

Universidad Pública de Navarra  
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE  
INGENIEROS AGRÓNOMOS

Nafarroako Unibertsitate Publikoa  
NEKAZARITZAKO GOI MAILAKO ESKOLA  
TEKNIKOA



Universidad Pública de Navarra  
Nafarroako Unibertsitate Publikoa

# **CARACTERIZACIÓN DE HARINAS DE GRANO ENTERO A TRAVÉS DE MIXOLAB® Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DEL PAN**

Presentado por

**EDORTA SALVADOR BEASOAIN DE PAULORENAK**

*Aurkeztua*

Dirigido por

**IÑIGO AROZARENA MARTINICORENAK**

*Zuzenduta*

**TRABAJO FIN DE MÁSTER / MASTER AMAIERAKO LANA**

MÁSTER EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD EN LAS INDUSTRIAS AGROALIMENTARIAS  
MASTERRA NEKAZARITZAKO ELIKAGAIEN INDUSTRIETAKO TEKNOLOGIAN ETA  
KALITATEAN

Septiembre, 2019 / 2019, Iraila

# ÍNDICE

<b>INDICE DE TABLAS Y FIGURAS .....</b>	<b>4</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>6</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>6</b>
<b>LABURPENA.....</b>	<b>7</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>8</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
3.1. ENSAYO EXPERIMENTAL .....	12
3.2. MUESTRAS DE HARINAS.....	13
3.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS HARINAS.....	14
3.4. DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE FERMENTACIÓN.....	20
3.5. ELABORACIÓN DE LOS PANES .....	23
3.6. MEDIDAS DEL PAN .....	24
3.7. ANÁLISIS DE LA FIRMEZA DEL PAN .....	26
3.8. MEDIDA DEL COLOR .....	27
3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	28
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>29</b>
4.1. ANÁLISIS REOLÓGICO DE LAS HARINAS A TRAVÉS DE MIXOLAB© .....	29
<i>Fase 1. Comportamiento durante el amasado.....</i>	<i>31</i>
<i>Fase 2. Comportamiento del gluten durante el calentamiento.....</i>	<i>32</i>
<i>Fase 3. Comportamiento del almidón durante el calentamiento.....</i>	<i>33</i>
<i>Fase 4. Comportamiento de la actividad amilásica.....</i>	<i>33</i>
<i>Fase 5. Comportamiento de la retrogradación durante el enfriado.....</i>	<i>34</i>
4.2. TEST DE FERMENTACIÓN.....	34
<i>Desarrollo de la masa.....</i>	<i>35</i>
<i>Desprendimiento gaseoso .....</i>	<i>37</i>
4.3. RESULTADOS DE LOS PANES ELABORADOS .....	39

4.3.1. Medidas de los panes .....	40
4.3.2. Medidas de color .....	43
4.3.3. Resultados de la firmeza de la miga.....	45
4.4. RELACIONES ENTRE LOS RESULTADOS DE LAS HARINAS, FERMENTACIÓN Y PANES .....	47
4.4.1. Correlaciones.....	47
4.4.2. Análisis de componentes principales.....	49
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>55</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>57</b>

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Listado de Harinas Estudiadas.....	14
Tabla 2. Protocolo Chopin+ o ChopinWheat+ Utilizado en la Caracterización.....	15
Tabla 3 Datos de repetitibilidad y reproducibilidad de los ensayos en Mixolab© .....	20
Tabla 4. Relación de parámetros en reofermetómetro durante el análisis del desarrollo de la masa .....	22
Tabla 5. Relación de parámetros en reofermetómetro durante el análisis del desprendimiento gaseoso. 23	
Tabla 6 Parámetros del Mixolab© obtenidos de las harinas estudiadas (Torques C1, C5, C2, C3, C4, C5, humedad, desarrollo y estabilidad.....	29
Tabla 7. Resultados de los parámetros de desarrollo de la masa en las muestras analizadas .....	35
Tabla 8. Resultados de los parámetros del desprendimiento gaseoso en las muestras analizadas.....	37
Tabla 9. Parámetros para la elaboración de los panes en función de los datos obtenidos por Mixolab© y Reofermentómetro .....	39
Tabla 10. Resultados de los parámetros de peso, altura y volumen medidos en los panes.....	41
Tabla 11, Resultados de los parámetros de peso, altura y volumen medidos en los panes.....	43
Tabla 12. Resultados de los parámetros de firmeza a las 0, 24 y 96 horas y cálculo del endurecimiento de las muestras.....	45
Figura 1. Etapas de la curva del ensayo con Mixolab©.....	11
Figura 2. Determinación de humedad en las muestras de harina en la termobalanza XM 60 .....	16
Figura 3. Curva que el protocolo ChopinWheat+ deja tras analizar una muestra de harina en Mixolab© .....	18
Figura 4. Detalles del pistón del reofermetómetro .....	21
Figura 5. Curva de desarrollo de la masa en reofermetómetro .....	21
Figura 6. Curva de desprendimiento gaseoso y capacidad fermentativa de la masa .....	22
Figura 7. Proceso del formado del pan antes de introducir en el molde .....	24
Figura 8. Proceso de medida del volumen del pan a través de desplazamiento de semillas de colza .....	25
Figura 9. Toma de la medida de altura del pan .....	25
Figura 10. Toma de la medida de la firmeza en los panes a través del texturómetro TA.XT.PLUS .....	26
Figura 11. Preparación de las muestras de pan en Digieye .....	27
Figura 12. Reparto de toma de medidas para la determinación del color en varias áreas de distintos tamaños tomadas en distintas zonas de 3 rebanadas de un mismo pan. ....	28
Figura 13. Resultados de las curvas del Mixolab de las muestras de harina estudiadas.....	30
Figura 14. Curvas de desarrollo de la masa en a) harinas de control; b) harinas de espelta de grano entero y c) harinas de trigo de grano entero.....	35
Figura 15. Curvas de desprendimiento gaseoso. Arriba B1, abajo B2.....	37
Figura 16. Curvas de desprendimiento gaseoso. Arriba E1, abajo E2 .....	37

Figura 17. Curvas de desprendimiento gaseoso de las harinas de trigo de grano entero T1, T2, T3, T4 y T5 .....	38
Figura 18. Panes elaborados en formato molde y baguette.....	40
Figura 19. Diferencias de volumen obtenidas en varios panes en función del tamaño de partícula del salvado (Rosell et al., 2010).....	42
Figura 20. Espacio de color CIEL*a*b* .....	43
Figura 21. Detalle de la miga de los panes caracterizados. De izquierda a derecha y de arriba abajo: B1, B2, E1, E2, T1, T2, T3, T4, T5.....	44
Figura 22. Colores obtenidos a partir de los valores medios, determinados a través de la app para iOS Nix Color Sensor .....	44
Figura 23. Textura media de los panes y su evolución .....	46
Figura 24. Textura media de todas las harinas medidas en los distintos intervalos de tiempo .....	47
Figura 25. Evolución de la textura media de los panes.....	47
Figura 26. Peso de los parámetros del Mixolab© en los dos primeros componentes.....	49
Figura 27. Distribución de las harinas en función de los dos primeros componentes (ACP – Mixolab).....	50
Figura 28. Peso de los parámetros del Reofermentómetro en los dos primeros componentes .....	51
Figura 29. Distribución de las harinas en función de los dos primeros componentes (ACP – Reofermentómetro) .....	52
Figura 30. Peso de los parámetros de la caracterización de los panes en los dos primeros componentes.....	52
Figura 31. Distribución de las harinas en función de los dos primeros componentes (ACP –Caracterización panes).....	53
Figura 32. Peso de los parámetros seleccionados de todas las variables obtenidas en todas las caraterizaciones en los dos primeros componentes.....	54
Figura 33. Distribución de las harinas en función de los dos primeros componentes (ACP –Parámetros seleccionados).....	55

## ABSTRACT

The effect of the composition and the physical properties that bran has on the baking properties of nine samples of whole wheat and spelt wheat flour, from different cultivars and different types of extraction were analyzed. The objective of this work was to relate the data obtained from the characterization of flours through a reofermentometer and a rheological analysis device (Mixolab ©, Chopin Technologies, France), with the characteristics of firmness, color, volume and weight analyzed to breads made with the studied flours. It was shown that fiber presence delays gluten development time and this, at a 95% confidence level, has been correlated with the volume obtained in the breads ( $r=-0.835$ ). C4 value is strongly correlated positively with the hardening after 24 hours stored ( $r=0.959$ ). The Principal Components Analysis determined bread's specific volume and crumb's hardening are directly related to each other and inversely with dough development and firmness. High values of kneading stability and / or amylastic activity will develop less fermentative development capacity doughs and breads with less specific volume, although a lower degree of hardening which means greater shelf life.

KEYWORDS: Mixolab, Whole wheat flours, characterization, whole bread, reofermentometer, firmness.

## RESUMEN

Se ha analizado el efecto de la composición y las propiedades físicas que el salvado tiene sobre las propiedades de panificación de nueve muestras de harinas de grano entero de trigo y de trigo espelta, de diferentes cultivares y diferentes tipos de extracción. El objetivo de este trabajo ha sido relacionar los datos obtenidos de la caracterización de las harinas a través de un reofermentómetro y un dispositivo de análisis reológico (Mixolab©, Chopin Technologies, Francia), con las características de firmeza, color, volumen y peso analizadas a los panes elaborados con las harinas estudiadas. Se ha evidenciado que la presencia de fibra retrasa el tiempo de desarrollo del gluten y esto, a un nivel de confianza del 95%, se ha correlacionado con el volumen obtenido en los panes ( $r=-0,835$ ). El valor C4, está fuertemente correlacionado de

forma positiva con el endurecimiento tras 24 horas almacenado ( $r=0,959$ ). El Análisis de Componentes Principales ha determinado que el volumen específico y el endurecimiento del pan están directamente relacionados entre sí e inversamente con desarrollo de la masa y a la firmeza. Unos altos valores de estabilidad al amasado y/o actividad amilásica darán lugar a masas con menor desarrollo fermentativo y panes con menor volumen específico, aunque un grado de endurecimiento menor, es decir, mayor vida útil.

PALABRAS CLAVE: Mixolab, Harinas de grano entero, Caracterización, pan integral, Reofermentómetro, Firmeza,

## LABURPENA

Okintzan gariaren azalak dauzkan ezaugarri eta propietate fisikoak okintza prozesuan daukan eragina ikertu da lur ezberdientetako eta erauzi prozesu ezberdinak izan dituzten bederatzi irin osoko laginen bidez. Ikerketa honen helburua fermentometro eta erreologia azterketa egiten duen gailu baten bidez (Mixolab®, Chopin Technologies) irinen karakterizazioaren datuak eta irin horiekin egindako ogien kolorearen, sendotasunaren, tamainaren eta pisuen datuak lotzea izan zen. Gariaren azalak glutenaren garapen denbora atzeratzen duela ikusi egin da eta honek, %95eko konfiantza mailan, ogiek atera duten tamainarekin lotura dauka ( $r=-0,835$ ). C4 parametroak eman dituen balioak ogiak 24 ordu ondoren dauzkan gogodurarekin erlazionatu da positiboki ( $r=0,959$ ). Osagai Nagusien Análisiak ogien bolumen espezifikoa eta gogordurak euren arteko zuzeneko lotura dutela baina orearen garpenarekin eta sendotasunarekin alderantzizko erlazioa duela erran du. Orearen egonkortasun edota amilasa aktibitate balore altuak izan dituzten irinek fermentazio garapen baxuko oreak eta bolumen espezifikoa baxuko ogiak emango ditu, hala ere, gogordura baxuago izango du, hau da, denboran freskuaguo mantenduko da.

PASAHITZAK: Mixolab, irin osoa, karakterizazioa, ogi osoa, reofermentometroa, ogi sendotasua

## 1. INTRODUCCIÓN

Siguiendo las políticas establecidas por los organismos sanitarios internacionales (OMS, UE), en el año 2005 el Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social del gobierno de España a través de la agencia española de seguridad alimentaria lanza la estrategia NAOS (Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad) que es una estrategia de salud cuyo objetivo es reducir los índices de obesidad a través del fomento de una alimentación saludable y actividad deportiva y física para así reducir la tasa de mortalidad y enfermedades vinculadas. En 2011 se aprueba la Ley 17/2011 de seguridad alimentaria y nutrición que compromete tanto a las administraciones públicas como a empresas del sector privado (industria de alimentos y bebidas, sociedades científicas, distribución y restauración) a promover una alimentación más saludable (Ministerio de Sanidad, n.d.)

En esta línea, la Asociación Española de la Industria de Panadería, Bollería y Pastelería (ASEMAC) adquiere los compromisos establecidos por la estrategia NAOS en los que se compromete a cumplir con requisitos establecidos en la última actualización de la estrategia dentro del “Plan de colaboración para la mejora de la composición de los alimentos y bebidas y otras medidas 2020”.

Asimismo, con la reciente entrada en vigor del nuevo Real Decreto 308/2019 por el que se aprueba la norma de calidad para el pan, se ponen de manifiesto los profundos cambios en los hábitos de consumo de pan de las últimas décadas que han hecho necesaria una ampliación de concepto de pan común, puesto que este pan, considerado como el de consumo habitual en el día, no se circunscribe ya exclusivamente al elaborado con harina de trigo, sino que abarca panes elaborados con harinas de otros cereales, incluyendo las harinas integrales. De esta manera se incorporan en la definición de pan común panes nutricionalmente más completos.

Por estos motivos, la harina de trigo integral (también llamada de granos enteros) ha ido ganando atención como materia prima en panificación debido a sus beneficios nutricionales y saludables ya que esta contiene niveles más altos de vitaminas, minerales, fibra, carotenoides, flavonoides y ácidos fenólicos que la harina de trigo refinada (Jonnalagadda et al., 2011). La ingesta de harinas de granos enteros

está relacionada con la disminución del riesgo de enfermedades crónicas como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, el cáncer y la obesidad (D. R. Jacobs, Meyer, Kushi, & Folsom, 1998; Jonnalagadda et al., 2011; Slavin, 2004). Las fibras actúan en el tracto gastrointestinal, aumentando el volumen fecal y reduciendo así su tiempo de permanencia en el intestino y el riesgo de cáncer de colon, retrasando la digestión y la absorción de nutrientes y disminuyendo el índice glucémico (Buri, Von Reding, & Gavin, 2004).

En el terreno tecnológico, se sabe que el uso de salvado y harina integral cambia la reología de la masa y causa dificultades en la fabricación de productos de panadería al afectar a determinadas propiedades de calidad del pan. Se observan habitualmente panes de menor volumen, mayor dureza de la miga, textura gruesa, mayor endurecimiento, color más oscuro y sabor y aroma distintos (Rosell, Santos, & Collar, 2010; Seyer & Gélinas, 2009; Tebben, Shen, & Li, 2018). De entre todos los componentes del salvado, tanto la fibra soluble como la fibra insoluble, son las principales responsables de la baja calidad del pan integral debido a que interrumpen la red de matriz de gluten provocando una reducción de la retención de la estructura del pan durante la cocción y la fermentación (Khalid, Ohm, & Simsek, 2017). Asimismo, el tamaño de la partícula de salvado evidencia las interacciones fibra-proteína (gluten) en la calidad final del pan dando como resultado panes de peor calidad a medida que la partícula es más pequeña (Noort, van Haaster, Hemery, Schols, & Hamer, 2010).

Ante esta situación, las empresas productoras de harinas comienzan a apostar por la producción y promoción de harinas de grano entero que se elaboran en base al Real Decreto 677/2016, de 16 de diciembre. Sin embargo, necesitan de métodos de caracterización específicos para este tipo de harinas y así poder entender su comportamiento y poder mejorar sus características panificables ya que los utilizados para las harinas refinadas no ofrecen datos fiables.

El aumento de la competitividad en la industria de la elaboración de harinas impone nuevos requisitos con respecto a la definición preliminar de la calidad de los trigos. En este sentido, se presta gran atención a la búsqueda de métodos novedosos y más eficientes de evaluación de la calidad del trigo antes de su posterior procesamiento. La información técnica necesaria para la evaluación de la calidad de la

harina se obtiene sobre la base de algunos índices determinados a través de los análisis organolépticos, químicos, reológicos y tecnológicos.

Las características reológicas, como la elasticidad, la viscosidad y la extensibilidad, son importantes para la industria de molienda y horneado en vista de la predicción de los parámetros de procesamiento de la masa y la calidad del producto final. Por tanto, la calidad de las harinas se determina utilizando instrumentos tradicionales como el Farinograph© (Seidemann, 2006) y Alveograph© (Dubois, Dubat, & Launay, 2017), que proporcionan información práctica para la industria de la panificación. Se han desarrollado modelos para predecir las propiedades reológicas de las masas producidas con harinas refinadas y sin refinar en los que se encuentran diferencias significativas en base al grado de extracción del grano (Cappelli et al., 2018).

El Alveograph© realiza el cálculo de absorción de agua, tenacidad, extensibilidad, elasticidad y fuerza panadera de las harinas a través de un ensayo en el que la masa es sometida a una fuerza que hace hincharla y hacerla una pompa. Se registra la fuerza necesaria en cada momento hasta que la pompa se quiebra por alguno de sus puntos. En el caso de las harinas de grano entero, debido al tamaño de las partículas del salvado, la masa se quiebra antes de que ofrezca un dato fiable.

Es por esto por lo que en el presente informe la información necesaria para la evaluación de las harinas se obtiene sobre la base de análisis reológicos a través de la medida de la consistencia de la masa bajo la simulación de un proceso de panificación. Para ello se han utilizado los equipos Mixolab© y Rheo F4 que determinan las características de las harinas, así como un texturómetro y un equipo de medición digital de color para obtener valores comparables en los panes elaborados con las harinas estudiadas.

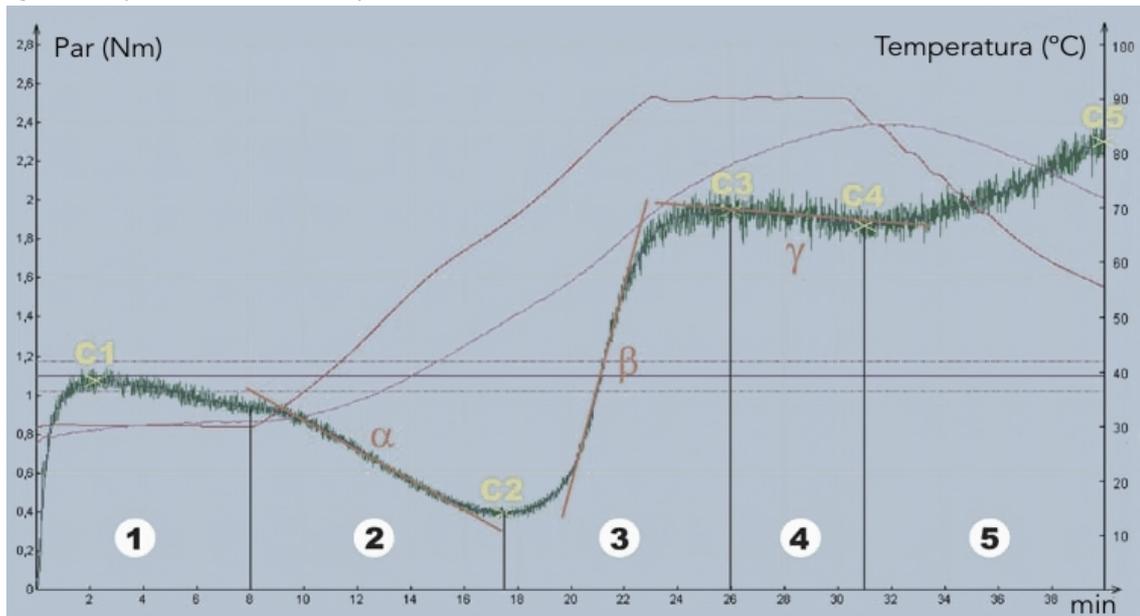
Chopin Technologies lanzó en 2005 la técnica del Mixolab© con un nuevo sistema de interpretación de las harinas a través del registro de cambios mecánicos observados durante la mezcla de la masa mientras ésta se calienta y posteriormente se enfría permitiendo obtener con solo una prueba la información sobre la capacidad de absorción de agua y la estabilidad del amasado, así como la temperatura de

gelatinización, la actividad amilolítica o la gelatinización y retrogradación del almidón (Haros, Ferrer, & Rosell, 2006a).

Mixolab© mide en tiempo real el par de torsión producido por la masa entre dos brazos. Proporciona información sobre la harina durante las 5 fases en las que se producen cambios en su consistencia debidos a los cambios de temperatura que experimenta la masa tal y como aparece en la *Figura 1*:

1. El comportamiento de la mezcla (hidratación y estabilidad).
2. La calidad de la proteína.
3. La gelatinización del almidón.
4. La actividad de la amilasa.
5. La retrogradación del almidón

Figura 1. Etapas de la curva del ensayo con Mixolab©



Durante las 5 fases se obtienen una serie de valores C1, C2, C3, C4, C5 y las pendientes  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  cuya descripción se detalla más adelante, en el apartado de materiales y métodos.

El reofermentómetro, también de Chopin Technologies, es un equipo que permite determinar el desarrollo de una masa, la producción de gas de la levadura, la porosidad de la masa y la tolerancia de la masa durante la fermentación. Un aparato que complementa la información que se obtiene de la curva del Mixolab© y que

facilita la predicción del comportamiento que una harina tendrá durante el proceso de panificación.

## 2. OBJETIVOS

Los objetivos principales de este estudio se basan en el análisis de harinas de grano entero para predecir determinados valores su comportamiento en fermentación y panificación. Para encontrar relaciones entre la caracterización de las harinas y los panes elaborados, se han marcado las siguientes pautas:

- Caracterización de harinas de grano entero para conocer su capacidad de absorción de agua, estabilidad durante el amasado, calidad de su gluten, actividad de  $\alpha$ -amilasas y grado de retrogradación a través de Mixolab
- Comportamiento reológico de las masas durante la fermentación a través de Rheo F4 y así comprobar el desarrollo y tolerancia de la masa, así como su capacidad fermentativa.
- Elaboración de panes con las harinas caracterizadas para así observar la relación de sus medidas de volumen, peso, altura, color y firmeza con los datos obtenidos en Mixolab© y reofermetómetro,

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. Ensayo experimental

Este estudio se ha llevado a cabo con 7 harinas de grano entero y 2 harinas molidas a la piedra con distintos grados de extracción de las especies *triticum aestivum* y *triticum aestivum* subesp. *spelt* de diferentes zonas geográficas de España y Francia, provenientes de agricultura ecológica y convencional y extraídas en molinos de cilindros y de piedras. Las muestras han sido adquiridas a través de distintos proveedores de Navarra, Cataluña y Aragón (España), y Occitania (Francia).

La primera fase del estudio una vez conseguidas las muestras, se ha desarrollado en Elias Boulanger, una empresa de elaboración de panadería, bollería y pastelería ubicada en Vilassar de Mar, provincia de Barcelona que dispone de un

laboratorio con los equipos necesarios para la caracterización de las harinas elegidas. Se han utilizado los equipos Mixolab© y Rheo F4, así como una termobalanza para determinar el grado de humedad de cada una de las harinas y así poder comenzar los ensayos.

Una vez reunida toda la información de las harinas, la segunda fase del estudio consistió en elaborar los panes con las harinas caracterizadas siguiendo un proceso productivo derivado de los datos obtenidos en Elias Boulanger. La elaboración se llevó a cabo en el aula 207 de panadería que dispone la facultad de Ciencias Gastronómicas del Basque Culinary Center en San Sebastián. El aula dispone de los equipos necesarios para el proceso de panificación tales como amasadoras, fermentadora, horno de suela refractaria y todo el material complementario.

Una vez elaborados, los panes se caracterizaron en los laboratorios y planta piloto que dispone el departamento de Tecnología de Alimentos de la Escuela Técnica y Superior de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Pública de Navarra. En esta última fase del estudio se tomaron las dimensiones de los panes, se midió la textura en distintos momentos desde su elaboración con un texturómetro y se midió el color a través de Digieye.

Finalmente se procesaron los datos estadísticamente para completar el presente trabajo.

### **3.2. Muestras de Harinas**

Se seleccionaron 5 harinas de trigo de grano entero de varios proveedores, 2 harinas de espelta también de grano entero de 2 proveedores y 2 harinas blancas de distintos grados de extracción de otro proveedor, todas ellas obtenidas siguiendo la norma de elaboración de harinas y sémolas registrada y aprobada en el Real Decreto 677/2016 de 16 de diciembre. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

Tabla 1. Listado de Harinas Estudiadas

<b>Cod</b>	<b>Nombre</b>	<b>Proveedor</b>	<b>Molino</b>	<b>Lote</b>	<b>Observaciones</b>
<b>B1</b>	MM Test	Mouline de Colagne	Piedra	19163	Harina de baja extracción
<b>B2</b>	T80	Mouline de Colagne	Piedra	19149	Harina de extracción media (T80)
<b>E1</b>	Espelta	Guría (Villafranguina)	Cilindros	40190313	100% Integral
<b>E2</b>	Espelta Bio	Bio Palacín Planet	Piedra	19041716	Ecológica. 100% Integral
<b>T1</b>	V15	Guría (Villafranguina)	Cilindros	40190425	100% Integral. Fuerza floja
<b>T2</b>	V25	Guría (Villafranguina)	Cilindros	40190516	100% Integra. Fuerza media
<b>T3</b>	V35	Guría (Villafranguina)	Cilindros	40190415	100% Integral. Gran Fuerza
<b>T4</b>	Integral	Harivasa	Cilindros	22310519	100% Integral
<b>T5</b>	Conil	Fruits del Seca	Piedra	FFA-1819/1	100% Integral. Tamaño salvado muy pequeño

### 3.3. Caracterización de las harinas

La principal caracterización de las harinas se ha completado a través del uso de Mixolab© (Chopin Technologies, Villeneuve la Garenne, Francia), capaz de evaluar las propiedades reológicas de la harina durante el mezclado (absorción de agua, tiempo de desarrollo y estabilidad de la masa, a la vez que determina la calidad de la proteína y el almidón y la actividad amilolítica. La medida se registra en tiempo real a través del par (Nm) obtenido por el paso de la masa por entre dos brazos amasadores que permiten el estudio de la consistencia de la masa mientras experimenta determinados cambios de temperatura. El torque que ejercen los brazos amasadores que giran en sentido opuesto es medido por un sensor colocado en el eje de uno de los brazos. Una resistencia colocada en la cubeta de amasado controla la temperatura.

En el año 2006 la Asociación Americana de Químicos Cerealistas (AACC) aprobó el método internacional para la determinación de las propiedades reológicas de una muestra de masa a través de ensayos realizados por 13 laboratorios de diferentes países configurando un mismo método que permitió la investigación de la precisión de Mixolab© (Dubat, 2010). Los resultados del estudio permitieron la aprobación del

Método Internacional AACC 54-60.01 (AACC International., n.d.) y que también ha sido aprobado por AFNOR (NF V 03-764) y por la Asociación Internacional de Ciencia y Tecnología de los Cereales (ICC N 173) para la determinación de las características reológicas de una muestra de masa.

*Tabla 2. Protocolo Chopin+ o ChopinWheat+ Utilizado en la Caracterización*

Protocolo Chopin+ o ChopinWheat+	
<b>Velocidad de amasado</b>	80 rpm
<b>Par objetivo para C1</b>	1,10±0,05 Nm
<b>Peso de la masa</b>	75 g
<b>Temperatura de la cubeta</b>	30°C
<b>Temperatura en el primer paso</b>	30°C
<b>Duración del primer paso</b>	8 min
<b>Temperatura del segundo paso</b>	90°C
<b>Primer gradiente de temperatura</b>	4°C/min
<b>Duración del segundo paso</b>	7 min
<b>Segundo gradiente de temperatura</b>	-4°C
<b>Temperatura en el tercer paso</b>	50°C
<b>Duración del tercer paso</b>	5 min
<b>Tiempo total de análisis</b>	45 min

Antes de realizar el ensayo es necesario realizar unos cálculos preliminares para poder ejecutar el ensayo correctamente: contenido en humedad y la hidratación de las muestras:

#### Determinación del contenido en humedad

Se determina el contenido en humedad de las muestras de harina siguiendo el método aprobado por AACC 44-15.02 (AACC International, 1999) a través de una termobalanza modelo XM 60 (Precisa Instruments, Switzerland). Se colocan 4 gramos de muestra en un soporte de aluminio y se someten a un secado a 130°C durante 15 minutos hasta que el software del aparato calcula el contenido en humedad comparando el peso de la muestra antes y después del proceso de secado. Cada muestra de harina se mide por triplicado.

Una parte de la cantidad total de agua que contiene la masa corresponde al contenido de humedad de la harina por lo que, al ser variable en las muestras estudiadas, es necesario que el cálculo se estandarice mediante la “hidratación base”. Mixolab© recalcula la cantidad de agua añadida a la harina respecto a una base dada y de esta manera, una vez conocida la cantidad de harina, el equipo añadirá automáticamente la cantidad de agua correspondiente hasta obtener una masa de 75 g.

Figura 2. Determinación de humedad en las muestras de harina en la termobalanza XM 60



### Determinación de la hidratación

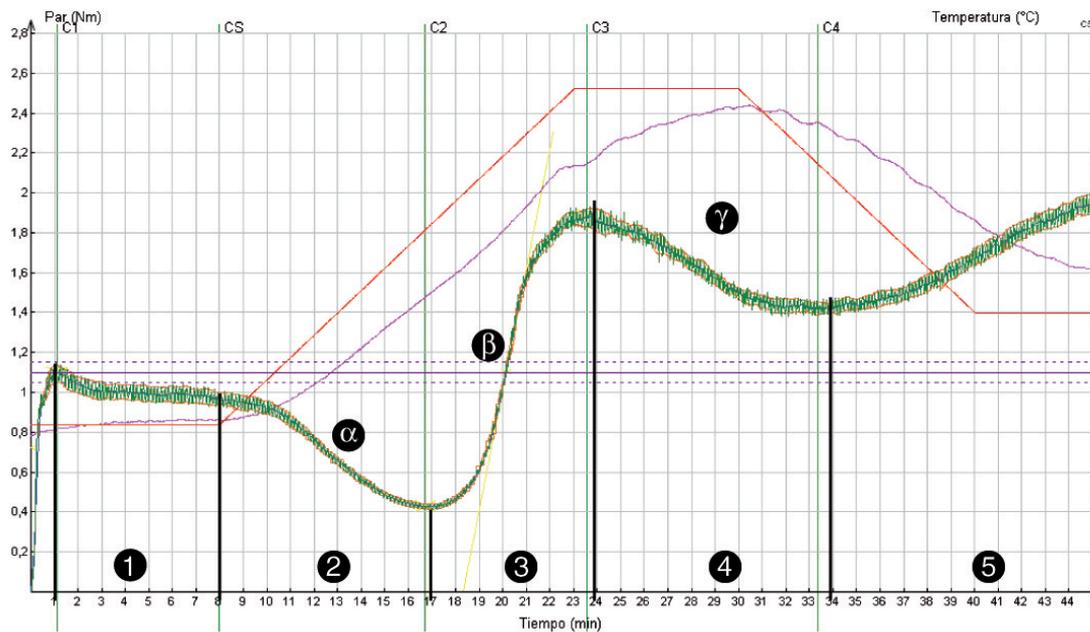
Una vez conocida la humedad de la harina se realiza una prueba preliminar en Mixolab© que determinará la hidratación que la muestra necesita. La hidratación (%) es la ratio de cantidad de agua que una muestra de harina es capaz de absorber para obtener una masa de una consistencia dada. Se propone un valor aproximado y el software del equipo calculará la cantidad de harina y agua a mezclar. Si durante los 8 primeros minutos tras comenzar el test, en el improbable caso de que la lectura del Par (Nm) en el punto de mayor consistencia alcance un valor de  $1,1 \pm 0,05$  Nm, se podrá continuar con el ensayo ya que la hidratación propuesta es la correcta. Lo normal es que el valor obtenido en ese punto sea mayor o menor que  $1,1 \pm 0,05$  por lo que el test se debe parar, limpiar la cubeta y reiniciar el ensayo con los valores que Mixolab© propone. Realizado el segundo ensayo con la hidratación ya corregida se consigue el valor objetivo.

### Ensayo Mixolab Protocolo ChopinWheat+

El protocolo utilizado para la obtención de la curva correspondiente al ensayo representa 5 fases que ofrecen los parámetros que se representan en la Tabla 2. Este protocolo, denominado Chopin+ o ChopinWheat+ ha sido utilizado por varios autores en distintos artículos (Aprodu, Horincar, Andonoiu, & Banu, 2019; Blandino et al., 2015; Bucsellá, Takács, Vizer, Schwendener, & Tömösközi, 2016; Ding et al., 2018; Dvořáček, Bradová, Sedláček, & Šárka, 2019; Gujral, Sharma, & Khatri, 2018; Hadnađev, Torbica, & Hadnađev, 2012; Moza & Gujral, 2018; Rosell, Collar, & Haros, 2007; Sharma, Gujral, & Solah, 2017; Švec & Hrušková, 2015; Torbica et al., 2016). La figura 3 representa la típica curva que Mixolab© determina tras la aplicación a una muestra del protocolo aprobado donde la curva verde muestra el par de fuerza en Nm registrado por el sensor, la curva morada representa la temperatura, en °C, de la masa y la roja registra la temperatura, en °C, de la cubeta de amasado. La línea horizontal muestra la consistencia objetivo en la primera fase para que los tests se puedan comparar.

La base de trabajo utilizada en los ensayos ha sido la b14. Esto significa que para preparar una masa al 60% de hidratación con una harina cuyo contenido de humedad sea del 14%, la masa se elaborará con 60 g de agua por cada 100 g de harina. Sin embargo, para preparar una masa al 60% de hidratación con una harina cuyo contenido en humedad es del 12,5%, la masa se deberá elaborar con 100 g de harina, 60 g de agua más la cantidad de agua requerida para incrementar el contenido de agua del 12,5% al 14%.

Figura 3. Curva que el protocolo ChopinWheat+ deja tras analizar una muestra de harina en Mixolab©



Durante la primera fase, evaluada a temperatura constante de 30°C y con una duración de 8 minutos, determina el punto de máxima consistencia C1 que sirve como indicador de la absorción de agua. El tiempo (min) transcurrido desde el inicio del ensayo hasta obtener C1 (Nm) mide el tiempo de desarrollo de la masa. En esta fase también se determina la estabilidad, es decir, la resistencia de la masa al amasado y es el tiempo que transcurre desde que se alcanza C1 hasta que el valor del Par (Nm) sea menor que C1-11%.

La fase 2 es aquella en la que se produce el debilitamiento de las proteínas y por tanto la ruptura de la matriz de gluten creada durante la primera fase. Se produce un incremento de la temperatura de la cubeta de amasado a razón de 4°C/min y cuando la temperatura de la masa aumenta se observa una reducción del torque que corresponde al debilitamiento de la proteína. El valor asociado es el C2 (Nm) que corresponde a la mínima consistencia obtenida durante la fase. La pendiente de caída de la consistencia refleja el valor de la pendiente  $\alpha$  que explica la velocidad (Nm/min) de debilitamiento de las proteínas bajo el efecto del calentamiento.

La fase 3 comienza cuando, una vez se ha alcanzado el valor mínimo en la fase anterior, el Par (Nm) comienza a incrementarse al haber alcanzado la temperatura de masa en la que el almidón comienza a gelatinizarse. El par de torsión capta el aumento

gradual de la consistencia a medida que la temperatura de la cubeta continúa ascendiendo a razón de 4°C/min hasta los 90°C. El punto C3 (Nm) a tener en cuenta será el valor máximo de consistencia y será el que dé por terminada esta fase. Este valor C3 (Nm) depende de las características del almidón y la actividad amilásica de la muestra. Otro de los valores que se tienen en cuenta para interpretar los resultados obtenido en esta fase es la pendiente  $\beta$  que explica la velocidad (Nm/min) de gelatinización del almidón.

La cuarta fase comienza al alcanzar el máximo de consistencia y se produce principalmente mientras se mantiene la temperatura de la cubeta de amasado a 90°C durante 7 minutos. Mide la estabilidad durante el horneado ya que simula las condiciones que se dan durante esta fase en panificación. Se observa un descenso del torque debido a la degradación de los enzimas. El valor mínimo alcanzado será el valor C4 (Nm) y corresponde al punto final de esta fase. La diferencia entre C3 (Nm) y C4 (Nm) indica la estabilidad del gel de almidón y la actividad amilásica y a que las moléculas de almidón comienzan a orientarse en la dirección de los brazos amasadores (Moza & Gujral, 2018). La pendiente que se obtiene,  $\gamma$  (Nm/min), indica la velocidad de degradación de la  $\alpha$ -amilasa. Para obtener el porcentaje actividad amilásica se calculan en base a los datos obtenidos en Mixolab© según esta ecuación:

$$\% \text{ Actividad amilásica} = \frac{C3 - C4}{C3} \cdot 100$$

En la quinta y última fase comienza debido al descenso de temperatura a razón de 4°C/min de la cubeta de amasado. El punto de partida es el final de la fase anterior cuando el par de torsión comienza nuevamente a aumentar. Se alcanzará el punto final del ensayo C5 (Nm) a los 45 minutos de haberlo comenzado. El aumento en el torque entre C4 (Nm) y C5 (Nm) indica la forma en la que el almidón se retrograda a consecuencia de la bajada de temperatura y su consecuente cristalización. Una manera de calcular el valor porcentual de retrogradación es aplicar la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Retrogradación} = \frac{C5 - C4}{C5} \cdot 100$$

Todas las harinas fueron analizadas a través de Mixolab® por triplicado. El handbook del equipo incorpora la información recogida por varios laboratorios por todo el planeta en los que se analizaron las mismas harinas y así establecer unos márgenes que marcarían la repetitibilidad entre ensayos dentro del mismo laboratorio y la reproducibilidad entre diferentes laboratorios. En la Tabla 3 se muestran los datos extraídos del manual. Se han determinado los valores de la repetitibilidad entre ensayos ( $S_r$ ) para comprobar si las tres repeticiones ( $n=3$ ) cumplían los márgenes establecidos. En los casos de que no se cumpliera alguno de los parámetros se realizaron repeticiones hasta que los tres ensayos fueran correctos.

Tabla 3 Datos de repetitibilidad y reproducibilidad de los ensayos en Mixolab®

	Rango	$S_r$	$S_R$
<b>Absorción (%)</b>	51,6-63,4	nd	$0,9 \times 2,77 = 2,49$
<b>C2 (Nm)</b>	0,37-0,63	$0,01 \times 2,77 = 0,04$	$0,03 \times 2,77 = 0,08$
<b>C3 (Nm)</b>	1,59-2,27	$0,02 \times 2,77 = 0,05$	$0,08 \times 2,77 = 0,20$
<b>C4 (Nm)</b>	0,95-2,12	$0,03 \times 2,77 = 0,08$	$0,09 \times 2,77 = 0,24$
<b>C5 (Nm)</b>	1,46-3,73	$0,08 \times 2,77 = 0,22$	$0,19 \times 2,77 = 0,53$
<b>Estabilidad (min)</b>	4,69-11,42	$(-0,0902 \times \text{media} + 1,2762) \times 2,77$	$(-0,1513 \times \text{media} + 2,2014) \times 2,77$
<b>Desarrollo(min)</b>	0,99-7,63	$(0,0814 \times \text{media} + 1,1252) \times 2,77$	$(0,1716 \times \text{media} + 1,147) \times 2,77$

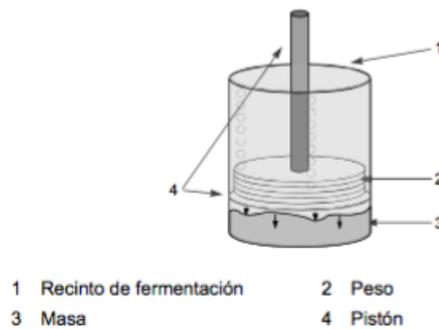
### 3.4. Determinación de las características de fermentación

Se utilizó un reofermentómetro F4 (Chopin, Villeneuve La Garenne, Francia) para detectar la cinética de liberación de  $\text{CO}_2$  y evolución de la masa durante la fermentación. Se trata de un instrumento de medida para realizar un estudio exhaustivo y completo del comportamiento de la masa durante la fermentación (cantidad de  $\text{CO}_2$  producido, calidad de la red de proteínas, porosidad, volumen y tolerancia de la masa). Durante la fermentación, el  $\text{CO}_2$  que la levadura produce por el metabolismo de los azúcares se queda atrapado en la red de gluten aumentando el volumen de la masa. El volumen del producto final depende de la capacidad de producción de  $\text{CO}_2$  como de la capacidad de la masa de retener el gas. El reofermentómetro F4 permite determinar el momento óptimo para comenzar el

horneado, evalúa las propiedades de la fermentación y controla la actividad de la levadura (“Rheo F4 - Chopin Technologies,” n.d.).

Tal y como se observa en la Figura 4, el pistón está unido a un sensor de altura que mide el crecimiento de la masa. La vasija del aparato está unida a un sensor de presión a través de un circuito neumático que mide el aumento de la presión de la masa en fermentación. El test da como resultado el trazado de dos curvas: la curva de desarrollo de la masa y la curva de desprendimiento gaseoso.

Figura 4. Detalles del pistón del reofermetómetro



### Curva de desarrollo de la masa

Se obtiene a través de las mediciones que se efectúan con regularidad por el sensor de desplazamiento.

Figura 5. Curva de desarrollo de la masa en reofermetómetro

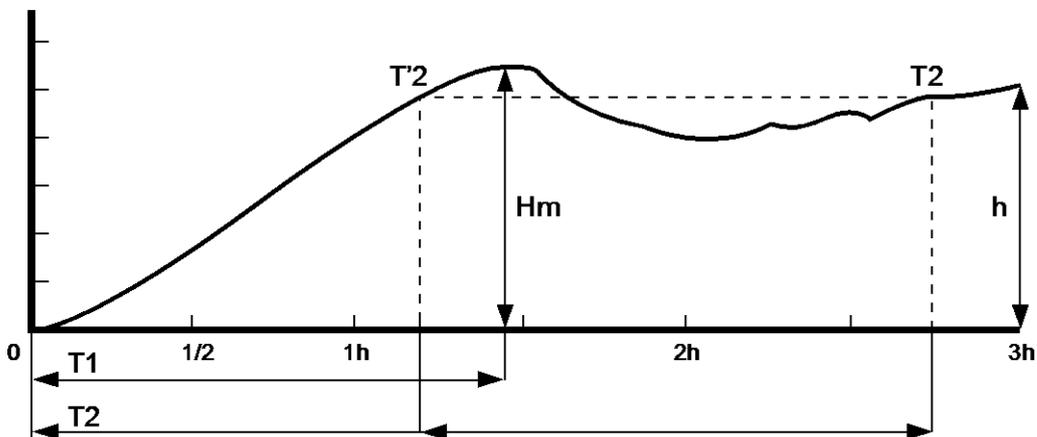


Tabla 4. Relación de parámetros en reofermetómetro durante el análisis del desarrollo de la masa

PARÁMETROS RHEO F4	
<b>T1</b>	Tiempo de desarrollo de la masa (hh:mm). Depende de la rapidez de la levadura y su actividad.
<b>Hm</b>	Altura de desarrollo máximo de la masa bajo esfuerzo (mm). Esta medida está relacionada con el volumen del pan.
<b>T2 y T'2</b>	Tiempo de reactiva estabilización en el punto máximo situado a una altura de 0,88Hm sin ser inferior a Hm-6mm
<b>T2-T'2</b>	Tolerancia de la masa
<b>h</b>	Altura de desarrollo de la masa al final de la prueba
<b>(Hm-h)/Hm</b>	% de descenso de desarrollo de la masa entre T1 y el final del test

### Curva de desprendimiento gaseoso

El circuito neumático efectúa ciclos de medida de presión que se convierten en flujo por medio del microprocesador. La presión es medida de manera alternativa y directamente a través de un cartucho de cal sodada que atrapa el CO2 que se escapa de la masa. La diferencia entre las dos medidas permite determinar el momento en el que la masa se hace porosa.

Figura 6. Curva de desprendimiento gaseoso y capacidad fermentativa de la masa

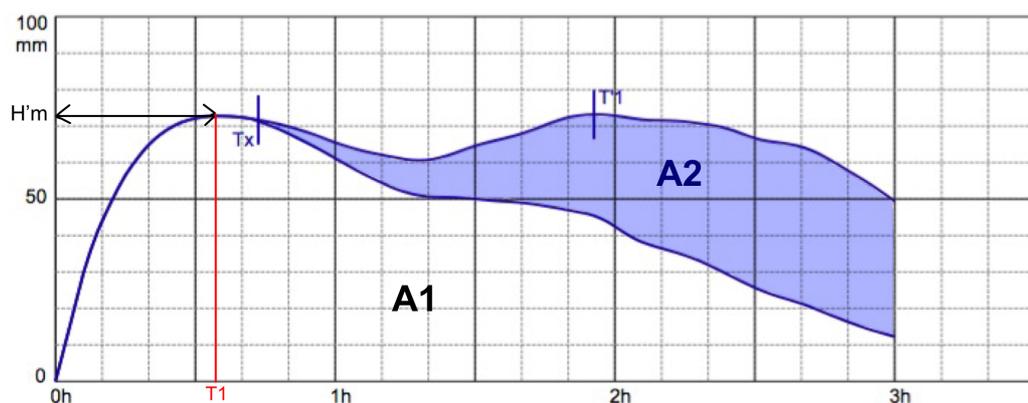


Tabla 5. Relación de parámetros en reofermetómetro durante el análisis del desprendimiento gaseoso

PARÁMETROS RHEO F4	
<b>H'm</b>	Altura máxima de la curva (mm)
<b>T1</b>	Tiempo necesario para obtener H'm (hh:mm)
<b>Tx</b>	Tiempo de aparición de la porosidad de la masa (momento en el que la masa empieza a liberar CO <sub>2</sub> )
<b>Vol total</b>	Volumen total de desprendimiento gaseoso (ml). A1+A2
<b>Vol CO2 perdido</b>	Volumen en gas carbónico (ml) que la masa ha liberado durante la fermentación (A2)
<b>Volumen de retención</b>	Volumen de gas carbónico (ml) retenido aún en la masa al final del test

### Preparación de los ensayos

Se prepararon las masas en base a los resultados de absorción de agua obtenidos en Mixolab© y la humedad de cada harina medida con la termobalanza para corregir la hidratación real. Se añadió a cada masa un 3% de levadura fresca Levital y un 1,8% de sal respecto a la cantidad total de harina. Las muestras se amasaron en amasadora MUM58720 (Bosch, Alemania) durante 6 minutos con accesorio gancho. Se tomaron 315 g de masa y se colocaron en el reofermetómetro aplicándole 2 Kg de peso. El protocolo establecido para la prueba es el denominado "CHOPIN" de 3 horas de duración y una temperatura del tanque de 28,5°C.

### **3.5. Elaboración de los panes**

Los panes se elaboraron en base a 4 resultados obtenidos de Mixolab© y el reofermetómetro: tiempo de amasado, hidratación, contenido en humedad y tiempo de fermentación (Tabla 9). La levadura fresca se disolvió en el agua de la formulación y se añadió la harina y después la sal en la cubeta de la batidora planetaria BE-20 (Sammic, España) a velocidad 2 (80 rpm) durante el tiempo de estabilidad correspondiente del dato obtenido en Mixolab©. Se dividió la masa en 3 porciones de 650 g y se les dio forma de "batard" tal y como se muestra en la Figura 7, para introducirlos en un molde de dimensiones 200x70x110 (mm) y dejar fermentando a 28,5°C durante el tiempo Tx (min) correspondiente al extraído del ensayo previo

realizado en el reofermentómetro. Pasado el tiempo correspondiente de fermentación se hornearon en horno eléctrico modular de suela refractaria Masterchef (Salva, España) a 220°C con 3 segundos de vapor y un tiempo total de horneado de 35 minutos que se determinó al observar que el centro de las muestras llegaba a los 90°C. Las muestras se dejaron enfriando y se dejaron en congelación a 20°C bajo cero hasta el momento de evaluarlo.

Figura 7. Proceso del formado del pan antes de introducir en el molde



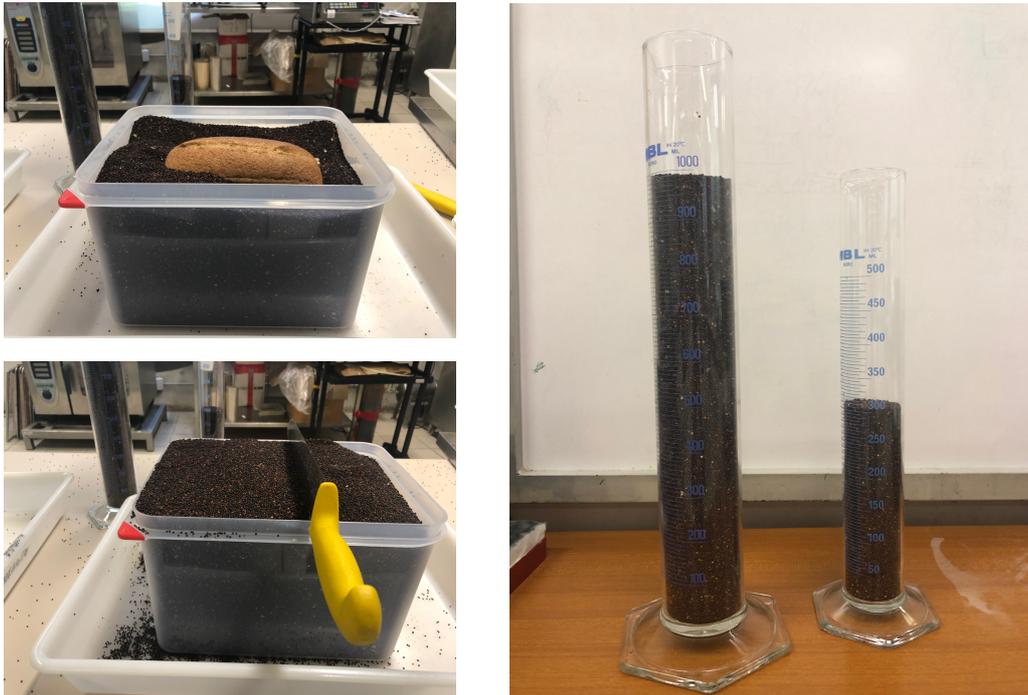
### 3.6. Medidas del pan

Se realizaron 3 medidas a cada pan: volumen, altura y peso. Todas las medidas se hicieron por triplicado ya que se disponía de 3 panes de cada muestra de harina. Antes de efectuar las medidas los panes estuvieron descongelando durante 3 horas a temperatura ambiente.

#### Volumen

Para determinar el volumen de los panes se siguió el método internacional aprobado por AACC 10-05.01 (AACC, 2001) que consiste en la medida del volumen por desplazamiento de semillas de colza. Se llenó una cubeta Araven de 300x240x200 (mm) de 12,5 litros de semillas de colza hasta rasurar. Retirando parte de las semillas para que el pan a medir ocupe su espacio y rasurando otra vez, las semillas sobrantes se depositan en una probeta. El volumen del pan será el volumen registrado en la probeta.

Figura 8. Proceso de medida del volumen del pan a través de desplazamiento de semillas de colza



### Altura y Peso

Con un calibre se mide la altura en cm en la parte central del pan. Se pesan los tres panes de cada muestra de harina en una báscula BC5000 (Tefal, Francia).

Con el dato del peso y el volumen obtenemos el volumen específico ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )



Figura 9. Toma de la medida de altura del pan

### 3.7. Análisis de la firmeza del pan

Para determinar la firmeza de los panes se siguió el Método Internacional aprobado por AACC 74-09.01 (AACC, 1999) con un texturómetro TA.XT.PLUS (Stable Micro Systems, Reino Unido) con accesorio cilíndrico de aluminio de 36 mm (P/36R). Para ello se rebanaron los panes en rebanadas de 12,5 mm con cortador MAS6200N (Bosch, Alemania). El ensayo consiste en medir la fuerza de compresión en el centro de una rebanada. Una vez el texturómetro se calibra se colocan dos rebanadas en la base del texturómetro y el ensayo para la firmeza comienza con un descenso de la sonda a 1.0 mm/s hasta detectar la rebanada y entonces la velocidad aumenta a 1,7 mm/s presionando un 40% del grosor de la primera rebanada. La sonda registra la fuerza (N) ejercida durante todo el ensayo y el software, a través de una macro, podrá ofrecer la fuerza (N) que se ejerce al 25% de la compresión, punto en el que varios autores consideraron que la compresión sobre la miga de pan cambiaba de elástico a plástico (HIBBERD & PARKER, 1985).

Con el objetivo de observar la evolución de la firmeza con el tiempo se realizaron 8 medidas en 8 rebanadas del mismo pan a las 4 horas desde que se sacaron del congelador, a las 24 horas y a las 96 horas para poder observar la evolución de la firmeza con el tiempo. Los panes se almacenaron a temperatura ambiente (22°C) en la planta piloto del departamento de Tecnología de los Alimentos de la Universidad Pública de Navarra.

*Figura 10. Toma de la medida de la firmeza en los panes a través del texturómetro TA.XT.PLUS*



Asimismo, se ha realizado un cálculo porcentual del endurecimiento del pan en base a los resultados de firmeza obtenidos del texturómetro con las siguientes fórmulas:

$$\text{Endurecimiento 24 horas (E24h)} = \frac{F_{24} - F_0}{F_0} \cdot 100$$

$$\text{Endurecimiento 96 horas (E96h)} = \frac{F_{96} - F_0}{F_0} \cdot 100$$

Donde  $F_0$ ,  $F_{24}$  y  $F_{96}$  son los datos de firmeza obtenidos a las 0, 24 y 96 hora respectivamente.

### 3.8. Medida del color

La medida del color en las muestras de pan se hizo a través del sistema digital de imágenes en color (DigiEye), procedente de VeriVide Ltd. UK, que es un sistema completo de medición y obtención de imágenes en color sin contacto. Este equipo consta de una cámara digital Nikon D90 con una calidad de imagen de 12.3 megapíxeles y una cámara de muestra con iluminante fluorescente D65 para proporcionar condiciones de luz controladas dentro del gabinete. Esto ayuda a la

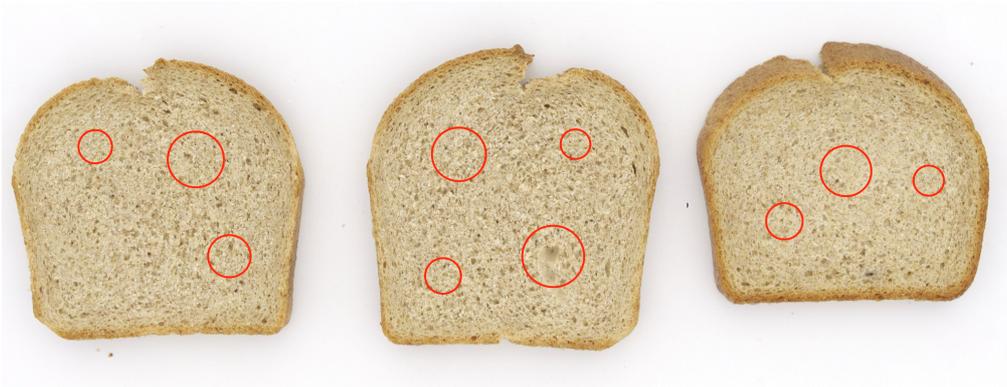
recopilación de imágenes de alta resolución de la misma calidad que no requieren corrección de iluminación de fondo. Tiene la capacidad de medir el color en muchos puntos de la región de muestra. Los datos de medición de color se informan como valores colorimétricos como XYZ y CIELAB y reflectancia espectral entre el rango de 400–700 nm con un intervalo de 10 nm (DigiEye System, n.d.)



Figura 11. Preparación de las muestras de pan en DigiEye

Se tomaron 10 medidas de color de la miga en distintas áreas circulares de entre 1 y 2 cm de diámetro en 3 rebanadas de cada pan para obtener los valores  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ .

*Figura 12. Reparto de toma de medidas para la determinación del color en varias áreas de distintos tamaños tomadas en distintas zonas de 3 rebanadas de un mismo pan.*



### 3.9. Análisis estadístico

Las determinaciones se realizaron por triplicado al menos. El análisis estadístico se realizó con el uso del software Statgraphics (Statgraphics Technologies Inc, EE.UU). La importancia de los datos se probó mediante análisis de varianza (ANOVA) con una probabilidad de error de 0.05 y en los modelos significativos, las medias se compararon mediante la prueba de Tukey con un intervalo de confianza del 95%. Asimismo, se han obtenido las correlaciones de Pearson entre cada par de variables para comprobar las relaciones significativas entre sí con un nivel de confianza del 95%. Finalmente, para identificar la variabilidad de los datos y reducir las dimensiones, se ha realizado un análisis de componentes principales (ACP).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Análisis reológico de las harinas a través de Mixolab©

Los resultados obtenidos de los ensayos realizados a las harinas analizadas a través de Mixolab© se muestran en las Tabla 6. En la tabla se observan los datos relativos contenido de humedad, grado de hidratación, tiempo de desarrollo y tiempo de estabilidad de la masa al amasado, los parámetros C1, CS, C2, C3, C4, C5 en Nm, las pendientes alfa, beta y gamma, el porcentaje de retrogradación y de actividad amilásica. Aplicamos el método Tukey en ANOVA para crear los intervalos de confianza de las diferencias de datos obtenidos en las repeticiones. Se establece un nivel de confianza del 95% y la única variable que no muestra diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) es la pendiente gamma cuyo valor corresponde a la estabilidad del gel de almidón y la actividad amilásica. Asimismo, se pueden observar las diferencias en las curvas obtenidas en la Figura 13.

Tabla 6 Parámetros del Mixolab© obtenidos de las harinas estudiadas (Torques C1, CS, C2, C3, C4, C5, humedad, desarrollo y estabilidad).

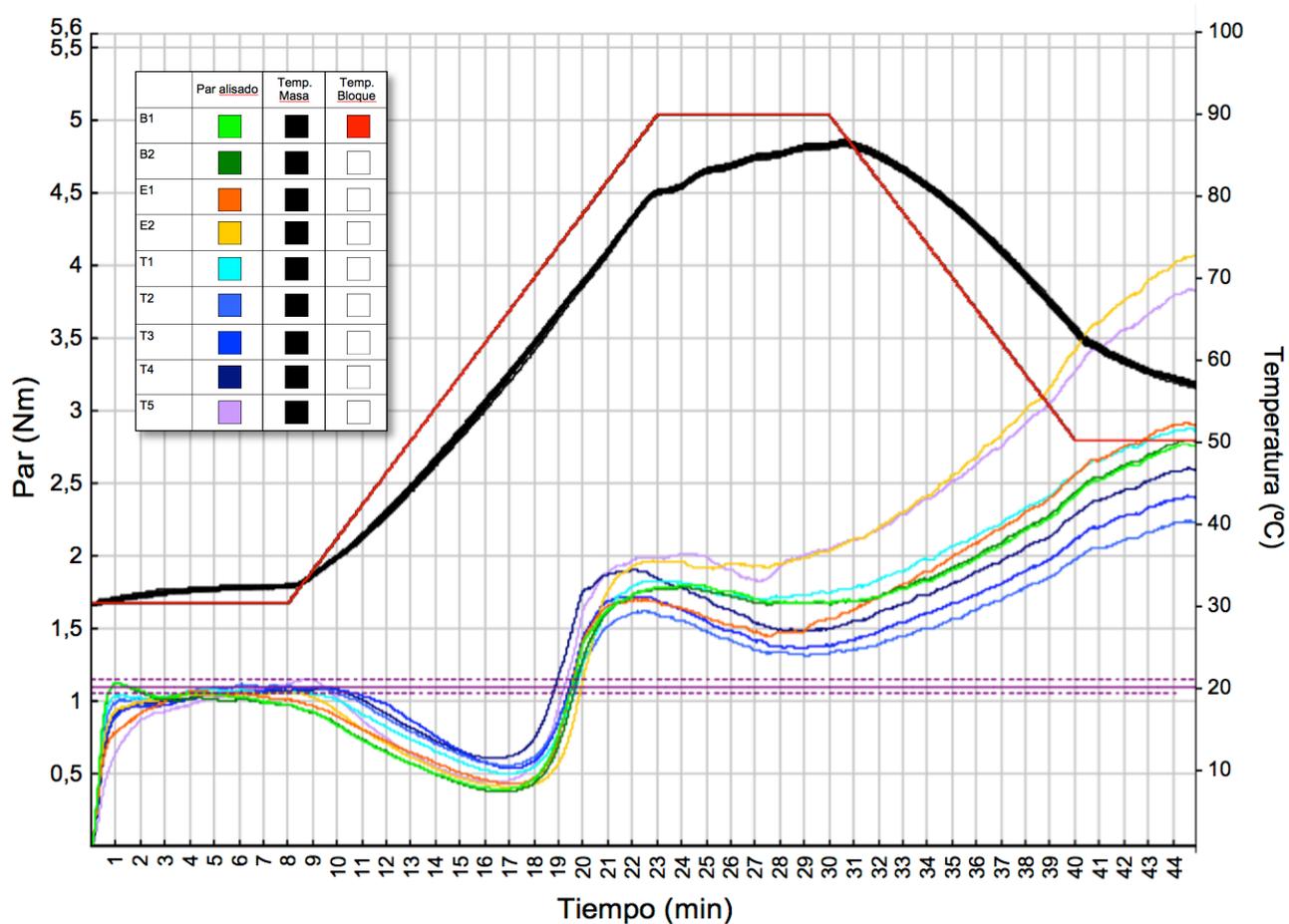
Harina	Hdad %	Desarrol	Estabilid	C1 Nm	CS Nm	C2 Nm	C3 Nm	C4 Nm	C5 Nm
		lo min	ad min						
<b>B1</b>	12,0bc	1,1a	7,2b	1,13bc	0,97a	0,39a	1,81cd	1,67c	2,75bc
<b>B2</b>	11,9b	1,1a	7,0ab	1,13bc	0,97a	0,37a	1,79c	1,66c	2,77c
<b>E1</b>	12,6d	4,3b	7,6b	1,07ab	1,01a	0,43b	1,71b	1,43b	2,89c
<b>E2</b>	10,3a	8,0d	9,2c	1,06a	1,06bc	0,41ab	1,97f	1,90e	4,05e
<b>T1</b>	12,7de	4,7b	10,0cd	1,09ab	1,06b	0,50c	1,84d	1,69c	2,84c
<b>T2</b>	12,8e	6,1c	10,3de	1,12abc	1,10cd	0,56d	1,63a	1,31a	2,22a
<b>T3</b>	13,4g	8,6d	10,9e	1,10abc	1,10bcd	0,54d	1,73b	1,36a	2,39a
<b>T4</b>	13,1f	9,1d	10,5de	1,09ab	1,07bc	0,61e	1,91e	1,47b	2,58b
<b>T5</b>	12,2c	8,8d	6,2a	1,16c	1,12d	0,44b	2,03g	1,83d	3,81d

Las letras (a-f) en cada columna indican diferencias significativas al 95% entre las muestras de harinas (Test Tukey)

Tabla 6 (continuación). Pendientes alfa, beta, gamma, retrogradación y actividad amilasa

COD	Alfa	Beta	Gamma	Retrog	Act amil
	Nm/min	Nm/min	Nm/min	%	%
<b>B1</b>	-0,080bc	0,255a	-0,029a	39,27a	7,86b
<b>B2</b>	-0,089bc	0,346ab	-0,019a	39,88a	7,30b
<b>E1</b>	-0,076c	0,651de	-0,069a	50,42c	15,93c
<b>E2</b>	-0,094abc	0,729e	-0,027a	52,95c	3,60a
<b>T1</b>	-0,090bc	0,508bcd	-0,034a	40,45ab	8,23b
<b>T2</b>	-0,099abc	0,424abc	-0,069a	40,80ab	19,19cd
<b>T3</b>	-0,118a	0,576cde	-0,071a	43,09b	21,57de
<b>T4</b>	-0,102ab	0,559cde	-0,053a	42,97b	22,89e
<b>T5</b>	-0,115a	0,349ab	-0,073a	51,99c	9,91b

Figura 13. Resultados de las curvas del Mixolab de las muestras de harina estudiadas



## **Fase 1. Comportamiento durante el amasado**

Según el RD 677/2016 de las harinas, el contenido de **humedad de las harinas** no debe superar el 15% por lo que ninguna de las harinas estudiadas quedaría fuera del rango admitido. No obstante, se encuentran diferencias significativas que, a priori, no deberían influir sobre los restantes resultados ya que el sistema Mixolab© trabaja bajo diferentes bases de humedad para poder estandarizar el proceso de análisis. La base de trabajo utilizada en los ensayos ha sido la b14.

En el caso de la **hidratación**, todas las repeticiones de ensayos se han realizado con el mismo valor ya que la repetitibilidad de los ensayos requiere que todos partan de una masa con igualdad de condiciones. Se observan importantes diferencias entre las muestras estudiadas ya que la absorción de agua en las harinas depende de la cantidad y tipo de proteína, almidón nativo, almidón dañado, pentosanos (Cauvain & Young, 2007) y de la fibra contenida en el salvado y de su tamaño (Boita et al., 2016; Noort et al., 2010). La alta absorción de agua del salvado de trigo se explica por un mayor número de grupos hidroxilo en la estructura de la fibra, que permiten una mayor asociación con las moléculas de agua a través del enlace de hidrógeno, aumentan la competencia por el agua con otros polímeros como proteínas y almidón e influyen en la distribución del agua en masa (Bock, Connelly, & Damodaran, 2013; Rosell et al., 2010). De esta manera, se observa que la harina de control (no integral) tiene uno de los menores valores de absorción de agua, principalmente debidos a la ausencia de salvado. Las harinas de espelta de grano entero E1 y E2 también han dado resultados bajos ya que aunque la harina de espelta tiene un mayor contenido de proteínas, contiene menos gluten, mientras que la harina de trigo proporciona una masa más fuerte y elástica (Frakolaki, Giannou, Topakas, & Tzia, 2018).

El **tiempo de desarrollo** de la masa indica el tiempo requerido para alcanzar el par máximo durante la mezcla (C1). Varios componentes del salvado tienen impacto negativo en el tiempo de desarrollo de la masa ya que interaccionan con las proteínas del gluten (Khalid et al., 2017). Las harinas no integrales, por tanto, tienen un rápido desarrollo a diferencia de las harinas de grano entero y ambas no representan diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). No obstante, sí existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las harinas de grano entero estudiadas ya que las interacciones entre

los compuestos poliméricos de las proteínas unidas por disulfuro y los agregados que se unen al hidrógeno y los enlaces de di-tirosina condicionan el tiempo de desarrollo y la estabilidad al amasado (Rosell et al., 2010). Las harinas B1 y B2 han oscilado entre 1,05 y 1,08 minutos, las harinas E1 y E2 entre 4,32 y 8 minutos y las harinas de trigo de grano entero entre los 4,73 minutos de la T1 a los 9,08 minutos de la T5.

La **estabilidad** de la masa al amasado está relacionada con la cantidad de las proteínas insolubles en la medida en la que estas van experimentando un debilitamiento a consecuencia de la fricción mecánica (Rosell et al., 2007). Existen diferencias significativas entre las harinas blancas B1 y B2 (7,16 y 7,03 min respectivamente) y las harinas de grano entero aunque la harina T5 no muestra diferencias significativas ( $p>0,05$ ) con la harina B2 y existen diferencias significativas ( $p<0,05$ ) entre las harinas integrales estudiadas que quizás se podrían explicar por el tamaño de la partícula de salvado (Haros, Ferrer, & Rosell, 2006b).

## **Fase 2. Comportamiento del gluten durante el calentamiento**

Tras 8 minutos de amasado, la temperatura comienza a aumentar y la consistencia de la masa disminuye a consecuencia del **debilitamiento de la proteína** y disminución de la resistencia de la masa por el efecto combinado del sobreamasado y el aumento de temperatura. Se obtiene así el par mínimo definido en C2. Esta disminución en la resistencia de la masa sucede por la descomposición física y desnaturalización de las proteínas al calentarse (Moza & Gujral, 2018). Mixolab® define el debilitamiento de las proteínas midiendo la consistencia al final del debilitamiento y la pendiente alfa que surge desde el comienzo del descenso de la consistencia hasta su punto mínimo (C2) (Rosell et al., 2007). Cuanto mayor es el resultado de C2, mayor es la resistencia a la descomposición de las proteínas y cuanto menor es el resultado de la pendiente alfa, mayor es la ratio de debilitamiento. En ambas variables encontramos diferencias significativas ( $p<0,05$ ) entre las harinas de trigo de grano entero, las harinas de espelta de grano entero y las harinas blancas. Las harinas de grano entero experimentan menor debilitamiento de la proteína atribuible a la propiedad de la fibra a causar obstrucción en el plegamiento de la proteína y retrasar el debilitamiento (Moza & Gujral, 2018). Las harinas de espelta contemplan un

mayor debilitamiento que las harinas de trigo debido a que estas contienen una menor proporción de proteínas insolubles creadoras de gluten (Frakolaki et al., 2018).

### **Fase 3. Comportamiento del almidón durante el calentamiento**

A medida que la temperatura continúa aumentando, el papel que juegan la fracción proteica pasa a un segundo plano ya que el cambio en la consistencia de la masa se debe a que los gránulos de almidón absorben el agua libre y esto se representa con un aumento del torque en la curva. Comienza entonces el proceso de **gelatinización** y continúa hasta alcanzar C3. Durante este aumento de la consistencia se define la pendiente beta que representa la ratio de gelatinización del almidón. Cuanto más alto sea C3, más viscosa será la masa y cuanto mayor sea el valor de beta, mayor es la velocidad de gelatinización. Si bien el valor de C3 no ofrece unos resultados agrupados que puedan definir las harinas, la pendiente beta nos informa de que las harinas de espelta de grano entero tienen una ratio mayor que las harinas de trigo de grano entero y éstas mayor que el de las harinas de trigo blancas. Por lo general, la velocidad y tasa de gelatinización del almidón en las harinas de trigo está condicionada por la interacción de las moléculas de proteína y almidón, el almidón dañado durante la molienda y la actividad amilásica (Cauvain & Young, 2007). En general, la fibra implica una dilución del gluten lo que afecta a la matriz almidón-gluten que condiciona la consistencia de la masa (Rosell et al., 2010). La presencia de fibra insoluble permitiría una gelatinización prematura del almidón causada por alto nivel de agua en la masa (Khalid et al., 2017).

### **Fase 4. Comportamiento de la actividad amilásica**

La fricción mecánica y la temperatura provocan finalmente la ruptura de los gránulos de almidón y se ve reflejado en un descenso en la consistencia de la masa. Además, en el momento en el que se alcanza la mayor actividad amilásica debida a la temperatura, se produce la hidrólisis de los almidones. Tardará más o menos tiempo en función de cómo esté dañado el almidón y de la acción/cantidad de amilasas responsables de la licuefacción posterior. Al fijarnos en la bajada C3-C4 estamos observando el proceso de licuefacción debido a la actividad Alpha-amilásica. Si la harina proviene de trigos germinados por lluvias antes de su recolección, habrá una

actividad enzimática alta gama pronunciada en el Mixo, la diferencia de C3-C4 será grande, todo ello se correlacionará con una harina con mala panificación: pegajosa durante el proceso, color oscuro en el horneado, rotura en galletas, etc. Los resultados determinan que no hay diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en las muestras. Para conocer la **actividad amilásica** se recurre a la ratio C3-C4 cuyo valor, cuanto más alto sea, mayor actividad amilásica tendrá. Las harinas C1, C2 y E2 han sido extraídas en molino de piedra y tienen los menores valores en actividad amilásica que oscilan entre el 3,60% de E2 al 7,86% de B1.

#### **Fase 5. Comportamiento de la retrogradación durante el enfriado**

Al disminuir la temperatura de la masa a 50°C, se observa un aumento en su consistencia que se asocia a la retrogradación del almidón (C5). Las cadenas de amilosa se recrystalizan al enfriarse, lo que conduce a la vitrificación del almidón (Rosell et al., 2010). Se ha estimado el porcentaje de **retrogradación** de las harinas ( $((C5-C4)/C5 \times 100)$ ) para indicar la capacidad de retrogradación ya que este valor porcentual, cuanto más alto sea, mayor es el grado de retrogradación de la harina estudiada (Rosell et al., 2007). La retrogradación está influenciada por diferentes factores como la fuente botánica del almidón, la relación amilosa/amilopectina y su longitud promedio de la cadena (Ozturk, Kahraman, Tiftik, & Koxsel, 2008). Se ha encontrado que las harinas no integrales oscilan entre 39,23% y 39,86%, las harinas de trigo de grano, a excepción de la T5, han oscilado entre 40,46% y 43,1% y finalmente las harinas de espelta E1 y E2, junto a la T5, han obtenido los mayores valores que oscilan entre 50,4% y 52,9%.

#### **4.2. Test de fermentación**

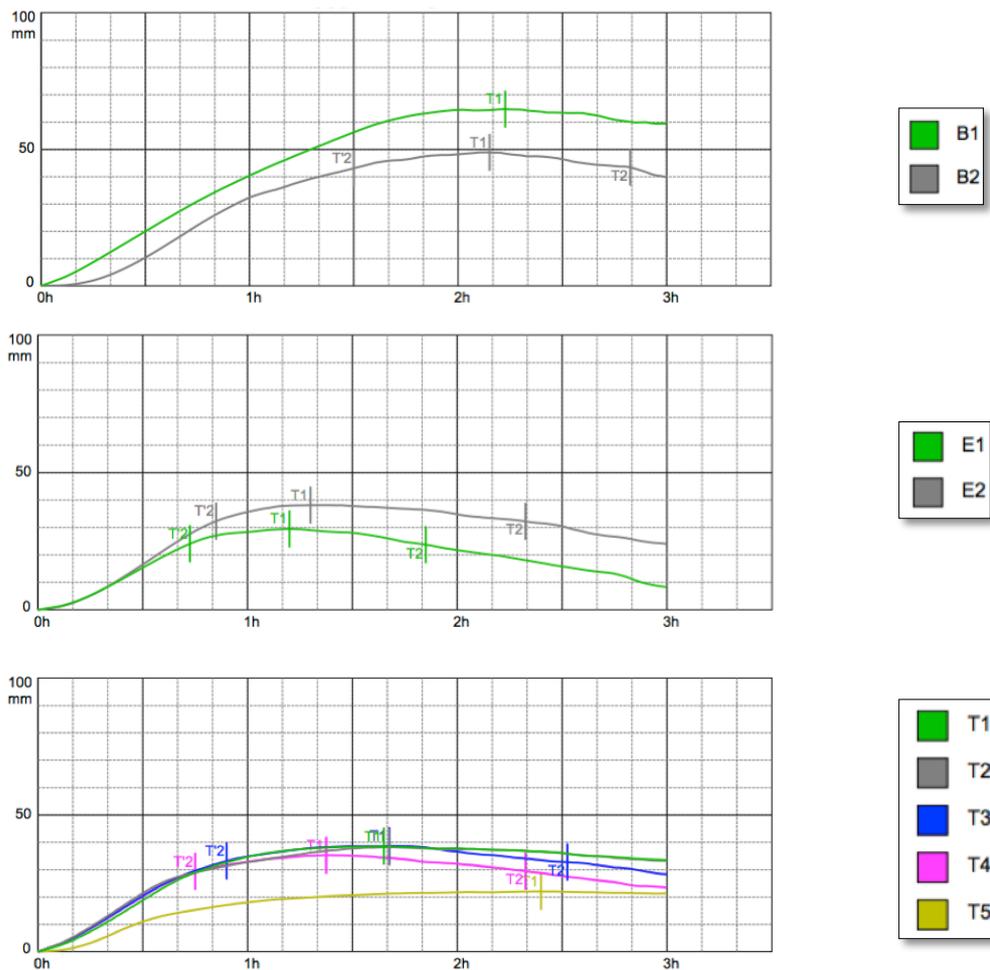
Los valores obtenidos de los ensayos en el reofermentómetro se representan en las tablas 7 y 8. En la Tabla 7 se pueden observar los valores derivados de la curva de desarrollo de masa y en la Tabla 8 los relacionados con el desprendimiento gaseoso. Se han dividido las curvas de fermentación de los resultados en tres grupos de harinas: harinas no integrales B1 y B2, harinas integrales de espelta E1 y E2, harinas integrales de trigo T1, T2, T3, T4 y T5 en las Figuras 14.a, 14b y 14.c respectivamente para poder interpretar los datos.

## Desarrollo de la masa

Tabla 7. Resultados de los parámetros de desarrollo de la masa en las muestras analizadas

COD	Hm	h	(Hm-h)/Hm	T1
	<u>mm</u>	<u>mm</u>	<u>%</u>	<u>min</u>
<b>B1</b>	64,8	59,4	8,2	133
<b>B2</b>	48,9	39,9	18,6	129
<b>E1</b>	29,5	8,3	71,9	72
<b>E2</b>	38,2	24	37,1	78
<b>T1</b>	38,6	33,4	13,5	99
<b>T2</b>	38,2	33,3	12,9	100
<b>T3</b>	38,7	28,3	26,9	100
<b>T4</b>	35,3	23,4	33,6	122
<b>T5</b>	22,1	21,3	3,4	144

Figura 14. Curvas de desarrollo de la masa en a) harinas de control; b) harinas de espelta de grano entero y c) harinas de trigo de grano entero



La Figura 14 muestra el desarrollo de la masa durante la fermentación, medida con el reofermentómetro. La principal diferencia entre las curvas es el volumen de masa como se indica principalmente por la altura de la masa que cada muestra alcanzó durante la prueba. A partir de estas curvas también es posible evaluar la tolerancia de la masa a la fermentación y el tiempo necesario antes de alcanzar la altura máxima. En la figura 14.a vemos comparadas las curvas de las masas no integrales que han mostrado buenas curvas de desarrollo con alto volumen de masa y buena tolerancia, en especial la harina B1 con una altura de 64,8 mm alcanzada a los 133 minutos y una caída de tan solo el 8,2% al final de la prueba. La harina semiintegral B2, con una curva cuya altura ha alcanzado los 48,9 mm a los 129 minutos ha sufrido una caída superior al 10% antes del final de la prueba con un valor final del 18% lo que sugiere una menor tolerancia de la masa al fermentado que B1.

Con respecto a las masas elaboradas con harinas de espelta de grano entero E1 y E2 se observa en la Figura 14.b una altura máxima menor que en las harinas no integrales con valores de 29,5 y 38 mm alcanzados de forma muy prematura y con una tolerancia muy baja, sobre todo en la harina E1 con una caída del 71,9%. Comparando en las bases de datos de los archivos de Chopin Technologies, aunque la harina E2 tenga baja tolerancia y desarrollo podría considerarse apta para panificación a diferencia de E1 que no cumple con los mínimos.

Las curvas de la Figura 14.c representan el desarrollo de las masas de trigo de grano entero. A excepción de T5, el resto de harinas han mostrado una altura máxima no demasiado aceptable de entre 35,3 mm y 38,6 mm. T1 y T2 han tenido una caída en la curva del 13,5% y 12,9% respectivamente lo que muestran tolerancia y desarrollo aceptables en comparación con T3 y T4 con caídas de 26,9% y 33,6% indicadoras de una baja tolerancia de la masa al fermentado. La harina T5 muestra unos valores excepcionalmente bajos en cuanto a tolerancia y desarrollo, dando lugar a una harina sin apenas capacidad de panificación.

Los valores de Hm y h se ven afectados negativamente por la presencia de salvado lo que se entiende como una reducción en la tolerancia de la masa (Sanz Penella, Collar, & Haros, 2008) debido a que las interacciones entre las proteínas y el

salvado evitan la expansión libre de la masa de trigo dando como resultado una altura Hm menor (Wang, Rosell, & Benedito de Barber, 2002).

## Desprendimiento gaseoso

Tabla 8. Resultados de los parámetros del desprendimiento gaseoso en las muestras analizadas

<b>COD</b>	<b>H'm</b>	<b>T'1</b>	<b>Tx</b>	<b>Tot Vol</b>	<b>CO2 lost</b>	<b>Retent</b>	<b>Ret coef</b>
	<u>mm</u>	<u>min</u>	<u>min</u>	<u>ml</u>	<u>ml</u>	<u>ml</u>	<u>%</u>
<b>B1</b>	76,9	109	75	1788	437	1352	75,6
<b>B2</b>	70	132	63	1660	356	1304	78,5
<b>E1</b>	69	40	54	1530	338	1192	77,9
<b>E2</b>	74,1	42	58	1428	272	1156	80,9
<b>T1</b>	73,6	45	48	1778	518	1260	79,9
<b>T2</b>	75,3	36	40	1858	551	1307	70,3
<b>T3</b>	73,2	115	43	1794	520	1274	71
<b>T4</b>	72,2	36	40	1685	455	1230	73
<b>T5</b>	72,1	54	37	1531	346	1185	77,4

Figura 15. Curvas de desprendimiento gaseoso. Arriba B1, abajo B2

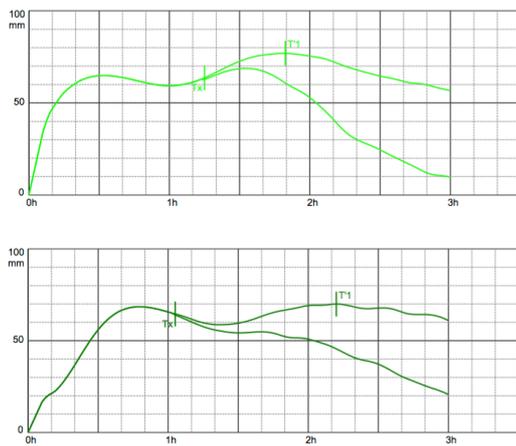


Figura 16. Curvas de desprendimiento gaseoso. Arriba E1, abajo E2

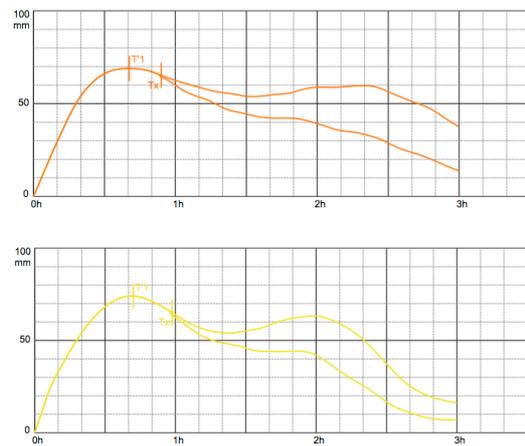
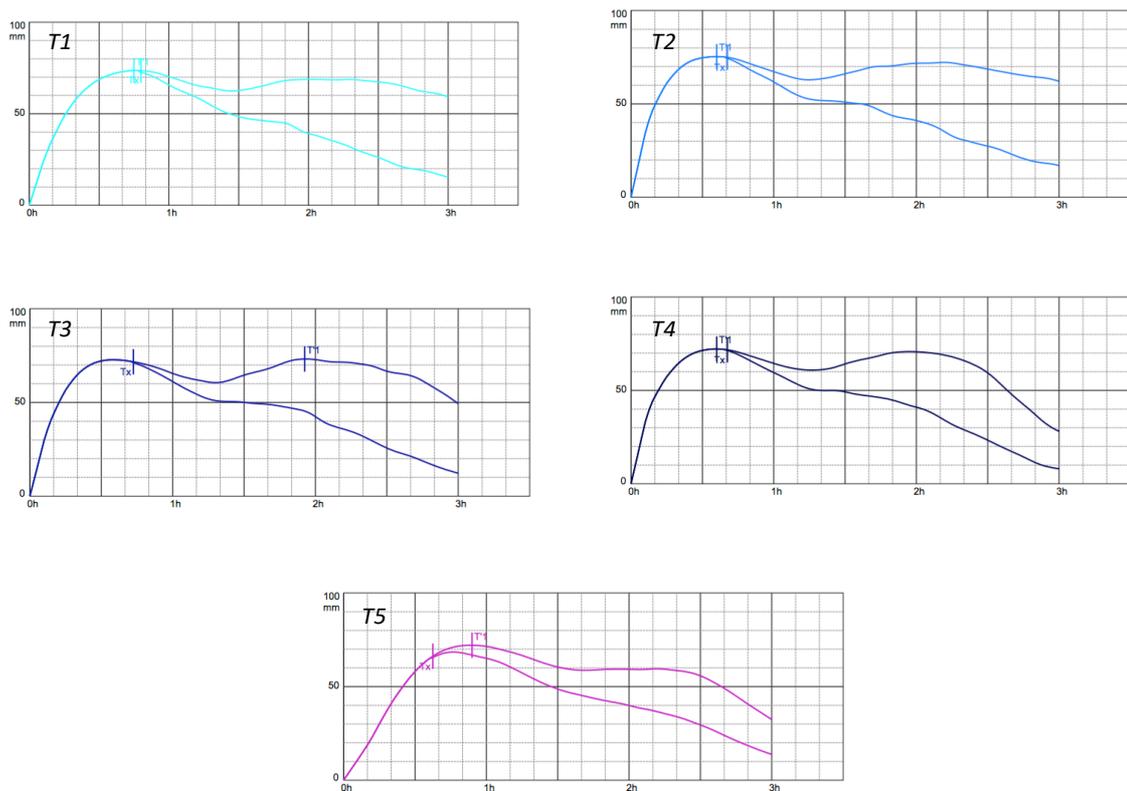


Figura 17. Curvas de desprendimiento gaseoso de las harinas de trigo de grano entero T1, T2, T3, T4 y T5



La información que obtenemos de los datos y las curvas corresponden a la cantidad total de gas producido que está ligado a la levadura y a la cantidad de sustrato disponible. También nos informa de la cantidad de CO<sub>2</sub> perdido por la masa durante la fermentación relacionada directamente con la porosidad de la masa con la aparición de Tx que informa sobre la calidad de la red proteica (Ktenioudaki, Butler, & Gallagher, 2010, 2011; Verheyen, Albrecht, Elgeti, Jekle, & Becker, 2015)

Las harinas B1 y B2, con bajo grado de extracción indican un poder fermentativo relativamente elevado (76,9 mm y 70 mm) con una aparición de Tx a los 109 min y 132 min respectivamente y una alta retención del CO<sub>2</sub> producido (Figura 15).

Las harinas integrales de espelta, a pesar de tener un alto poder fermentativo (69 mm y 74,1 mm) tienen una rápida aparición de Tx lo que indica mayor porosidad en la masa tal y como se observa en la Figura 16. E2 indica una rápida caída en la producción de CO<sub>2</sub> a continuación de la aparición de Tx lo que sugiere una baja cantidad de sustrato disponible.

Al igual que las harinas de espelta, las harinas de trigo integral (Figura 17), han mostrado también un poder fermentativo alto (de 72,1 mm a 75,3 mm) pero con una rápida aparición de la porosidad de la masa (desde los 36 min de T4 a los 54 de T5) a excepción de T3 cuya porosidad se ha manifestado a los 115 min. Todas las harinas tienen un alto coeficiente de retención de gas. Podríamos asegurar que todas las harinas integrales tienen un poder fermentativo normal y prolongado, pero con rápida aparición de Tx y fuerte permeabilidad.

### 4.3. Resultados de los panes elaborados

De acuerdo a los resultados obtenidos en Mixolab y Reofermetómetro, los panes se han elaborado siguiendo los siguientes parámetros:

*Tabla 9. Parámetros para la elaboración de los panes en función de los datos obtenidos por Mixolab® y Reofermetómetro*

	B1	B2	E1	E2	T1	T2	T3	T4	T5
<b>Humedad (%)</b>	12,0	11,9	12,6	10,3	12,7	12,8	13,4	13,1	12,2
<b>Tª masa (°C)</b>	24,3	21,5	23,5	23	22,5	23,7	23,2	22,7	22,7
<b>Hidratación (%)</b>	57,0	58,5	61,8	56,5	60,7	65,5	65,8	66,8	57,6
<b>Hidr correg b14 (%)</b>	60,6	60,8	64,4	64,2	63,1	67,8	67,1	68,5	60,9
<b>Vel. amasado (rpm)</b>	80								
<b>Tº de amasado (s)</b>	600	580	580	660	360	480	600	600	480
<b>Peso pieza (g)</b>	650								
<b>Tipo de formado</b>	BATARD								
<b>Accesorio</b>	MOLDE 200X70X110 mm								
<b>Tª fermentación (°C)</b>	28,5								
<b>Tº ferm(min)</b>	75	63	54	58	48	40	43	40	37
<b>Tº horneado (min)</b>	35								
<b>Tª horneado (°C)</b>	220								
<b>Tº vapor (s)</b>	3								

Figura 18. Panes elaborados en formato molde y baguette



#### 4.3.1. Medidas de los panes

Los resultados de las medidas efectuadas a los panes se muestran en la tabla 10. Los datos corresponden al peso, altura y volumen del pan tras la cocción, y se han calculado los datos de la pérdida de peso respecto al peso en masa y el volumen específico. Al igual que se ha hecho con los datos derivados de los ensayos de Mixolab© aplicamos el método Tukey en ANOVA para crear los intervalos de confianza de las diferencias de datos obtenidos en las repeticiones. Se establece un nivel de confianza del 95% y se encuentran diferencias significativas en todos los datos analizados.

Tabla 10. Resultados de los parámetros de peso, altura y volumen medidos en los panes.

COD	Peso pan g	Perdida	Altura pan cm	Volumen mm <sup>3</sup>	V
		peso %			específico ml/g
<b>B1</b>	562,0a	13,5d	14,6d	2480g	4,41g
<b>B2</b>	587,0bc	9,7bc	13,4c	2100f	3,58f
<b>E1</b>	580,0b	10,8c	9,1ab	1127b	1,94bc
<b>E2</b>	593,3cd	8,7ab	9,7b	1073a	1,81a
<b>T1</b>	583,3bc	10,3bc	9,0ab	1260d	2,16e
<b>T2</b>	585,0bc	10,0bc	9,6ab	1313e	2,25e
<b>T3</b>	587,7bc	9,6bc	8,7a	1213c	2,06d
<b>T4</b>	588,7bc	9,4bc	9,4ab	1180c	2,00cd
<b>T5</b>	601,0d	7,5a	9,5ab	1117b	1,86ab

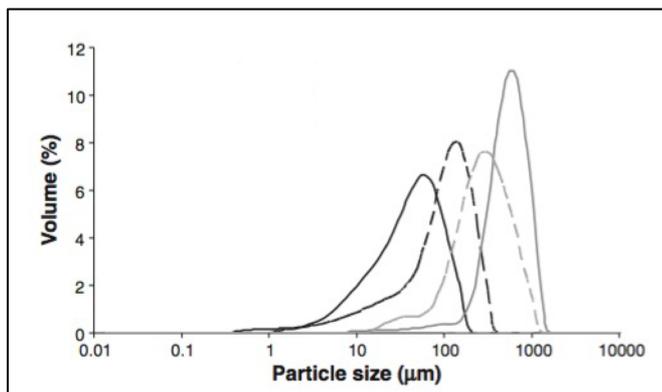
Las letras (a-g) en cada columna indican diferencias significativas al 95% entre las muestras de harinas (Test Tukey)

En la variable pérdida de peso no se han mostrado diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en los panes elaborados con harinas de trigo de grano entero a excepción de T5 que ha obtenido el menor valor (7,5%) de todos los panes estudiados. Además de la T5, el pan que menos pérdida de peso ha presentado sin diferencias significativas ha sido el de espelta ecológica E2. Los 4 panes de trigo integral T1, T2, T3 y T4, elaborados con harinas extraídas en molinos industriales de cilindros, junto con el pan B2 (molino de piedra) han experimentado una mayor pérdida de peso sin diferencias significativas entre sí. El pan elaborado con harina de espelta E1, extraída en molino industrial, ha tenido una pérdida de peso más alta que el pan de espelta ecológica molida en molino de piedra E2. La harina B1 no integral ha tenido la mayor pérdida de peso de todos. La menor pérdida de peso en el horneado podría atribuirse a un mayor contenido de proteínas (gluten) que retiene más agua durante la cocción (Sharma et al., 2017).

En las variables altura, volumen y volumen específico se observa con claridad que los panes obtenidos con harinas no integrales (B1 y B2) presentaron valores mucho más elevados que el resto de los panes. Además, entre ambos panes también se observan diferencias, los panes de la harina B1, la harina más “blanca”, con menor extracción, presentaron una altura, un volumen y un volumen específico significativamente mayores que los panes de la harina B2.. Las causas por las cuales las harinas integrales producen panes con menor volumen y que hayamos encontrado

diferencias significativas entre las harinas analizadas, son debidas a varias razones relacionadas con la presencia de determinados compuestos y la interacción entre la fibra y el gluten (Noort et al., 2010). La influencia negativa aumenta a medida que se reduce el tamaño de la partícula de salvado siendo la interacción fibra-gluten la causa principal de los efectos negativos de las fibras en cuanto al volumen del pan tal y como se puede observar en la Figura 19. En menor medida, la dilución de la proteína del gluten por el salvado, la presencia de arabinosilanos en la red de gluten y niveles más altos de ácido ferúlico también provocan un efecto negativo en el desarrollo del pan en el horneado (Heiniö et al., 2016). La influencia de los componentes del salvado en el volumen del pan muestra una interacción entre cuatro componentes del salvado (lípidos, compuestos fenólicos extraíbles e hidrolizables y la fibra) (Khalid et al., 2017). Además de la presencia de fibra por el salvado, las harinas integrales contienen el germen del grano cuyo contenido en lípidos tienden a desestabilizar las células de gas en el horneado y por tanto a disminuir el volumen del pan (Every, Morrison, Simmons, & Ross, 2006). Los panes de espelta E1 y E2 y el pan de trigo T5 han sido los panes con el menor volumen y volumen específico; en el caso de la espelta se explica por la calidad del gluten que este cereal presenta en comparación con el trigo (Geisslitz, Wieser, Scherf, & Koehler, 2018) y en el caso de T5 podría deberse a tener al bajo tamaño de la fibra. Para entender las diferencias encontradas entre los panes integrales se debería profundizar en la composición en los compuestos mencionados así como en analizar el tamaño de la partícula debido a que depende del tipo de molino utilizado (Doblado-Maldonado, Pike, Sweley, & Rose, 2012).

Figura 19. Diferencias de volumen obtenidas en varios panes en función del tamaño de partícula del salvado (Rosell et al., 2010)



### 4.3.2. Medidas de color

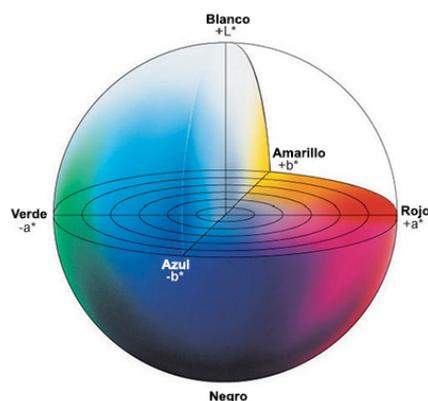
Los resultados de las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  obtenidos de las áreas de la miga de las rebanadas de cada pan se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11, Resultados de los parámetros de peso, altura y volumen medidos en los panes.

COD	$L^*$	$a^*$	$b^*$
B1	75,7f	5,0a	22,7de
B2	76,6f	4,8a	23,3ef
E1	56,1a	10,4f	20,5b
E2	57,8b	11,0g	22,7d
T1	60,0c	9,4d	21,8c
T2	66,2d	7,8c	22,9de
T3	56,4a	9,7de	19,7a
T4	56,5a	10,1ef	20,1ab
T5	70,9e	6,2b	23,7f

Las letras (a-f) en cada columna indican diferencias significativas al 95% entre las muestras de harinas (Test Tukey)

Figura 20. Espacio de color CIEL  $*a^*b^*$

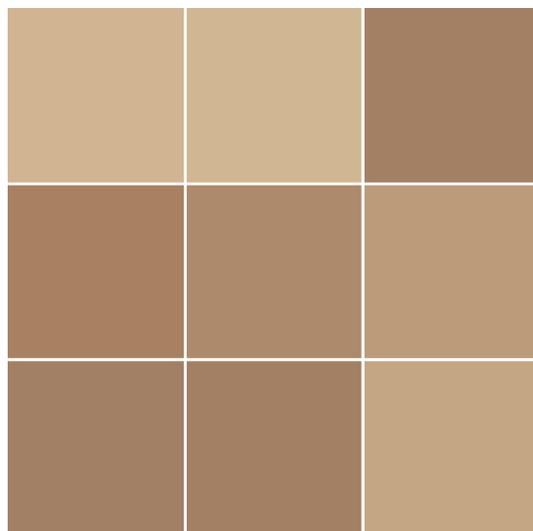


Los valores  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  definen las coordenadas de un espacio cilíndrico que contiene los colores y la luminosidad (Figura 20). Los valores de  $a^*$  y  $b^*$  han sido positivos en todos los panes por lo que se encuentran en el primer cuadrante. Aún y todo hay diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en las coordenadas. Encontramos valores de  $a^*$  (rojos) en valores de entre 4,8 del pan elaborado con harina semiintegral B2 hasta 11 del pan de espelta ecológica. Los valores más altos en  $a^*$  representan una coloración rojiza característica de las harinas de espelta. Los valores de  $b^*$  en positivo representan los amarillos y han oscilado entre 19,7 del pan T3 de harina integral al 23,3 del pan elaborado con la harina semiintegral B2. Los resultados de luminosidad  $L^*$ , han dado valores con diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en todas las muestras de panes. Como era previsible, observamos que los panes elaborados con harinas no integrales tienen mayor luminosidad. No obstante, la harina integral T5 ha dado como resultado un pan cuya miga tiene una luminosidad cercana a los panes de harinas no integrales. Destacan también los valores del pan elaborado con la harina T2 ya que se aproximan bastante a los panes de control. Uno de los atributos que más influyen en la baja aceptabilidad del pan de grano entero es su color oscuro así que T2 y T5 podrían ser unas interesantes harinas en panificación integral.

Figura 21. Detalle de la miga de los panes caracterizados. De izquierda a derecha y de arriba abajo: B1, B2, E1, E2, T1, T2, T3, T4, T5



Figura 22. Colores obtenidos a partir de los valores medios, determinados a través de la app para iOS Nix Color Sensor <sup>1</sup>



### 4.3.3. Resultados de la firmeza de la miga

Los resultados de firmeza tomados en cada uno de los panes, así como su evolución en el tiempo se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Resultados de los parámetros de firmeza a las 0, 24 y 96 horas y cálculo del endurecimiento de las muestras.

<b>COD</b>	<b>F0</b>	<b>F24</b>	<b>F96</b>	<b>E24 h</b>	<b>E96 h</b>
	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
<b>B1</b>	4,7a	6,7a	9,1a	42,07d	93,98d
<b>B2</b>	4,3a	6,5a	8,8a	51,27d	103,96d
<b>E1</b>	23,7cd	24,3c	32,1c	2,78abc	35,42bc
<b>E2</b>	21,5c	25,8c	32,9c	20,34c	53,27c
<b>T1</b>	25,9de	23,4c	29,4c	-9,42ab	13,40ab
<b>T2</b>	26,8def	30,0d	29,1c	12,00c	8,71a
<b>T3</b>	27,4ef	32,8d	38,5d	19,69c	40,33c
<b>T4</b>	15,9b	17,4b	23,6b	9,83bc	48,71c
<b>T5</b>	29,7f	25,6c	33,1c	-13,98a	11,30a

Las letras (a-f) en cada columna indican diferencias significativas al 95% entre las muestras de harinas (Test Tukey)

La firmeza de la miga de los panes elaborados también se ha estudiado en base a la evolución que experimenta debido al envejecimiento. La pérdida de agua por evaporación que acompaña a la retrogradación del almidón son los factores que principalmente provocan un aumento en la firmeza (Zhang et al., 2019). La retrogradación del almidón se ha considerado como uno de los principales problemas del pan por la disminución de la calidad durante el horneado y almacenamiento (Grewal et al., 2015). Los gránulos de almidón pasan de un estado amorfo hasta un estado parcialmente cristalino dentro de una disposición radial de grupos de amilopectina gelatinizada; las moléculas de almidón gelatinizadas se vuelven a asociar para formar una estructura cristalina de doble hélice (Grewal et al., 2015). Un importante requisito en la recristalización del almidón es la disponibilidad suficiente de humedad y depende de la movilidad de las ramas externas cristalizables de la amilopectina (Hoover, 1995). Si bien Mixolab© es capaz de simular el efecto de la retrogradación durante la prueba enfriando hasta los 50 °C, se han realizado medidas de textura a los panes después de su elaboración, a las 24 horas y a las 96 horas para observar la manera en la que la firmeza evoluciona a consecuencia de la

retrogradación y la pérdida de agua. Para ello se ha calculado y se ha analizado el incremento porcentual de la firmeza registrada a las 24 y a las 96 horas tras la elaboración y así comprobar si existen diferencias significativas entre los panes evaluados. Asimismo, se ha determinado la firmeza como la variable dependiente del tipo de harina y el tiempo transcurrido para determinar la influencia de ambos factores. Se han comprobado diferencias significativas debidas al tiempo transcurrido, con un valor medio a las 0 horas de 19,97 N, 21,39 N a las 24 y 26,27 N a las 96 horas (Figura 24). No obstante, para comprender mejor el proceso de cristalización, en los datos calculados del endurecimiento se observa un mayor incremento en la firmeza en los panes blancos que en los integrales. Aunque existe una correlación cualitativa entre la extensión de la retrogradación del almidón y la mayor firmeza del pan (Eliasson, 1983), la correlación cambia significativamente cuando se consideran diferentes tipos de harinas; los factores que incluyen el grado de hinchamiento de los gránulos de almidón, la hidratación del almidón, el nivel y el tipo de ingredientes sacáridos, el contenido de humedad, la presencia de solutos, la presencia de hidrocoloides de harina (pentosanos) y los efectos de diversos materiales lipídicos (Cauvain & Young, 2007). Por tanto, en base a las interacciones entre los compuestos existentes que facilitan una mayor retención de agua se observa un menor endurecimiento del pan.

Si observamos la firmeza que tienen en la primera toma, observamos también claras diferencias entre los panes integrales y los panes blancos. Los integrales tienen, de entrada, mayor firmeza porque algunas propiedades intrínsecas del salvado juegan un papel importante y se cree que las posibles interacciones entre los componentes del salvado y el endospermo son de naturaleza física, química o enzimática y afectan al desarrollo del alveolo dando lugar a una miga con mayor firmeza (Hemdane et al., 2016; P. J. Jacobs, Bogaerts, Hemdane, Delcour, & Courtin, 2016).

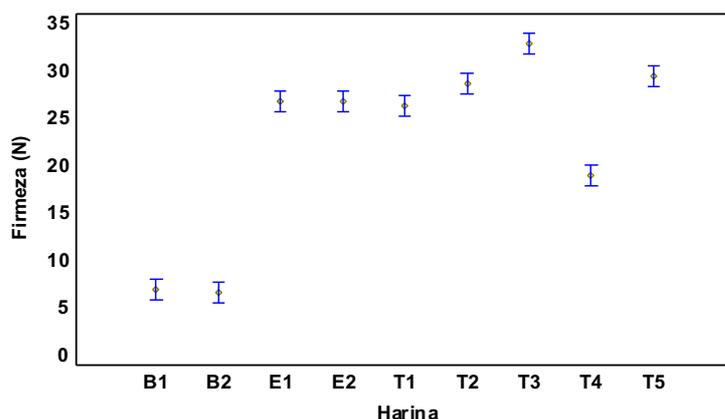


Figura 23. Textura media de los panes y su evolución

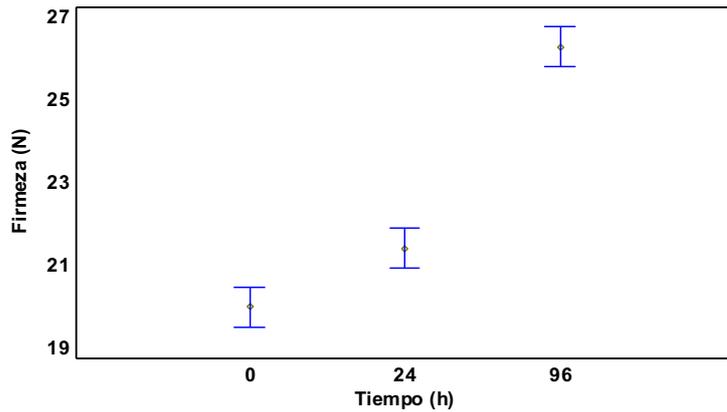


Figura 24. Textura media de todas las harinas medidas en los distintos intervalos de tiempo

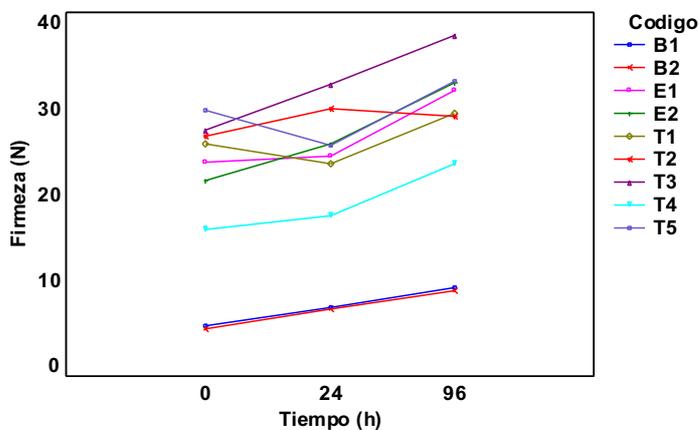


Figura 25. Evolución de la textura media de los panes

#### 4.4. Relaciones entre los resultados de las harinas, fermentación y panes

Para encontrar relaciones entre la caracterización de las harinas realizada a través de Mixolab®, el desarrollo de la masa y la capacidad fermentativa de las masas y las medidas y ensayos de firmeza y color de los panes se han obtenido correlaciones entre cada par de variables y se ha realizado un análisis de componentes principales con un 5% de probabilidad de error.

##### 4.4.1. Correlaciones

A medida que el ensayo va dibujando la curva de Mixolab® observamos que hay una fuerte relación positiva ( $r=0,815$ ) entre la estabilidad y el valor C2 correspondiente al mínimo valor tras la degradación de las proteínas. Se ha observado que las harinas integrales, debido a la dilución del gluten y las interacciones del

salvado, necesitan más tiempo para un desarrollo óptimo de la masa que derivan en una mayor estabilidad que provoca un retraso en el comienzo del debilitamiento de las proteínas. La presencia de fibra en la harina conduce a un aumento significativo en el valor del torque C2 (Rosell et al., 2010). La presencia de salvado en la harina conduce a un mayor grado de hidratación debido a los grupos hidroxilo presentes en la fibra por lo que al aumentar la cantidad de salvado aumenta el valor de hidratación (Rosell et al., 2010). Si observamos los valores de los torques en base al grado de hidratación de las harinas, se ve claramente una correlación positiva en el valor C2 ( $r=0,903$ ) y en la actividad amilásica ( $r=0,952$ ) y una correlación negativa en los valores del torque en C4 ( $r=-0,877$ ). El valor CS del torque en el momento en el que comienza a aumentar la temperatura está condicionad con el tiempo de desarrollo de la masa ( $r=0,887$ ) por lo que las harinas sin salvado cuyo tiempo de desarrollo es más bajo tendrán valores de CS más bajos y a su vez este valor condicionará de forma inversa ( $r=-0,825$ ) la pendiente alfa que determina la velocidad de degradación del gluten. En las harinas estudiadas se han encontrado asociaciones fuertes entre los valores del torque en C3 y C4 ( $r=0,826$ ), C4 y C5 ( $r=0,876$ ).

El desarrollo de la masa, ligado a la presencia o no de fibra, condiciona de forma negativa a la aparición de la porosidad (Tx) en la masa durante la fermentación ( $r=-0,805$ ) y en el volumen ( $r=-0,835$ ). El valor CS registrado en Mixolab© también guarda un importante vínculo positivo ( $r=0,863$ ) con la firmeza registrada en los panes elaborados. La pendiente beta de la curva en Mixolab© que representa el grado de gelatinización del almidón está correlacionado negativamente con el tiempo en alcanzar el máximo de desarrollo de la masa durante la fermentación, es decir, cuanto mayor es el grado de gelatinización, menor es la tolerancia de la masa ( $r=-0,844$ ). Asimismo, esta pendiente ha mostrado una correlación negativa fuerte con la luminosidad registrada y positiva con el valor  $a^*$  obtenido en Digieye. Las harinas de espelta, que han registrado los valores altos de beta más altos, se caracterizan por tener un color más rojizo.

El valor Hm, que determina el desarrollo de la masa durante la fermentación, confirma que los valores altos de esta variable darán panes con un alto volumen ( $r=0,970$ ) y una estructura de la miga con menor firmeza ( $r=-0,805$ ). Por tanto, cuanto

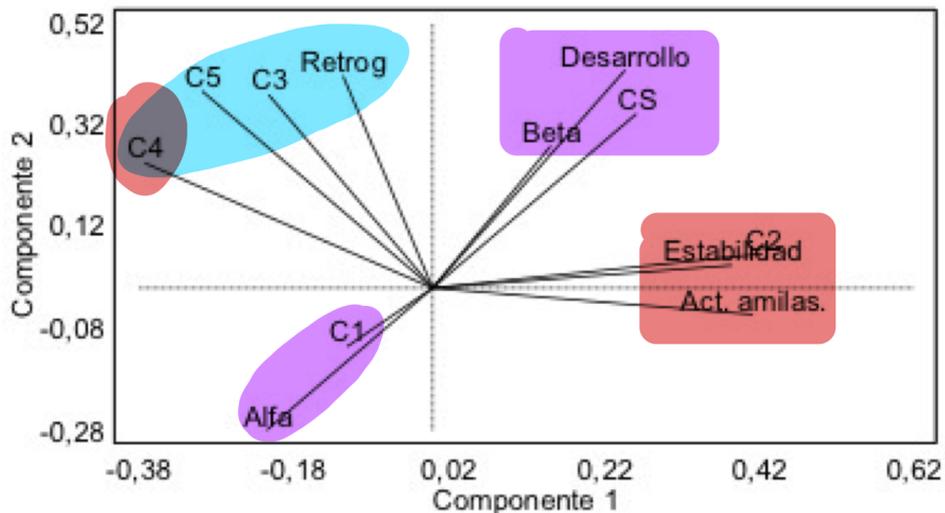
mayor es el volumen del pan obtenido, encontraremos una firmeza del pan menor ( $r=-0,865$ ).

#### 4.4.2. Análisis de componentes principales

Se han realizado varios ACP para averiguar cómo se relacionaban las harinas con las variables estudiadas en Mixolab, en fermentación y en los resultados de las medidas efectuadas a los panes elaborados.

En el ACP del Mixolab se han extraído 3 componentes que explican el 89,4% de la variabilidad de los datos originales. La Figura 26 representa el peso de las variables en los dos primeros componentes que tienen el 71,36% de variabilidad de los datos. Se puede observar que la estabilidad C2 y la actividad amilásica tienen un peso positivo muy importante en el componente 1 y están correlacionadas sobre todo las dos primeras. C4 tiene también un peso muy importante en el componente 1, de signo negativo. En el componente 2 destacan las variables C5, C3, Retrogradación y Desarrollo y CS, estas últimas directamente correlacionadas entre sí, e inversamente correlacionadas con Alfa, con peso negativo en el componente 2.

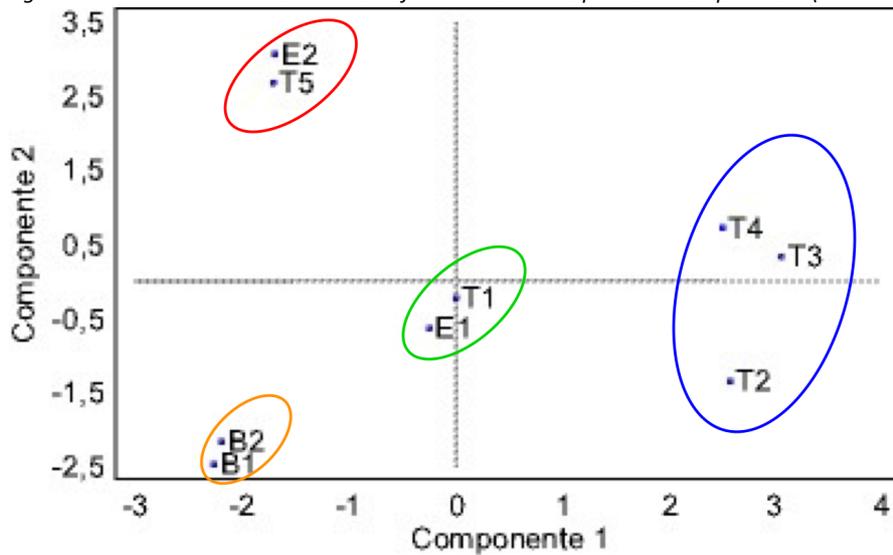
Figura 26. Peso de los parámetros del Mixolab® en los dos primeros componentes



La Figura 27 muestra la distribución gráfica de las harinas de acuerdo a los dos componentes. Se observan claramente 4 grupos diferenciados. Las dos harinas control B1 y B2 se sitúan muy juntas en el cuadrante inferior izquierdo, debido sobre todo a

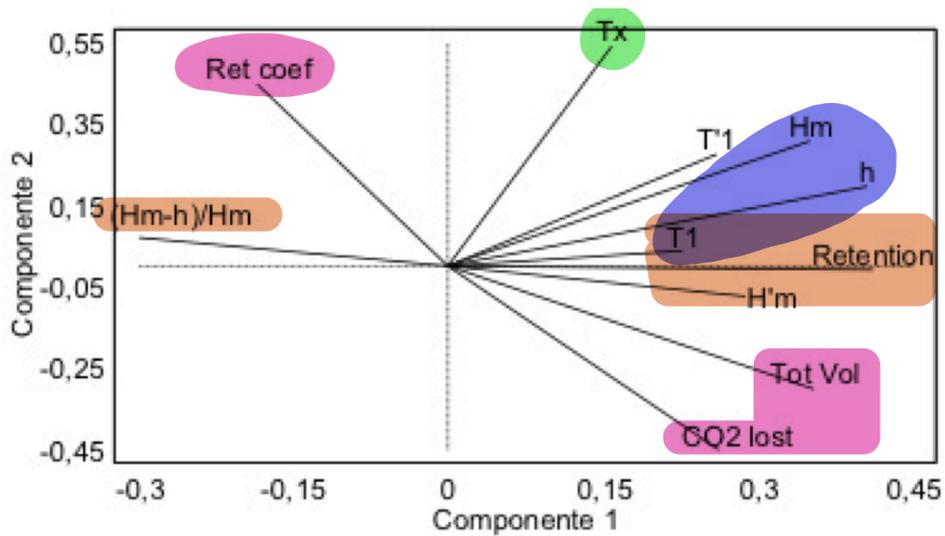
sus significativamente menores valores en las variables Desarrollo, CS, Retrogradación. En el lado derecho del eje x se sitúan las harinas integrales T2, T3 y T4, caracterizadas principalmente por valores muy altos en las variables C2, actividad amilásica y muy bajos en la variable C4. En el centro se situaría la harina integral T1 y la de espelta E1, con características intermedias entre los dos grupos anteriores, y en la parte superior izquierda se sitúan E2 y T5, debido a sus valores elevados en C4, C5 y Retrogradación.

Figura 27. Distribución de las harinas en función de los dos primeros componentes (ACP – Mixolab)



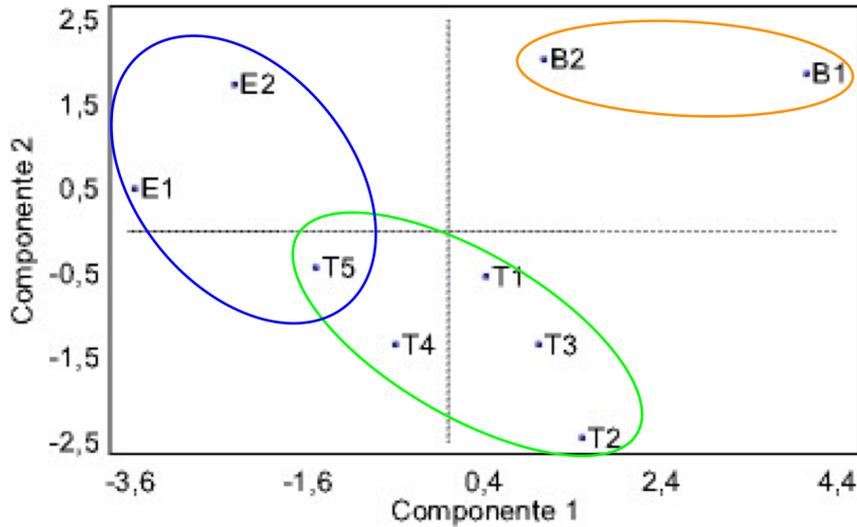
En el ACP del Reofermentómetro se han extraído 3 componentes que explican el 84% de los datos de las 11 variables obtenidas de los ensayos en el equipo. El peso que las variables tienen en los dos principales componentes, que suponen el 71,72% de la variabilidad de los datos que se representan en la Figura 28. Hm, h y T1 están fuertemente relacionadas entre sí con peso positivo en el componente 1 y por el contrario, se observa una relación inversa con la pérdida de desarrollo al final del ensayo  $((Hm-h)/Hm)$ . Con respecto al poder fermentativo de las masas, se puede considerar que el coeficiente de retención de gas, con peso en el componente 2 está inversamente relacionado con el volumen total de gas producido en relación con el perdido.

Figura 28. Peso de los parámetros del Reofermentómetro en los dos primeros componentes



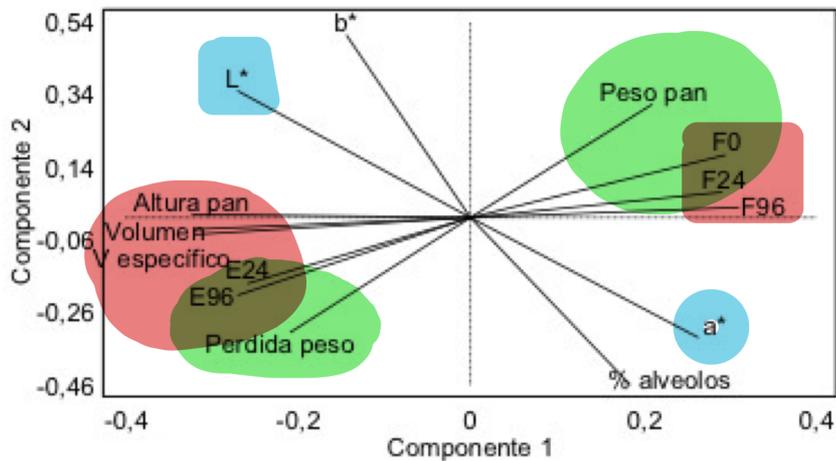
La distribución gráfica de las harinas según los componentes principales del reofermentómetro reflejan la agrupación de 3 grupos de harinas tal y como se aprecia en la Figura 29. Se ve que las harinas blancas B1 y B2 tienen unas características fermentativas similares entre sí con valores más altos de desarrollo de masa y con una aparición de la porosidad de la masa Tx más tardía. Las harinas integrales de trigo forman un segundo grupo en el que se destaca un carácter inversamente proporcional al desarrollo de la masa. Las harinas de espelta, en el cuadrante superior izquierdo, forman un tercer grupo con valores relacionados a la pérdida de desarrollo de la masa al final del ensayo. Por tanto, las harinas de control tienen altos valores de desarrollo de masa, las harinas de espelta sufren la mayor caída del desarrollo de la masa, y las harinas de trigo tienen características intermedias entre los dos grupos anteriores.

Figura 29. Distribución de las harinas en función de los dos primeros componentes (ACP – Reofermentómetro)



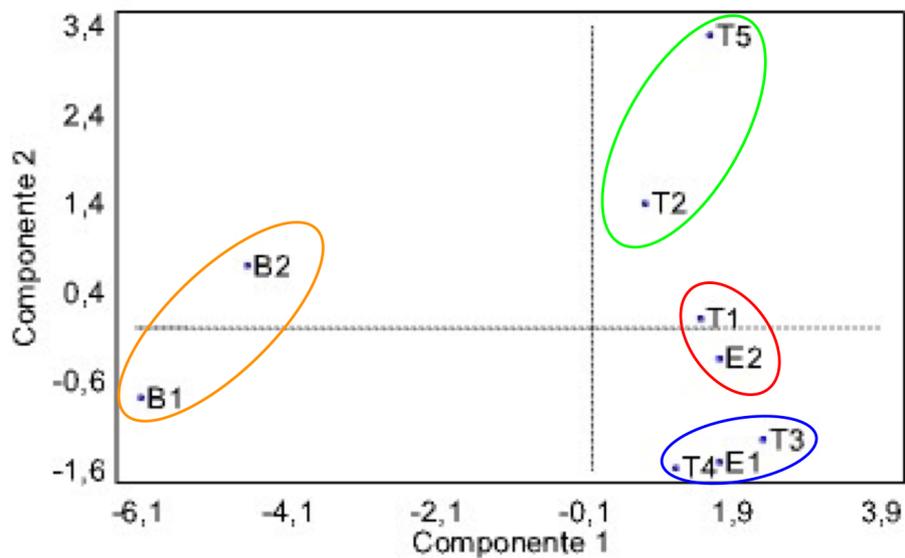
El ACP de la caracterización de los panes elaborados extrae 3 componentes que explican el 94,63% de la variabilidad de los datos por lo que supone una alta conservación de los datos originales. No obstante, los dos primeros componentes explican un 85,79% de los datos. Se observa en la Figura 30 una fuerte relación positiva entre el peso final del pan tras la cocción y la firmeza global del pan y negativa entre la altura del pan, volumen y el endurecimiento. Los panes que menos peso han perdido tienen mayor firmeza pero a su vez son los que menos firmeza pierden con el paso del tiempo. Además, aquellos panes que han obtenido valores altos en volumen y altura han perdido más peso durante la cocción y tienen unos valores de firmeza menor inicial a pesar de que sufran un mayor endurecimiento. Observamos una relación fuerte e inversa entre la luminosidad y el valor a correspondiente a los colores rojos.

Figura 30 Peso de los parámetros de la caracterización de los panes en los dos primeros componentes



La caracterización de los panes deja 4 grupos de harinas diferenciadas. Nuevamente se observa que los panes de control B1 y B2, situados a la izquierda de la Figura 31 forman un grupo común en el que se destaca un mayor volumen, mayor endurecimiento con el tiempo y mayor pérdida de peso tras la cocción. T1 y E2 se distribuyen conjuntas en el cuadrante superior derecho con características inversas a las de control. Similares a estas y con una relación también inversa a las harinas de control se encuentran las harinas T5 y T2 con bajos valores de pérdida de peso del pan tras la cocción.

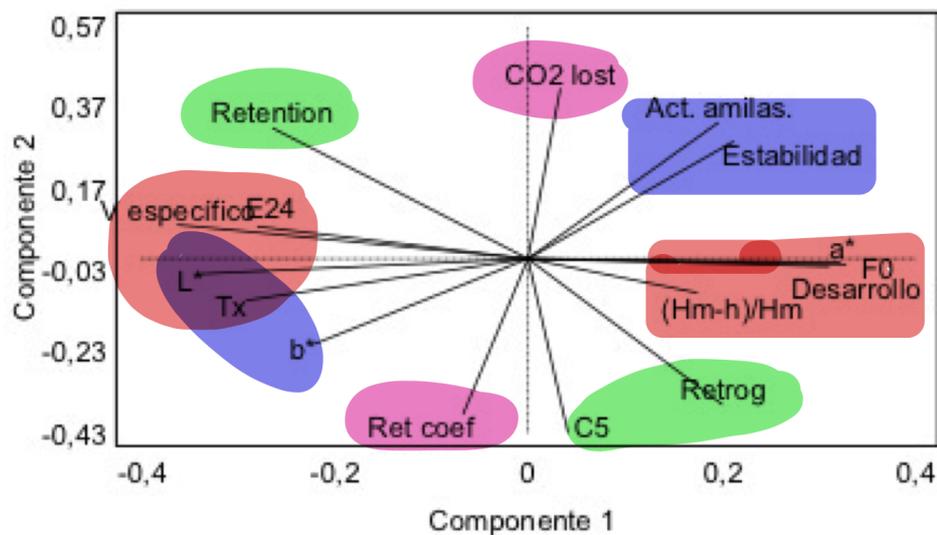
Figura 31. Distribución de las harinas en función de los dos primeros componentes (ACP – Caracterización panes)



Finalmente, se han seleccionado determinados atributos de todos los ensayos para observar las relaciones que existen entre las harinas y la calidad de los panes en un ACP que se representa en la Figura 32. 3 componentes principales explican la variabilidad de los datos en un 87,19% y la representación de los dos principales suponen el 73,73% de los siguientes datos: desarrollo de la masa, estabilidad, C5, Retrogradación, actividad amilasa, pérdida de desarrollo, aparición de la porosidad de la masa durante la fermentación, pérdida de CO<sub>2</sub>, retención de gas, coeficiente de retención de gas, volumen específico, firmeza al inicio de los ensayos, endurecimiento a las 24 horas y los parámetros del color L\*, a\*, b\*. La firmeza inicial, el desarrollo en Mixolab® y a\* tienen un importante peso en el componente 1 que a su vez es inverso

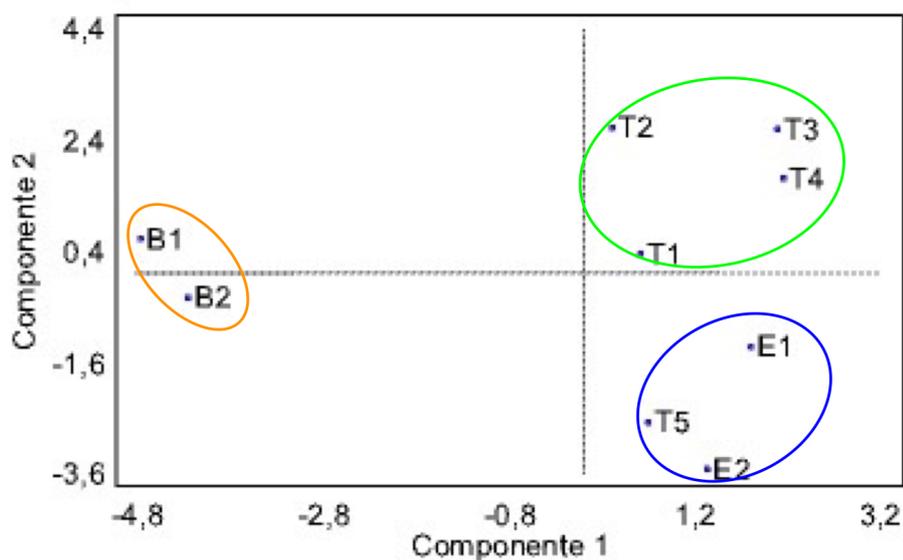
al volumen específico, el endurecimiento, la luminosidad y el punto en el que se vuelve la masa porosa. La actividad amilasa y la estabilidad están fuertemente relacionadas con valores medios en ambos componentes y con relación negativa con la aparición de la porosidad en la masa. C5 y retrogradación, con valores altos en el segundo componente están inversamente relacionados con la retención de gas de la capacidad fermentativa de las masas estudiadas. El desarrollo de la masa determinado por Mixolab® está relacionado con la firmeza e inversamente con el volumen específico y el endurecimiento del pan. Por último, destaca la pérdida de CO<sub>2</sub> con un alto valor en el componente 2 que implica una relación inversa con el coeficiente de retención de gas.

Figura 32. Peso de los parámetros seleccionados de todas las variables obtenidas en todas las caracterizaciones en los dos primeros componentes



La distribución de las harinas en la representación de la Figura 33 deja 3 grupos de harinas. Una vez más, las harinas de control se distribuyen conjuntas cuyas principales características son un alto volumen específico, mayor endurecimiento y mayores valores de luminosidad y aparición de la porosidad de la masa más tardía. Las harinas de trigo integral, excepto la T5 están relacionadas con valores altos de actividad amilásica y mayor estabilidad al amasado. El tercer grupo serán las harinas de espelta, que en este caso comparten distribución con la harina T5 con mayores valores de retrogradación.

Figura 33. Distribución de las harinas en función de los dos primeros componentes (ACP – Parámetros seleccionados)



## 5. CONCLUSIONES

Las fracciones de salvado presentes en la harina tienen efectos negativos sobre la calidad del pan y las características fermentativas. La fibra interfiere en el resto de los componentes provocando un menor volumen, una mayor firmeza y una mayor capacidad de retención de agua. Se han comparado los resultados del reofermentómetro con las medidas obtenidas de la caracterización de los panes y se ha encontrado una relación directa entre el valor Hm de desarrollo de la masa ( $r=0,906$ ) y el punto de desprendimiento gaseoso Tx ( $r=0,801$ ) con el volumen específico del producto elaborado. La prueba realizada en el Reofermentómetro, además de arrojar la imprescindible información sobre el punto óptimo de fermentación, indicará que una masa con un alto desarrollo y tolerancia dará lugar a un pan con un volumen alto.

La alta capacidad de retención de agua de los componentes presentes en el salvado y la interacción de estos con el gluten harán que los valores de firmeza de la miga de pan sean más altos que en los panes no integrales. Sin embargo, el endurecimiento del pan con el tiempo, medido en base al porcentaje de incremento

de firmeza desde su elaboración, es mucho menor en los panes con alto contenido en salvado. Por tanto, los panes integrales tendrán mayor firmeza en un principio pero el grado de endurecimiento con el tiempo será menor dando lugar a productos con una mayor vida útil.

Los ensayos con Mixolab© indican un menor tiempo de desarrollo de la masa integral durante el amasado debido a las fracciones de salvado que interfieren con el gluten al inicio; se ha visto que las harinas no integrales han tenido un rápido desarrollo en comparación con las harinas de grano entero estudiadas y esto se ha correlacionado de manera inversa con el volumen del pan ( $r=-0,835$ ). Comparando las harinas de grano entero, la naturaleza del tipo de trigo utilizado ha condicionado el tiempo de estabilidad así que las harinas de espelta de grano entero han sido las que menor estabilidad han tenido ya que contienen una menor cantidad de gluten. Una baja estabilidad de la masa condicionará el punto C2, que indica el grado de debilitamiento de las proteínas ( $r=0,815$ ). No obstante, un bajo valor de C2 no significa un gluten débil tal y como se ha comprobado en las harinas no integrales. A su vez, tal y como hemos visto en ACP, una alta actividad amilásica, calculada a partir de los valores de C3 y C4, dará lugar a harinas que tendrán una mayor estabilidad al amasado. Asimismo, El valor C4, está fuertemente correlacionado de forma positiva con el endurecimiento tras 24 horas almacenado ( $r=0,959$ ). En base a los datos obtenidos de todas las harinas, los valores C3, C4 y C5 están relacionados de manera positiva, y unos valores altos indicarán una mayor retrogradación del almidón durante el envejecimiento del pan. Asimismo, tal y como asegura el manual de Mixolab©, hemos podido comprobar que hay una relación inversa entre los valores de la actividad amilásica y el valor del torque en C4.

Gracias al análisis de componentes principales realizado a todos los ensayos, hemos observado que tanto la caracterización del pan, como la de la masa y la de las harinas en los diferentes ensayos, han clasificado las harinas en tres grupos: un primer grupo con las harinas de control no integrales B1 y B2, otro grupo que engloba a las harinas de espelta de grano entero y la T5 y un tercer grupo, con unas características intermedias a los otros dos, donde se encuentran el resto de harinas de trigo de grano entero T1, T2, T3 y T4. Para conocer más detalles en la diferenciación de las harinas en

cada grupo son necesarios otro tipo de ensayos y/o más información derivada de los proveedores de las harinas.

En conclusión, podemos decir que Mixolab® y el Reofermentómetro son buenas herramientas para caracterizar y clasificar harinas de grano entero y así poder ofrecer información y condiciones al usuario que le permitan realizar elaboraciones con mayor seguridad. Asimismo, son equipos que podrán predecir el comportamiento de las harinas integrales en ensayos en los que se utilicen ingredientes de naturaleza enzimática y funcional para la mejora de las características del pan integral (Tebben et al., 2018).

## 6. BIBLIOGRAFÍA

AACC. (1999). Measurement of Bread Firmness by Universal Testing Machine, Method: 74-09. In *AACC International Approved Methods*.

AACC, I. (2001). *Approved Methods of Analysis. Method 10-05.01. Guidelines for Measurement of Volume by Rapeseed Displacement*.  
<https://doi.org/10.1094/AACCIntMethod-10-05.01>

AACC International. (n.d.). *AACC International approved methods of analysis*. AACC International. Retrieved from <https://methods.aaccnet.org/summaries/54-60-01.aspx>

AACC International. (1999). *Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Method 44-15.02. Moisture—Air-Oven Methods Final, 136(1)*, NP.  
<https://doi.org/10.1093/toxsci/kft062>

Aprodu, I., Horincar, G., Andonoiu, D. G., & Banu, I. (2019). Technological performance of various flours obtained through multigrain milling. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.05.011>

Blandino, M., Marinaccio, F., Ingegno, B. L., Pansa, M. G., Vaccino, P., Tavella, L., & Reyneri, A. (2015). Evaluation of common and durum wheat rheological quality

- through Mixolab<sup>®</sup> analysis after field damage by cereal bugs. *Field Crops Research*.  
<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.04.014>
- Bock, J. E., Connelly, R. K., & Damodaran, S. (2013). Impact of bran addition on water properties and gluten secondary structure in wheat flour doughs studied by attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy. *Cereal Chemistry*. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-01-13-0008-FI>
- Boita, E. R. F., Oro, T., Bressiani, J., Santetti, G. S., Bertolin, T. E., & Gutkoski, L. C. (2016). Rheological properties of wheat flour dough and pan bread with wheat bran. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.08.015>
- Bucsellà, B., Takács, Á., Vizer, V., Schwendener, U., & Tömösközi, S. (2016). Comparison of the effects of different heat treatment processes on rheological properties of cake and bread wheat flours. *Food Chemistry*.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.073>
- Buri, R. C., Von Reding, W., & Gavin, M. H. (2004). Description and characterization of wheat aleurone. *Cereal Foods World*.
- Cappelli, A., Cini, E., Guerrini, L., Masella, P., Angeloni, G., & Parenti, A. (2018). Predictive models of the rheological properties and optimal water content in doughs: An application to ancient grain flours with different degrees of refining. *Journal of Cereal Science*, 83, 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.09.006>
- Cauvain, S. P., & Young, L. S. (2007). *Technology of breadmaking. Technology of Breadmaking*. <https://doi.org/10.1007/0-387-38565-7>
- DigiEye System*. (n.d.). Retrieved from [www.verivide.com](http://www.verivide.com)
- Ding, J., Hou, G. G., Nemzer, B. V., Xiong, S., Dubat, A., & Feng, H. (2018). Effects of controlled germination on selected physicochemical and functional properties of whole-wheat flour and enhanced  $\gamma$ -aminobutyric acid accumulation by ultrasonication. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.128>
- Doblado-Maldonado, A. F., Pike, O. A., Sweley, J. C., & Rose, D. J. (2012). Key issues and challenges in whole wheat flour milling and storage. *Journal of Cereal Science*.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2012.02.015>

- Dubat, A. (2010). A new AACC international approved method to measure rheological properties of a dough sample. *Cereal Foods World*. <https://doi.org/10.1094/CFW-55-3-0150>
- Dubois, M., Dubat, A., & Launay, B. (2017). The Chopin Alveograph. In *The AlveoConsistograph Handbook* (pp. 3–12). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-1-891127-56-4.50006-x>
- Dvořáček, V., Bradová, J., Sedláček, T., & Šárka, E. (2019). Relationships among Mixolab rheological properties of isolated starch and white flour and quality of baking products using different wheat cultivars. *Journal of Cereal Science*, *89*, 102801. <https://doi.org/10.1016/J.JCS.2019.102801>
- Eliasson, A. C. (1983). Differential scanning calorimetry studies on wheat starch-gluten mixtures: II. Effect of gluten and sodium stearyl lactylate on starch crystallization during ageing of wheat starch gels. *Journal of Cereal Science*. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(83\)80022-8](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(83)80022-8)
- Every, D., Morrison, S. C., Simmons, L. D., & Ross, M. P. (2006). Distribution of glutathione in millstreams and relationships to chemical and baking properties of flour. *Cereal Chemistry*. <https://doi.org/10.1094/CC-83-0057>
- Frakolaki, G., Giannou, V., Topakas, E., & Tzia, C. (2018). Chemical characterization and breadmaking potential of spelt versus wheat flour. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.08.023>
- Geisslitz, S., Wieser, H., Scherf, K. A., & Koehler, P. (2018). Gluten protein composition and aggregation properties as predictors for bread volume of common wheat, spelt, durum wheat, emmer and einkorn. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.08.012>
- Grewal, N., Faubion, J., Feng, G., Kaufman, R. C., Wilson, J. D., & Shi, Y. C. (2015). Structure of waxy maize starch hydrolyzed by maltogenic  $\alpha$ -amylase in relation to its retrogradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf506215s>
- Gujral, H. S., Sharma, B., & Khatri, M. (2018). Influence of replacing wheat bran with

- barley bran on dough rheology, digestibility and retrogradation behavior of chapatti. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.042>
- Hadnađev, T. D., Torbica, A., & Hadnađev, M. (2012). Rheological properties of wheat flour substitutes/alternative crops assessed by Mixolab. *Procedia Food Science*. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.051>
- Haros, M., Ferrer, A., & Rosell, C. (2006a). Rheological behaviour of whole wheat flour. EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/iufost:20060681>
- Haros, M., Ferrer, A., & Rosell, C. (2006b). Rheological behaviour of whole wheat flour. <https://doi.org/10.1051/iufost:20060681>
- Heiniö, R. L., Noort, M. W. J., Katina, K., Alam, S. A., Sozer, N., de Kock, H. L., ... Poutanen, K. (2016). Sensory characteristics of wholegrain and bran-rich cereal foods - A review. *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.002>
- Hemdane, S., Langenaeken, N. A., Jacobs, P. J., Verspreet, J., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2016). Study of the intrinsic properties of wheat bran and pearlings obtained by sequential debranning and their role in bran-enriched bread making. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.08.003>
- HIBBERD, G. E., & PARKER, N. S. (1985). MEASUREMENTS OF THE COMPRESSION PROPERTIES OF BREAD CRUMB. *Journal of Texture Studies*, 16(1), 97–110. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.1985.tb00682.x>
- Hoover, R. (1995). Starch retrogradation. *Food Reviews International*. <https://doi.org/10.1080/87559129509541044>
- Jacobs, D. R., Meyer, K. A., Kushi, L. H., & Folsom, A. R. (1998). Whole-grain intake may reduce the risk of ischemic heart disease death in postmenopausal women: The Iowa women's health study. *American Journal of Clinical Nutrition*. <https://doi.org/10.1093/ajcn/68.2.248>
- Jacobs, P. J., Bogaerts, S., Hemdane, S., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2016). Impact of Wheat Bran Hydration Properties As Affected by Toasting and Degree of Milling on Optimal Dough Development in Bread Making. *Journal of Agricultural and*

*Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05958>

Jonnalagadda, S. S., Harnack, L., Hai Liu, R., McKeown, N., Seal, C., Liu, S., & Fahey, G. C. (2011). Putting the Whole Grain Puzzle Together: Health Benefits Associated with Whole Grains—Summary of American Society for Nutrition 2010 Satellite Symposium. *The Journal of Nutrition*. <https://doi.org/10.3945/jn.110.132944>

Khalid, K. H., Ohm, J. B., & Simsek, S. (2017). Whole wheat bread: Effect of bran fractions on dough and end-product quality. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.03.011>

Ktenioudaki, A., Butler, F., & Gallagher, E. (2010). Rheological properties and baking quality of wheat varieties from various geographical regions. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.02.009>

Ktenioudaki, A., Butler, F., & Gallagher, E. (2011). Dough characteristics of Irish wheat varieties II. Aeration profile and baking quality. *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.015>

Ministerio de Sanidad, C. y B. S. (n.d.). Aecosan - Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Retrieved April 23, 2019, from [http://www.aecosan.mssi.gob.es/AECOSAN/web/nutricion/seccion/estrategia\\_naos.htm](http://www.aecosan.mssi.gob.es/AECOSAN/web/nutricion/seccion/estrategia_naos.htm)

Moza, J., & Gujral, H. S. (2018). Mixolab, retrogradation and digestibility behavior of chapatti made from hulless barley flours. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.11.003>

Noort, M. W. J., van Haaster, D., Hemery, Y., Schols, H. A., & Hamer, R. J. (2010). The effect of particle size of wheat bran fractions on bread quality - Evidence for fibre-protein interactions. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.03.003>

Ozturk, S., Kahraman, K., Tiftik, B., & Koksel, H. (2008). Predicting the cookie quality of flours by using Mixolab®. *European Food Research and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0879-x>

Rheo F4 - Chopin Technologies. (n.d.). Retrieved August 8, 2019, from

<https://chopin.fr/en/page-dun-produit/rheo-f4.html>

- Rosell, C. M., Collar, C., & Haros, M. (2007). Assessment of hydrocolloid effects on the thermo-mechanical properties of wheat using the Mixolab. *Food Hydrocolloids*.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.05.004>
- Rosell, C. M., Santos, E., & Collar, C. (2010). Physical characterization of fiber-enriched bread doughs by dual mixing and temperature constraint using the Mixolab®. *European Food Research and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1310-y>
- Sanz Penella, J. M., Collar, C., & Haros, M. (2008). Effect of wheat bran and enzyme addition on dough functional performance and phytic acid levels in bread. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.03.006>
- Seidemann, J. (2006). Shuey, W., L. Locken, and St. Laska (Herausgeber): The Farinograph Handbook (Das Farinograph-Handbuch). Publ. by the American Association of Cereal Chemistry, Inc., St. Paul, Minn. 2. Edit. 1972. 76 Pages, 41 Illustrations, and 27 Tables. Price: AACC Members \$ 10.00 (postpaid); Non-Members \$ 15.00 (postpaid); Plastic ring binder for \$ 1.50 extra. *Starch - Stärke*.  
<https://doi.org/10.1002/star.19740260612>
- Seyer, M. È., & Gélinas, P. (2009). Bran characteristics and wheat performance in whole wheat bread. *International Journal of Food Science and Technology*.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01819.x>
- Sharma, B., Gujral, H. S., & Solah, V. (2017). Effect of incorporating finger millet in wheat flour on mixolab behavior, chapatti quality and starch digestibility. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.118>
- Slavin, J. (2004). Whole grains and human health. *Nutrition Research Reviews*.  
<https://doi.org/10.1079/nrr200374>
- Švec, I., & Hrušková, M. (2015). The Mixolab parameters of composite wheat/hemp flour and their relation to quality features. *LWT - Food Science and Technology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.034>
- Tebben, L., Shen, Y., & Li, Y. (2018). Improvers and functional ingredients in whole

- wheat bread: A review of their effects on dough properties and bread quality. *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.015>
- Torbica, A., Drašković, M., Tomić, J., Dodig, D., Bošković, J., & Zečević, V. (2016). Utilization of Mixolab for assessment of durum wheat quality dependent on climatic factors. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.04.012>
- Verheyen, C., Albrecht, A., Elgeti, D., Jekle, M., & Becker, T. (2015). Impact of gas formation kinetics on dough development and bread quality. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.013>
- Wang, J., Rosell, C. M., & Benedito de Barber, C. (2002). Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00135-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00135-8)
- Zhang, L., Li, Z., Qiao, Y., Zhang, Y., Zheng, W., Zhao, Y., ... Cui, Z. (2019). Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by a maltohexaose producing  $\alpha$ -amylase. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.03.018>