidad en el *Work input*.

En la Tabla 3.7 se presentan los coeficientes de regresión del polinomio de 2º orden.

Tabla 3.7
Coefficientes de regresión para *work input*

| Coefficiente | Valor numérico |
|---------------------|-----------------------|
| Constante | 35,3747 |
| A: MM | 1,28734 |
| B: AA | -0,00362812 |
| C: ADA | 0,0604828 |
| AA | -0,183 |
| AB | 0,00453571 |
| AC | 0,00122222 |
| BB | 0,000104592 |
| BC | -0,000688492 |
| CC | 0,000398148 |

La ecuación del modelo es:

$$\begin{aligned}
 \text{Work input} = & 35,3747 + 1,28734*MM - 0,00362812*AA + 0,0604828*ADA - 0,183*MM^2 + \\
 & 0,00453571*MM*AA + 0,00122222*MM*ADA + 0,000104592*AA^2 - 0,000688492*AA*ADA \\
 & + 0,000398148*ADA^2
 \end{aligned}$$

En la Figura 3.5. (a) se ve que cuando se trabaja con bajo contenido de ADA la energía absorbida por la masa es mayor a medida que se va agregando ácido ascórbico.

El efecto de masa madre se puede observar en la Figura 3.5 (b) y (c). Cuando el reemplazo es bajo los valores de *work input* son mayores, pero a medida que se aumenta el reemplazo de masa madre, cae abruptamente, tanto en baja como en altas concentraciones de oxidantes. Este hecho muestra el alto grado de deterioro que se produce en la estructura del gluten por efecto del reemplazo por un gluten hidrolizado como el de la masa madre, el cual no produce satisfactoriamente la formación de una estructura que permita la retención del gas producido durante la fermentación.

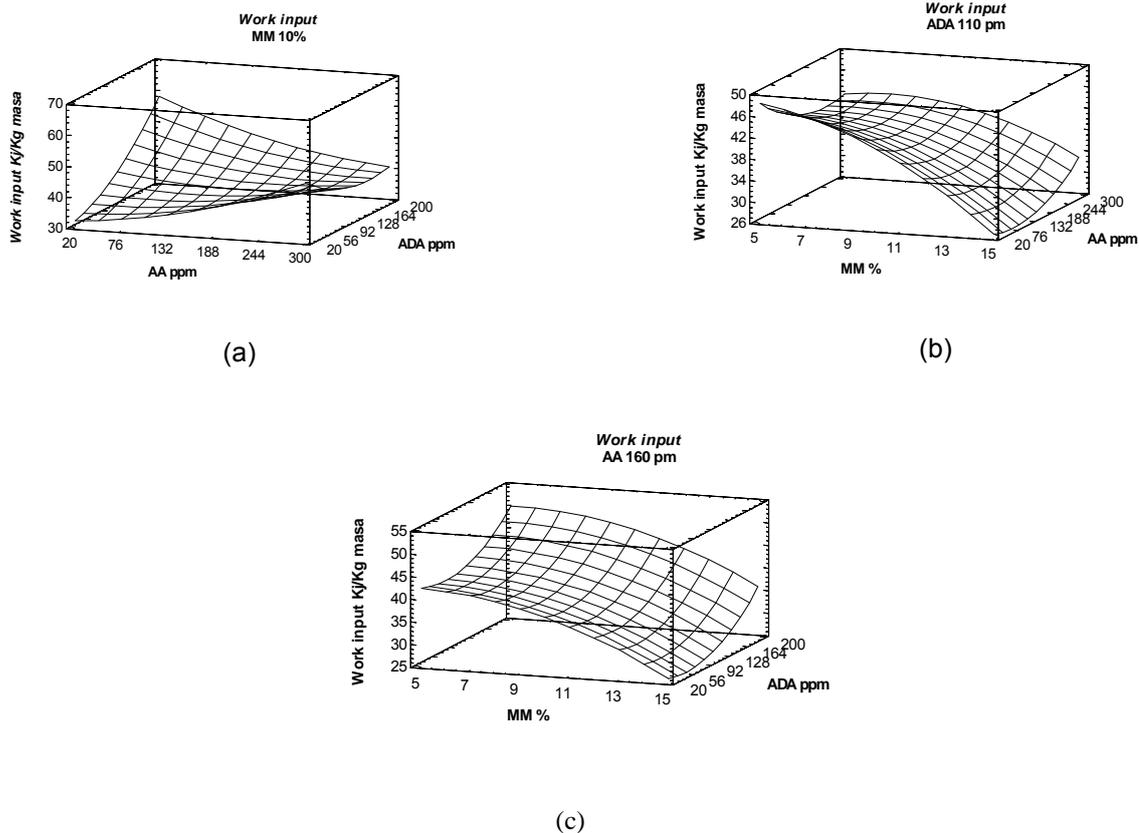


Figura 3.5 Superficie de la respuesta Work input:
(a) AA vs. ADA (manteniendo constantes la proporción de MM en 10%). (b) AA vs. MM (manteniendo el oxidante ADA constante en 110 ppm). (c) ADA vs. MM (manteniendo el AA constante en 160 ppm)

3.4.2. Volumen específico.

En Tabla 3.8 se presentan los resultados de ANOVA para la respuesta volumen específico.

Tabla 3.8.
Resultado de Análisis de Variancia (ANOVA) para volumen específico

| Fuente | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | F-Ratio | Valor-p |
|-----------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|----------------|----------------|
| A: MM | 0,409513 | 1 | 0,409513 | 26,94 | 0,0139 |
| B: AA | 0,19845 | 1 | 0,19845 | 13,06 | 0,0364 |
| C: ADA | 0,0325125 | 1 | 0,0325125 | 2,14 | 0,2398 |
| AA | 0,0144 | 1 | 0,0144 | 0,95 | 0,4022 |
| AB | 0,038025 | 1 | 0,038025 | 2,50 | 0,2119 |
| AC | 0,09 | 1 | 0,09 | 5,92 | 0,0931 |
| BB | 0,099225 | 1 | 0,099225 | 6,53 | 0,0836 |
| BC | 0,070225 | 1 | 0,070225 | 4,62 | 0,1208 |
| CC | 0,2025 | 1 | 0,2025 | 13,32 | 0,0355 |
| Falta de ajuste | 0,308725 | 3 | 0,102908 | 6,77 | 0,0753 |
| Error Total | 0,308725 | 3 | 0,0152 | | |
| Total | 1,50917 | 15 | | | |

La falta de ajuste tiene un valor $p > 0,05$ para el 95,0 % de nivel de confianza, lo que indica que el modelo es apropiado.

Este análisis indica que A (MM), B (AA) y CC (ADAxADA) influyen significativamente ($p < 0,05$) sobre la respuesta volumen específico.

El R^2 es 76,5219 % de variabilidad en el volumen específico.

En la Tabla 3.9 se presentan los coeficientes de regresión del polinomio de 2º orden.

Tabla 3.9
Coefficiente de regresión para volumen específico

| Coefficiente | Valor numérico |
|---------------------|-----------------------|
| Constante | 4,4372 |
| A: MM | -0,152202 |
| B: AA | 0,00346032 |
| C: ADA | 0,00516865 |
| AA | 0,0024 |
| AB | 0,000139286 |
| AC | 0,000333333 |
| BB | -0,00000803571 |
| BC | -0,0000105159 |
| CC | -0,0000277778 |

La ecuación del modelo es:

$$\begin{aligned} \text{Vol esp} = & 4,4372 - 0,152202*MM + 0,00346032*AA + 0,00516865*ADA + 0,0024*MM^2 + \\ & 0,000139286*MM*AA + 0,000333333*MM*ADA - 0,00000803571*AA^2 - 0,0000105159*AA*ADA \\ & - 0,0000277778*ADA^2 \end{aligned}$$

En las Figuras 3.6 (a), (b) y (c) se presentan las superficies de la respuesta volumen específico.

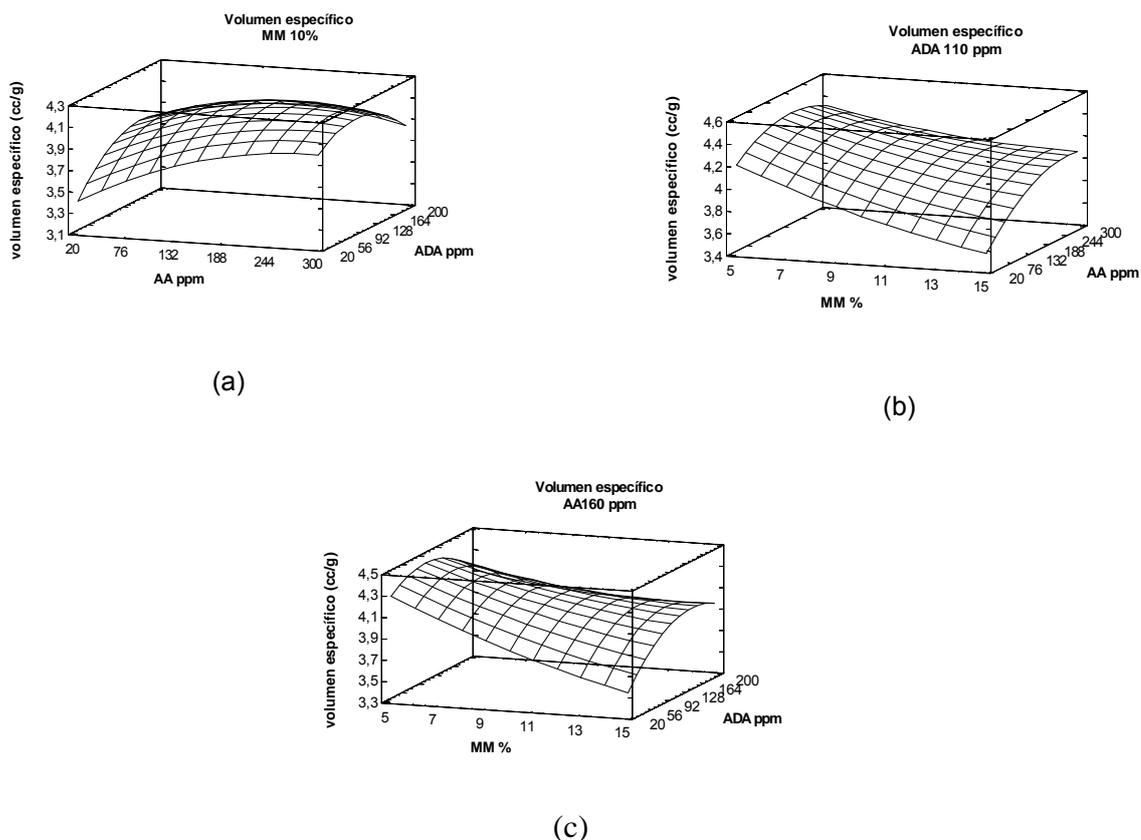


Figura 3. 6 Superficie de la respuesta Volumen específico.
(a) AA. vs. ADA (manteniendo constantes la proporción de MM en 10%). (b) AA. vs. MM (manteniendo el oxidante ADA constante en 110 ppm). (c) ADA vs. MM (manteniendo el AA constante en 160 ppm)

La Figura 3.6 (a) muestra que el volumen específico mejora cuando se utilizan ambos oxidantes (AA y ADA) y se mantiene constante en 10% la proporción de masa madre adicionada.

En cambio en las figuras 3.6 (b) y (c) se observa que, cuando se aumenta el porcentaje de reemplazo de masa madre a bajas concentraciones de oxidantes, el volumen específico tiende a bajar.

Los valores mayores de volumen específico se obtienen con bajo nivel de reemplazo de masa madre y alta concentración de oxidantes, principalmente de AA. Este hecho podría deberse a que cuando se agrega masa madre aumenta la acidez del medio, por lo tanto hay mayor hidrólisis del gluten, entonces hay menos red tridimensional para retener el gas producido durante la fermentación. El uso de un oxidante puede reforzar a esa estructura deteriorada de tal manera que retenga mejor el gas producido durante la fermentación.

La ADA probablemente debe su comportamiento a que, por ser una amida, es una sustancia básica (Figura 3.7 Cary et al, 2005) y las variaciones de pH, cuando este es bajo, afectan su acción.

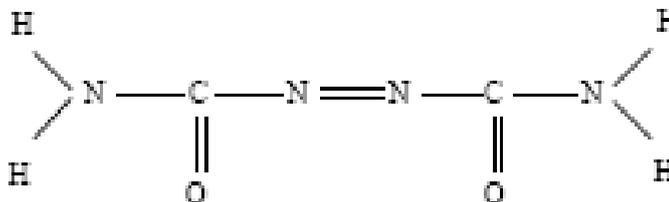


Figura 3.7 Estructura química de la azodicarbonamida (ADA)

En Figura 3.8 a y b se presentan los contornos de estimación del volumen específico

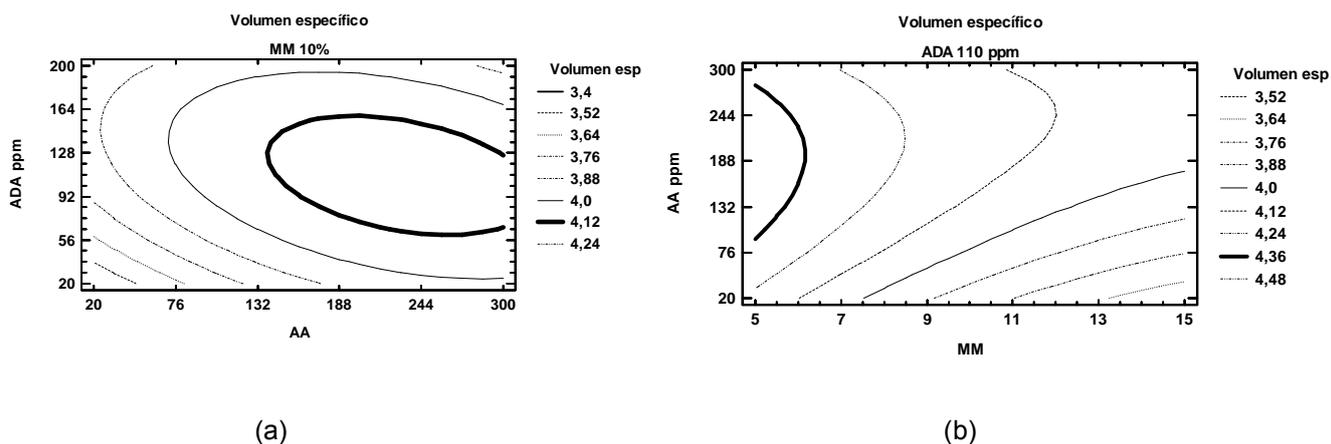


Figura 3.8 Contorno de estimación de volumen específico:
(a). ADA vs. AA (manteniendo constantes la proporción de MM en 10%). (b) AA vs. MM (manteniendo el oxidante ADA constante en 110 ppm).

Cuando se evalúan los oxidantes para MM constante en 10 % (Fig 3.8.a) se obtiene un volumen específico máximo para AA en una concentración entre 150 y 300 ppm, y ADA entre 80 y 160 ppm. Mientras que cuando se evalúa el agregado de MM (Fig.3.8.b) se obtiene un máximo de volumen específico con el agregado de aproximadamente 5 % de MM y entre 100 y 250 ppm de AA.

3.4.3. Estructura de la miga

Cabe destacar que la estructura de una miga deseada para pan tipo francés es aquella que presenta un alveolado irregular con alvéolos grandes y pequeños distribuidos aleatoriamente, esto se traduce en un número bajo de la escala utilizada por Dallmann H (1969).

En Tabla 3.10 se presentan los resultados de ANOVA para la respuesta estructura de la miga y en la Tabla 3.11 los coeficientes respectivos.

Tabla 3.10
Resultado de Análisis de Variancia (ANOVA) para la estructura de la miga.

| Fuente | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | F-Ratio | Valor-p |
|-----------------|-------------------|--------------------|------------------|---------|---------------|
| A: MM | 4,5 | 1 | 4,5 | 18,00 | 0,0240 |
| B: ÄÄ | 0,0 | 1 | 0,0 | 0,00 | 1,0000 |
| C: ADA | 0,5 | 1 | 0,5 | 2,00 | 0,2522 |
| AA | 0,0625 | 1 | 0,0625 | 0,25 | 0,6514 |
| AB | 1,0 | 1 | 1,0 | 4,00 | 0,1393 |
| AC | 0,0 | 1 | 0,0 | 0,0 | 1,0000 |
| BB | 0,5625 | 1 | 0,5625 | 2,25 | 0,2306 |
| BC | 1,0 | 1 | 1,0 | 4,00 | 0,1393 |
| CC | 0,5625 | 1 | 0,5625 | 2,25 | 0,2306 |
| Falta de ajuste | 1,0 | 3 | 0,333333 | 1,33 | 0,4094 |
| Error total | 0,75 | 3 | 0,25 | | |
| Total | 9,9375 | 15 | | | |

En esta respuesta, tiene influencia significativa solo la MM.

El R^2 es 82,3899 % de variabilidad en la estructura de la miga.

Tabla 3.11
Coefficiente de regresión para estructura de la miga

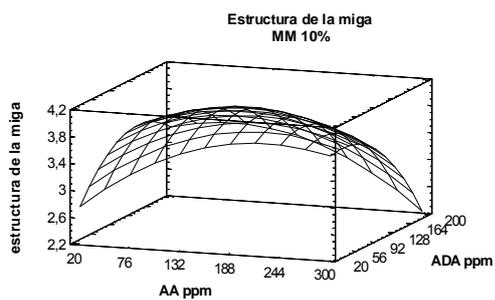
| Coefficiente | Valor numérico |
|---------------------|-----------------------|
| Constante | 5,45002 |
| A: MM | -0,364286 |
| B: AA | 0,00334467 |
| C: ADA | 0,0137566 |
| AA | 0,005 |
| AB | 0,000714286 |
| AC | 0,0 |
| BB | -0,0000191327 |
| BC | -0,0000396825 |
| CC | -0,0000462963 |

La ecuación del modelo es:

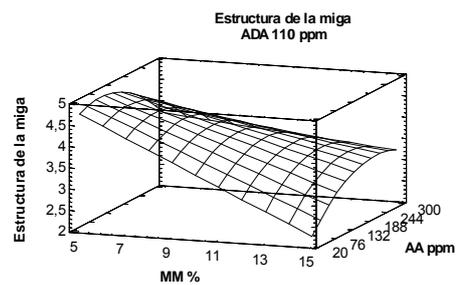
$$\text{Estruc. de la miga} = 5,45002 - 0,364286*MM + 0,00334467*AA + 0,0137566*ADA + 0,005*MM^2 + 0,000714286*MM*AA + 0,0*MM*ADA - 0,0000191327*AA^2 - 0,0000396825*AA*ADA - 0,0000462963*ADA^2$$

En las Figuras 3.9 (a), (b) y (c) se presentan las superficies de respuesta para la estructura de la miga. Tanto en la Figura (b) como en la (c), se observa que los mejores resultados se obtienen combinando los oxidantes con bajas concentraciones de MM.

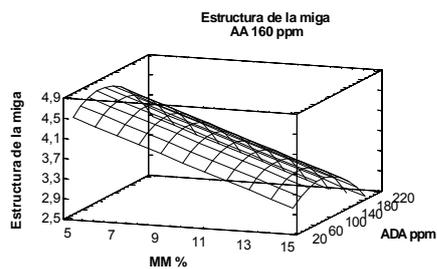
La masa madre produce una heterogeneidad de los alvéolos, mejorando su calidad. El aumento de MM produce una disminución, a través de una hidrólisis del gluten, de la elasticidad de la miga lo que provocaría que los alvéolos puedan desarrollarse en forma inhomogénea.



(a)



(b)



(c)

Figura 3.9 Superficie de la respuesta estructura de la miga
 (a). ADA vs. AA (manteniendo constantes la proporción de MM en 10%). (b) AA. vs. MM (manteniendo el oxidante ADA constante en 110 ppm). (c) ADA vs. MM (manteniendo el AA constante en 160 ppm)

3.4.4. Flavor

En Tabla 3.12 se presentan los resultados de ANOVA para la respuesta *flavor*.

Tabla 3.12
Resultado de Análisis de Variancia (ANOVA) para Flavor

| Fuente | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | F-Ratio | Valor-p |
|-----------------|-------------------|--------------------|------------------|---------|---------------|
| A: MM | 98,0 | 1 | 98,0 | 32,00 | 0,0109 |
| B: AA | 6,125 | 1 | 6,125 | 2,00 | 0,2522 |
| C: ADA | 6,125 | 1 | 6,125 | 2,00 | 0,2522 |
| AA | 196,0 | 1 | 196,0 | 64,00 | 0,0041 |
| AB | 3,0625 | 1 | 3,0625 | 1,00 | 0,3910 |
| AC | 3,0625 | 1 | 3,0625 | 1,00 | 0,3910 |
| BB | 12,25 | 1 | 12,25 | 4,00 | 0,1393 |
| BC | 3,0625 | 1 | 3,0625 | 1,00 | 0,3910 |
| CC | 0,0 | 1 | 0,0 | 0,00 | 1,0000 |
| Falta de ajuste | 6,125 | 3 | 2,04167 | 0,67 | 0,6265 |
| Error total | 9,1875 | 3 | 3,0625 | | |
| Total | 343,0 | 15 | | | |

Tanto la masa madre (MM), como el ácido ascórbico (AA) tienen influencia significativa

La falta de ajuste tiene un valor $p > 0,05$ lo que indica que el modelo es adecuado para el nivel de confianza utilizado del 95.0 %.

El R^2 es 95,5357 % de variabilidad en el alveolado de la miga.

En la Tabla 3.13 se presentan los coeficientes de regresión del polinomio de 2º orden.

Tabla 3.13
Coeficiente de regresión para *flavor*.

| Coeficiente | Valor numérico |
|--------------------|-----------------------|
| Constante | 6,04762 |
| A: MM | 4,91389 |
| B: AA | 0,0299603 |
| C: ADA | 0,0208333 |
| AA | -0,28 |
| AB | 0,00125 |
| AC | -0,00194444 |
| BB | -0,0000892857 |
| BC | -0,0000694444 |
| CC | 0,0 |

La ecuación del modelo es:

$$\begin{aligned}
 \text{Flavor} = & 6,04762 + 4,91389*MM + 0,0299603*AA + 0,0208333*ADA - 0,28*MM^2 + 0,00125*MM*AA - \\
 & 0,00194444*MM*ADA - 0,0000892857*AA^2 - 0,0000694444*AA*ADA + 0,0*ADA^2
 \end{aligned}$$

En las Figuras 3.10. (a), (b) y (c) se presentan las superficies de respuesta: para *Flavor*.

El agregado de masa madre MM produce una mejora en el *flavor* del pan por la presencia de compuestos propios, como se observa en la Figura 3.10 b y c. Hay un óptimo de agregado en la zona correspondiente a 7-10% de reemplazo. Si se supera ese valor se imparte al pan un intenso olor y un fuerte sabor ácido, lo que provoca una disminución en el puntaje por parte del panel entrenado.

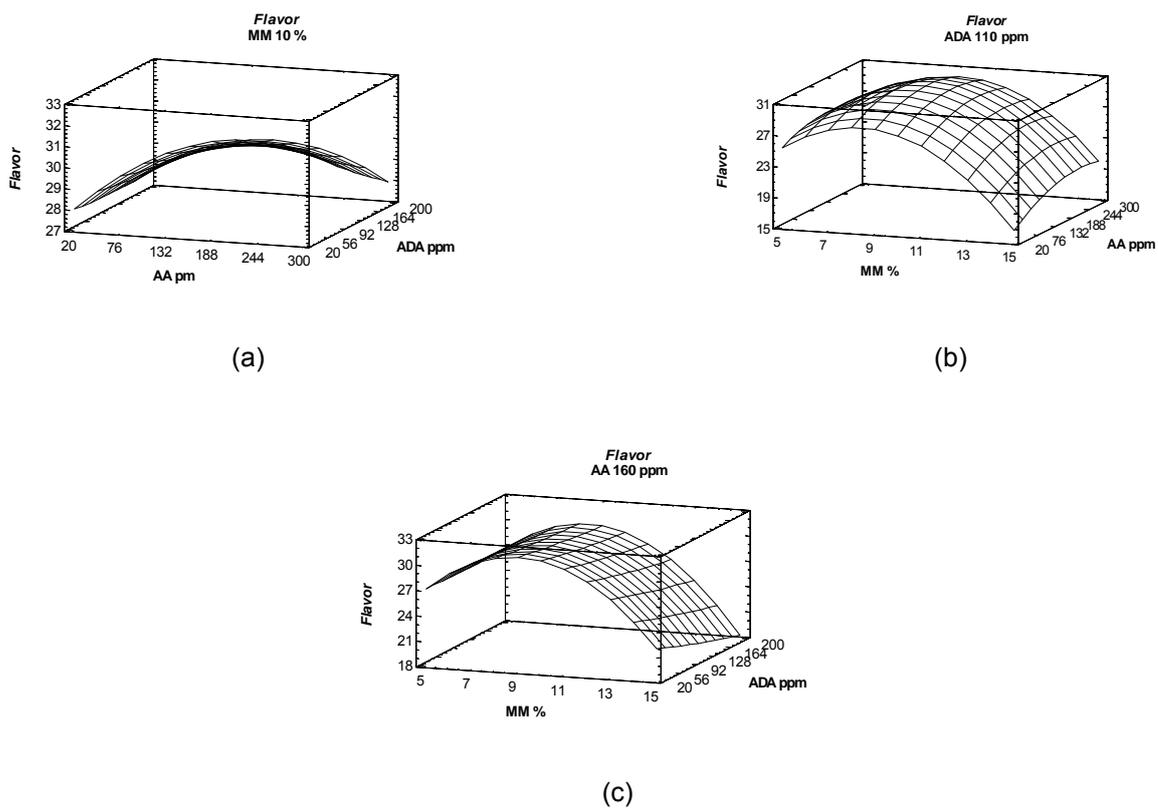


Figura 3.10 Superficie de la respuesta *flavor*
(A) AA. vs. ADA (manteniendo constantes la proporción de MM en 10%).
(B) AA vs. MM (manteniendo el oxidante ADA constante en 110 ppm). (C)
ADA vs. MM (manteniendo el AA. constante en 160 ppm)

3.4.5. Puntaje total.

En Tabla 3.14 se presentan los resultados de ANOVA para la respuesta puntaje total del pan y en Tabla 3.15 los coeficientes respectivos.

Tabla 3.14
Resultado de Análisis de Variancia (ANOVA) para puntaje total del pan

| Fuente | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | F-Ratio | Valor- p |
|-----------------|-------------------|--------------------|------------------|---------|---------------|
| A: MM | 439,561 | 1 | 439,561 | 20,46 | 0,0202 |
| B: AA | 102,961 | 1 | 102,961 | 4,79 | 0,1163 |
| C: ADA | 13,005 | 1 | 13,005 | 0,61 | 0,4933 |
| AA | 15,0156 | 1 | 15,0156 | 0,70 | 0,4645 |
| AB | 132,25 | 1 | 132,25 | 6,16 | 0,0892 |
| AC | 18,9225 | 1 | 18,9225 | 0,88 | 0,4172 |
| BB | 21,3906 | 1 | 21,3906 | 1,00 | 0,3919 |
| BC | 2,7225 | 1 | 2,7225 | 0,13 | 0,7454 |
| CC | 0,275625 | 1 | 0,275625 | 0,01 | 0,9170 |
| Falta de ajuste | 27,2325 | 3 | 9,0775 | 0,42 | 0,7511 |
| Error total | 64,4475 | 3 | 21,4825 | | |
| Total | 837,784 | 15 | | | |

En el puntaje total, solo tiene influencia significativa la masa madre (MM).

El R^2 es 89,0569 % de variabilidad en el puntaje total del pan

Tabla 3.15
Coefficiente de regresión para puntaje total.

| Coefficiente | Valor numérico |
|--------------|----------------|
| Constante | 103,687 |
| A: MM | -4,87845 |
| B: AA | -0,0115604 |
| C: ADA | -0,0591534 |
| AA | 0,0775 |
| AB | 0,00821429 |
| AC | 0,00483333 |
| BB | -0,000117985 |
| BC | -0,0000654762 |
| CC | 0,0000324074 |

La ecuación del modelo es:

$$\begin{aligned} \text{Puntaje total} = & 103,687 - 4,87845*MM - 0,0115604*AA - 0,0591534*ADA + 0,0775*MM^2 + \\ & 0,00821429*MM*AA + 0,00483333*MM*ADA - 0,000117985*AA^2 - 0,0000654762*AA*ADA + \\ & 0,0000324074*ADA^2 \end{aligned}$$

En las Figuras 3.11 (a), (b) y (c) se presentan las superficies de respuesta para puntaje total

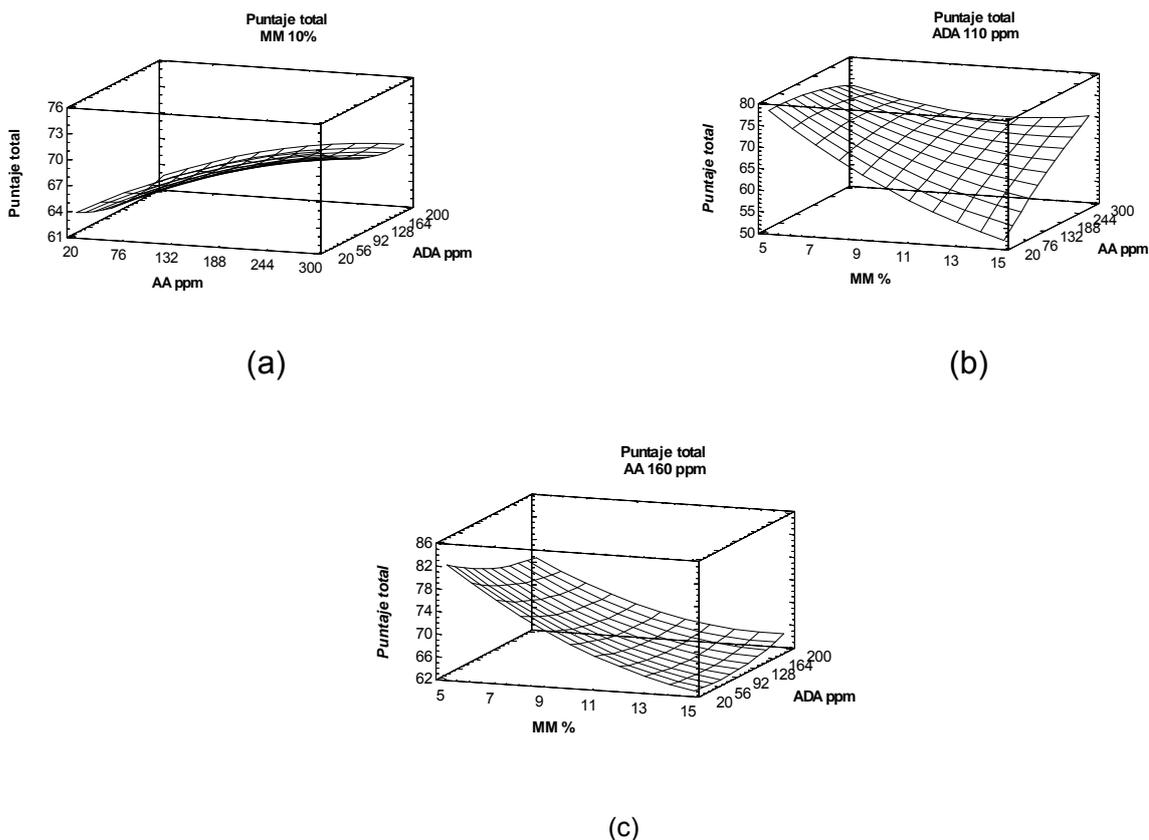


Figura 3.11 Superficie de la respuesta puntaje total. (a) AA. vs. ADA (manteniendo constantes la proporción de MM en 10%). (b) AA vs. MM (manteniendo el oxidante ADA constante en 110 ppm). (c) ADA vs. MM (manteniendo el AA constante en 160 ppm)

En la figura 3.1 (a) se observa que la combinación de los oxidantes tiene una leve tendencia a mejorar el puntaje, pero no es significativo.

El puntaje total se ve favorecido con bajas concentraciones de masa madre, lo que se observa en las figuras 3.11 (b) y (c).

En Figura 3.12 se presentan los contornos de estimación de puntaje total.

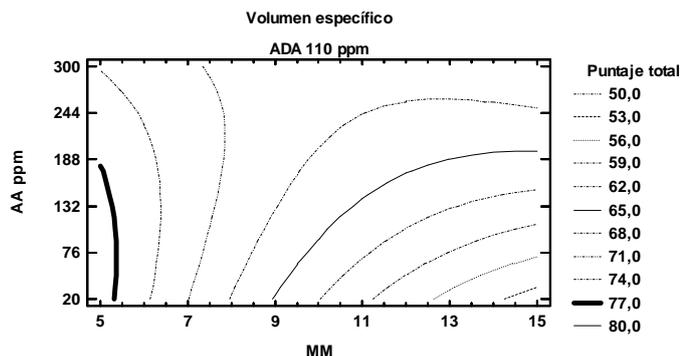


Figura 3.12 Contorno de estimación de puntaje total AA vs. MM (manteniendo el oxidante ADA constante en 110 ppm)

Cuando se evalúa la influencia, sobre el puntaje total, de MM y el AA, manteniendo constante la ADA en 110 ppm, el puntaje máximo se obtiene con 5-6 % de masa madre y entre 20 y 140 ppm de AA.

La acidificación modifica las propiedades reológicas de la masa, lo cual influye en la calidad del pan (Charmaine et al, 2004). Por lo que cuando hay altas concentraciones de ácido ascórbico y/o elevado porcentaje de reemplazo de masa madre, que presenta una acidez elevada, ninguno de los parámetros utilizados como respuestas se ven favorecidos.

3.4.6 Verificación del diseño experimental

La verificación del diseño se realizó tomando como respuesta el puntaje total. Para tal fin se realizaron 6 experiencias con el agregado de 160 ppm de AA, 20 ppm de ADA y 5 % de MM. Los resultados se muestran en la Tabla 3.16

Tabla 3.16
Puntaje total de las experiencias realizadas para verificar el diseño experimental

| <i>Panificación</i> | <i>Puntaje total</i> |
|---------------------|----------------------|
| 1 | 76,8 |
| 2 | 78,2 |
| 3 | 78,1 |
| 4 | 76,1 |
| 5 | 77,3 |
| 6 | 78,6 |
| Media | 77,5 |

Tabla 3.17
Valores del test de hipótesis

| | |
|-----------------------|----------|
| <i>Hipótesis nula</i> | 77,4 |
| Hipótesis alternativa | 77,5 |
| Valor-P | 0,776517 |

Teniendo en cuenta el valor $p > 0,05$, es que la diferencia observada no es significativa, entonces el diseño es adecuado.

CONCLUSIÓN

4. CONCLUSIÓN

► Dentro de los tests de panificación estudiados: pan francés, pan de molde y pan tipo casero; el primero, donde la pieza se coloca sobre tela y tabla y se cocina directamente sobre el piso del horno, presenta las mayores diferencias cuando se utilizan harinas con distintas características, por lo cual este ensayo ha sido tenido en cuenta para predecir las características panificables de una harina. No ocurre así con los ensayos para panes de molde y panes tipo casero que llevan más ingredientes en su formulación con lo que se enmascara la diferencia de calidad de las harinas.

► Para determinar los niveles de uso de cada uno de los agentes oxidantes utilizados, ácido ascórbico (AA) y azodicarbonamida (ADA), se realizaron ensayos de panificación utilizando concentraciones de: 20, 100, 150, 200, 300 y 400 ppm.

Los rangos de concentración utilizados fueron de 20 a 200 ppm y de 20 a 300 ppm para ADA y AA respectivamente, dado que fueron las concentraciones con las que se obtuvieron mayor puntaje total .

► Las condiciones fisicoquímicas en que se estabiliza la masa madre (MM) son: $\text{pH} = 3,9 \pm 0,10$ y $\text{acidez} = 11 \pm 1,29$ meq/100 g de muestra. Estos valores se logran entre los días 5 y 6 después de realizado el refresco; luego de lo cual en la masa madre comienza a percibirse un aroma desagradable. Los valores hallados, en el día 5, en la relación ácido láctico/ácido acético, se corresponde con los valores aceptados para trabajar en panificación que determina la bibliografía. En ella se establece que la relación óptima de ácido láctico: ácido acético debe ser 3:1, para proporcionar a la masa una acidez mayor de la que se produce con el empleo de levadura comercial y así obtener un producto de mejor calidad. Por lo que se establece al día cinco luego del refresco como tiempo adecuado para la utilización de masa madre en panificación.

► Efectos combinados de masa madre y agentes oxidantes:

■ **Work input**

Los oxidantes tienden a aumentar el *work input*, cuando se los utiliza en forma individual, destacándose este aumento cuando se los utiliza en forma combinada.

El agregado de masa madre produce una disminución de esta energía absorbida por la masa (*work input*) aún en presencia de los oxidantes estudiados.

▪ **Volumen específico**

De esta respuesta se deduce que no es conveniente trabajar con masa madre sola, sin el agregado de oxidante. Este estudio muestra que el AA tiene el mejor efecto cuando se utiliza la masa madre en bajas concentraciones.

▪ **Estructura de la miga**

El agregado de masa madre mejora el alveolado de la miga; mientras que los oxidantes tienen muy poco efecto sobre el mismo.

▪ **Flavor**

El uso de masa madre en el orden del 5-6 % y con el agregado de AA (100-150 ppm) se obtiene la mejor combinación para lograr panes de buena calidad.

▪ **Puntaje total**

El puntaje total se ve favorecido con valores similares cuando se utilizan niveles de reemplazo de MM del 5% y concentraciones combinadas de AA y ADA de 160 y 20 ppm ó 20 y 110 ppm respectivamente. Esta respuesta es la suma de diferentes características del producto entre las cuales se encuentra el *flavor*, el cual toma valores mayores cuando el AA es utilizado en una concentración de 160 ppm y el ADA 20ppm. Por lo que el AA tiene mejor efecto que ADA cuando se incorpora masa madre.

BIBLIOGRAFÍA

5. BIBLIOGRAFÍA.

- AAMODT, A; MAGNUS E; HOLLUNG K; K.UHLEN A and FÆRGESTAD E.M. 2005. Dough and Hearth Bread Characteristics Influenced by Protein Composition, Protein Content, DATEM, and Their Interactions. *Journal of Food Science*. 70 (3):214-221.
- ALLEN, W. G. 1999. Alternative Oxidants as dough Conditioners. *Cereal Foods World*. 44 (9):642-649.
- ARENDT, E; RYAN; K L and DAL BELLO, F. 2007. Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology* . 24(2)165-174
- BAKER, A. E; DOERRY W; KULP, K and KEMP, K. 1988. A Response-Surface Analysis of the Oxidative Requirements of No-Time Doughs. *Cereal Chem*. 65(4):367-372.
- BARBER, S; BÁGUENA, R. 1988. Microflora de la masa panaria. V . Aislamiento, identificación y evaluación de las propiedades funcionales de microorganismos de la masa madre. *Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. 28 (1) 67-78
- BARBER, B J; MARTÍNEZ, L; CORNEJO and BENEDITO, C. 1991. “Efectos de distintas masas madre sobre las características reológicas y fermentativas de la masa panaria”. *Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. 31 (4) 512-522.
- BECALSKI, A; LAU, B.P; LEWIS, D and SEAMAN, S. W. 2004. Semicarbazide formation in azodicarbonamide-treated flour: a model study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(18):5730-4.
- BENEDITO C. 1991. Biotecnología de alimentos. *Política Científica* 30:26-28.
- BENEDITO, C. 1998. Los sustitutos de la masa madre en panadería. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos jornadas sobre nuevos retos en el uso de aditivos y complementos en panadería y pastelería. Valencia
- BLOKSMA, A.H. 1984. *The Farinograph Handbook* (third edition). Compiled and Edited by Bert L. D’Appolonia & Wallace H. Kunerth. 7-12.

BLOKSMA, A. H. 1978. Rheology and chemistry of dough. In Pomeranz, Y. Wheat chemistry and technology. American Association of Cereal Chemists, Inc. st. Paul, Minnesota, USA 523. 527 .

CALVEL, R. 1996. El sabor del pan. Pan Rustique de harina pura de trigo. Molinería y Panadería. 6:18-20.

CALVEL, R. 1995 a. El agua, la levadura y la sal. Molinería y Panadería. 3:4-6.

CALVEL, R. 1995 b. Del pan a la "baquette". Molinería y Panadería. 1:10-14.

CALVEL, R. 1983. La panadería moderna. Ed. Américalee. Bs. As. Arg. Ed.2ª. (7).

CALVEL, R. 1977. Curso de Panificación. U.N.L. Sta. Fe. Arg. 31-40, 52-54.

CARNEVALI, P; CIATI, R; LEPORATI, A and PAESE, M. 2006. Liquid sourdough fermentation: Industrial application perspectives Food Microbiology 24(2) :150-154

CARY, R; DOBSON, S and BALL, E. 2005 Concise International Chemical Assessment Document 16. Azodicarbonamide. Published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the International Labour Organisation, and the World Health Organization, and produced within the framework of the Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals. World Health Organization

CHARMAINE, I; SCHOBBER, T.J; DOCKERY, P; O'SULLIVAN, K and ELKE ARENDT, K. 2004. Wheat Sourdough Fermentation: Effects of Time and Acidification on Fundamental Rheological Properties. American Association of Cereal Chemists, Inc.

CHERL-HO L. 2004. Creative Fermentation Technology for the Future. Journal of Food Science. 69 (2)

CHEFTEL, J.C.; CUG, J. L and DLORIEN, T. 1985. Protéines alimentaires. Lavoisier. París.

CORTÉS, M. 2001. Efectos pH y TTA en los procesos y productos fermentados con levadura. Molinería y Panadería Montagud Editores S.A. Barcelona. España. Nº 1093.

DALLMANN, H. 1969. Porentabelle. Verlag Moritz Scahfer in detmold

DENNIS, M. J; MASSEY, R.C; GINN, R; PARKER, I.; CREWS, C; ZIMMERLI, B; ZOLLER, O; RHYN, P and OSBORNE, B. 1997 (a). The effect of azodicarbonamide concentrations on ethyl carbamate concentrations in bread and toast. Food Addit Contam 14:95-100.

DENNIS, M.J; MASSEY, R.C; GINN, R; WILLETTS, P; CREWS C and PARKER, I. 1997 (b). The contribution of azodicarbonamide to ethyl carbamate formation in bread and beer. Food Addit Contam 14:101-8

DEPLACE, H.1995.Reemplazo del bromato – OXCAT Gluco Oxidasa -. Molinería y Panadería. 2.19

DOBRSZCZYK, B. J. and MORGENSTERN, M.P. 2003. Rheology and the breadmaking process. Journal of Cereal Science. 38(3):229-245.

DONG, W and HOSENEY, R.C. 1995. Effects of Certain Breadmaking Oxidants and Reducing Agents on Dough Rheological Properties. Cereal Chem. 72(1):58-64.

DUPUIS, B. 1997. The Chemistry and Toxicology of Potassium Bromate. Cereal Foods World. W-0211-02v:171-181.

FITCHETT, C. S and FRAZIER, P.J. For Blanshard, J.M.V, Frazier, P.J, Galliard, T. 1986. Chemistry and Physics of Baking. Ed. Royal Society of Chemistry Burlington House, London W1V 0BN. (14).

FUMIKO, T; AKIRA, A; TOSHIHIDE, N; HIROSHI, T and JUN, S. 2006. Functional genomic analysis of commercial baker's yeast during initial stages of model dough-fermentation. Food Microbiology .23(8) 717-728.

GÉLINAS, P; McKINNON, C.M, RODRIQUE, N. and MONTPETIT, D. 2001.Heating Conditions and Bread-Making Potential of Substandard Flour. Journal of Food Science 66(4):627-631.

GIESECKE, A. G and TAILLE, S. A. 2000. Identifying Factors Affecting Bromate Residue Levels in Baked products: Preliminary Studies. *Cereal Foods World* 45(3):111-120..

GUERZONI, M. E; VERNOCCHI, P; NDAGIJIMANA, M; GIANOTTI, A and LANCIOTT, R. 2007. Generation of aroma compounds in sourdough: Effects of stress exposure and lactobacilli–yeasts interactions. *Food Microbiology*. 24(2):139-148

HERSLETH, M; BERGGRE, R; WESTAD, F and MARTENS, M. 2005 Perception of Bread: A Comparison of Consumers and Trained Assessors *Journal of Food Science* 70 (2):95-101.

HERVE, R ; LEFEBVRE, D ; P. RABIER, P; VAYSSIER, Y and FONTAGNE-FAUCHER, C. 2006. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. *Food Science and Technology* 39(3): 256-265.

HOSENEY, C. R. 1998. Principles of Cereal science and Technology. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA. 2º ed. (10)

HOU G; YAMAMOTO, H. 1996. Relationships of Quantity of Glutenin Subunits of Selected U.S. Soft Wheat Flours to Rheological and Baking Properties. *Cereal Chem.*73:358-363.

INTI. 2006. Cuadernillo para unidades de producción. Ed Inti. 2º edicion

IWONA, K; LISBETH, J; ACHIM, K and EINAR, R. 2004. Sensory qualities of whole wheat pan bread—influence of farming system, milling and baking technique. *Journal of Cereal Science*. 39(1):67-84

KIHLBERG, I; JOHANSSON, L; KOHLER, A and RISVIK, E. 2004. Sensory qualities of whole wheat pan bread—influence of farming system, milling and baking technique. *Journal of Cereal Science*. 39(1):67-84

KATINA, K; HEINIÖ, R .L; AUTIO, K and POUTANEN, K. 2006. Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *LWT_Food Science and Technology* 39 (10):1189-1202

- KATINA, K; SAURI, M; ALAKOMI, L and MATTILA, S. 2002. Potencial of Lactic Acid Bacteria to Inhibit Rope Spoilage in Wheat Sourdough Bread. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*.35 (1): 38-45.
- LANG, C. E; NEISES, E. K and WALKER, C. E. 1992. Effects of Additives on Flour-Water Dough Mixograms. *Cereal Chem.* 69(6):587-591.
- LIAO, Y; MILLER, R. A and R.C. HOSENEY, R. C. 1998. Role of Hydrogen Peroxide Produced by Baker's Yeast on Dough Rheology (1). *Cereal Chem.* 75(5):612-616
- LÖNNER, C. and PREVE-AKESSON, K. 2005 Effects of lactic acid bacteria on the properties of sour dough bread. *Food Microbiology.* 6(1):19-35.
- MADRID, A.1987. Manual de utilización de los aditivos en alimentos y bebidas. Ed. Almansa. Madrid. España. (1).
- MARKUS, J. B. 2007. Sourdough products for convenient use in baking. *Food Microbiology* . 24(2):161-164.
- MCFEETERS, R. F. 2004. Fermentation Microorganisms and Flavor Changes in Fermented Foods. *Journal of Food Science.* 69 (1): 35-37
- MILLER, K. A and HOSENEY, R.C. 1999. Effect of Oxidation on the Dynamic Rheological properties of Wheat Flour-Water Doughs. . *Cereal Chemistry.* 76(1):100-104.
- MILLS, D. A.2004. Fermentation Technology The Lactic Acid Bacteria Genome Project. *Journal of Food Science*— 69 (1): 28-30.
- MEIGNEN, B ; ONNO, B ; GELINAS, P ; INFANTES, M ; GUILOIS, S and CAHAGNIER, B. 2001. Optimization of sourdough fermentation with *Lactobacillus brevis* and baker's yeast. *Food Microbiology* . 18(3)239-245.
- MENKOVSKA, M; KNEZEVIC, D and IVANOSKI. M 2002. Protein Allelic Composition, Dough Reology, and Baking Characteristics of Flour Mill Streams from Wheat Cultivars with Known and Varied Baking Qualities. *Cereal Chem.* 79:720-725.

- MONTGOMERY, D. 1991. Diseño y Análisis de Experimentos. Ed Iberoamericana.
- NAKAMURA, M. and T. KURATA, T. 1997. "Effect of L-Ascorbic Acid on the rheological Properties of Wheat Flour-Water Dough". Cereal Chemistry 74(5):647-650.
- NOONAN, G. O; WARNER, C. R; HSU, W; BEGLEY, T. H; G.A. PERFETTI, G. A. and G.W. DIACHENKO. 2005. The determination of semicarbazide (N-aminourea) in commercial bread products by liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of agricultural and food chemistry. 53(12):4680-5
- ONNO, B and RAGOT, I. 1988. Élaboration d'un levain naturel. Aspects microbiologiques. Industries des céréales. 54. julio-Agosto.
- ORTEGA, J. M. 2002. La importancia del aire en la creación y modificación de la estructura alveolar. Molinería y Panadería, Nº 1107, Montagud Editores S.A. Barcelona. España
- OSELLA, C.A; SÁNCHEZ, H. D and DE LA TORRE, M. A. 2007. Effect of Dough Water Content and Mixing Conditions on Energy Imparted to Dough and Bread Quality. Cereal Foods World. 52 (2): 70-73.
- POPPER, L. 1997. La calidad total. Molinería y Panadería. Año III. Nº 10:4-6.
- QUAGLIA, G. 1991. Ciencia y tecnología de la panificación. Acribia, S.A. Zaragoza, España. (7)-(8)
- ROBUTTI, J. L; BORRAS, F; SANCHEZ, H.D; OSELLA, C. A and DE LA TORRE. M. A. 1998. Evaluación Tecnológica y Bioquímica de Líneas de Trigo para producción de Galletas Crujientes (crackers). Información Tecnológica 9:113-122.
- SÁNCHEZ, H. 1987. Evaluación de calidad de harina y Panificación, en Curso Intensivo sobre Farináceos. Publitec S.A. Arg. 24-32.
- TEJERO, F. 2002. Enranciamiento: los antioxidantes. Molinería y Panadería. España [[http:// www.Molinería y Panadería Digital](http://www.Molinería y Panadería Digital)]
- TEJERO, F. 2001 (a). La fermentación de las masas. Molinería y Panadería, Montagud Editores S.A. Barcelona. España Nº 1090.

TEJERO, F. 2001(b). Masa Madre Natural Líquida. Molinería y Panadería. Montagud Editores S.A. Barcelona. España. Nº 1093

TEJERO, F. 2000. Los mejorantes en panificación. España [<http://www.Molinería y Panadería Digital>]. Consultado febrero 2007

TEJERO, F. 1999. Elaboración del pan con levadura natural. Molinería y Panadería. España. [<http://www.Molinería y Panadería Digital>]. Consultado febrero 2007

TEJERO, F. 1997. El ácido Ascórbico en las masas fermentadas. Molinería y Panadería. Año III. Nº 10:8-10.

THIELE, C; GÄNZLE, M. G and VOGEL, R. F. 2002. Contribution of Sourdough Lactobacilli, Yeast, and Cereal Enzymes to the Generation of Amino Acids in Dough Relevant for Bread Flavor. American Association of Cereal Chemists. 79(1):45-51.

VALLS, A. 1997. La aplicación de la masa madre. Molinería y Panadería. Año II Nº 8. 19-21.

WIESER, H.; ANTES, S and SEILMEIR, W. 1998. Quantitative Determination of Gluten Protein Types in Wheat Flour by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. Cereal Chem. 75:644-650.

ZGHAL, M.C; SCANLON, M. G and SAPIRSTEIN, H. D. 2001. Effects of Flour Strength, Baking Absorption, and Processing Conditions on the Structure and Mechanical Properties of Bread Crumb. Cereal Chem. 78:1-7.

ANEXO

6. ANEXO

PRESENTACIONES EN CONGRESOS.

- **“Estudio de variables fisicoquímicas en masa madre natural (MM)”** XI Congreso CYTAL. 2º Simposio Internacional de nuevas Tecnologías. 12- 14 de septiembre 2007.

- **“Comparación del volumen específico de pan francés elaborado con ácido ascórbico y masa madre”** Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba 16-17 de Noviembre 2006.

- **“Elaboración de masa madre”**. XXVI Congreso Argentino de Química. San Luis 13-15 de Setiembre 2006.

- **“Determinación de ácidos Orgánicos presentes en Masa Madre”** III Encuentro Bioquímico del Litoral y VI jornadas de Comunicaciones Técnico – Científicas. Santa Fe 16 al 18 de Junio 2005.

- **“Comparación de métodos de Panificación para evaluar calidad de Harinas”**. X Congreso CYTAL. Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos “Apertura a nuevos procesos, productos e ideas: camino al futuro” 1^{er} Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías. Mar del Plata 18 al 20 de Mayo de 2005.