

Universidad Pública de Navarra

Nafarroako Unibertsitate Publikoa

ESCUELA TECNICA SUPERIOR
DE INGENIEROS AGRONOMOS

*NEKAZARITZAKO INGENIARIEN
GOI MAILAKO ESKOLA TEKNIKOA*

Efectos de la ozonización del agua sobre propiedades de masas y pan

presentado por

ANDRÉS PAVÓN RODRÍGUEZ(e)k

aurkeztua

*MASTER UNIVERSITARIO EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD EN LAS INDUSTRIAS
AGROALIMENTARIAS UNIVERSIDAD PÚBLICA DE NAVARRA
UNIBERTSITATE MASTERRA NEKAZARITZAKO ELIKAGAIEN INDUSTRIETAKO
TEKNOLOGIAN ETA KALITATEAN*

Septiembre de 2015 / 2015ren Iraila

Efectos de la ozonización del agua sobre propiedades de masas y pan

Andrés Pavón Rodríguez, Iñigo Arozarena Martinicorena

Dpto. Tecnología de Alimentos, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra. Campus Arrosadía s/n, 31006 Pamplona, España

ARTICLE INFO

Trabajo Fin de Master

Master Universitario en
Tecnología y Calidad en las
Industrias Agroalimentarias
Universidad Pública de Navarra

Autor: Andrés Pavón Rodríguez
Director: Iñigo Arozarena
Martinicorena

Keywords:

Ozone
Oxidant
Bread
Doughs
Breadmaking

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of ozone in doughs and breads made with ozonated water. Different treatments were analyzed, control with an improver that included ascorbic acid (CM), control without improver (C) and 4 different doses of ozone in water: Oz1 (0.47-0.48 ppm); Oz2 (0.64-0.68 ppm); Oz3 (0.89-0.91 ppm); Oz4 (> 2 ppm). The results have shown that high doses of ozone (Oz4) in the doughs caused a decrease in the maximum height of the doughs during fermentation (Hm, measured with a Rheofermentometer) and in their alveographic properties strength (W) and tenacity (P), causing a decrease in their ability to maintain the desired shape (height and length) of the bread. This might be due to excessive oxidation of gluten proteins. Furthermore, the breads obtained from these doughs showed higher values in hardness, gumminess, chewiness and a lower cohesiveness values and, after 24 h, a faster staling process than the control breads. Medium doses of ozone in water (0.30-0.80 ppm) provided bread more similar than control samples for texture properties. Beside this, it was observed that the kneading time could be decreased because the development time of the doughs made with ozone was faster than controls. Varying this kneading time (using 0.80 ppm ozonated water) it was found that Hm in doughs, height and length as well as hardness, gumminess, chewiness and cohesiveness at 0 and 24 h of the bread resembled those of the doughs and control breads kneading with standard times. The results of this work indicate that the use of ozonated water may be a useful alternative to the addition of chemical oxidants to the bread dough. For this to be effective, it seems to be necessary to use moderate doses of ozone and adjust the intensity and time of dough mixing.

1. Introducción

El ozono es una sustancia compuesta por tres átomos de oxígeno. Se forma al disociarse los dos átomos que forman la molécula de oxígeno gaseoso y unirse a otra molécula de oxígeno gaseoso (O_2) y formarse entonces una molécula de tres átomos de oxígeno, el ozono (O_3). En la naturaleza, es un gas incoloro, con un olor característico, se encuentra en la atmósfera en pequeñas proporciones. Su formación es debida a la acción de descargas eléctricas, tormentas por ejemplo, o por la acción de luz ultravioleta, sobre la molécula de oxígeno. Artificialmente se puede producir ozono mediante un equipo que tiene un tubo dieléctrico por donde pasa el oxígeno, y donde mediante descargas van convirtiendo las moléculas de O_2 en moléculas de O_3 .

El ozono (O_3) se viene utilizando de manera convencional como agente antimicrobiano e higienizante en el tratamiento de aguas, descontaminación y desinfección de aire de quirófanos, almacenes, baños públicos. Cada vez es más extendido su uso en las industrias agroalimentarias como higienizante de superficies y para productos almacenados (carnes, pescados, cereales, quesos, embutidos, lavado de frutas y hortalizas, etc.). Presenta una serie de características que hacen interesante su uso en la industria alimentaria frente a otros agentes higienizantes: i) se descompone rápidamente dando lugar a moléculas de oxígeno; ii) no deja residuos; iii) se puede producir mediante pequeños equipos en las factorías, por lo que iv) no requiere almacenaje ni contenedores de residuos químicos (Shandu et al. 2011a).

El uso de agentes que ayudan o mejoran los procesos de elaboración o manipulación de las materias primas en la industria agroalimentaria está a la orden del día. Así, en las industrias harineras está muy extendido su uso para acelerar la oxidación natural de los pigmentos que confieren un color amarillento a las harinas, ya que el proceso natural es de aproximadamente 3 semanas de almacenamiento, y con el uso de estos productos, como el cloro, se acorta el proceso. Este proceso ayuda a que la miga de los panes presente un color más blanco, mejorando la percepción de los consumidores. Aunque la evaluación de seguridad ha resultado

fallida a la hora de detectar cualquier riesgo asociado al consumo de productos a base de harinas cloradas, sigue habiendo una gran preocupación por la utilización y consumo de productos organoclorados (Greenwell et al. 1996). En las industrias de panificación, los comúnmente llamados agentes mejorantes son una mezcla de aditivos (oxidantes, emulsionantes) y e ingredientes (enzimas) con diferentes funciones. Es muy común el uso de ácido ascórbico a las masas, que al transformarse en ácido dehidroascórbico ejerce una acción oxidativa que promueve la formación de enlaces disulfuro entre las proteínas del gluten, lo que confiere a las masas una mayor fuerza que hace que las barras de pan alcancen un mayor volumen debido a un aumento de su capacidad de retención gaseosa (Bloksma et al. 1972).

La capacidad oxidativa de la molécula de O_3 le confiere unas capacidades que pueden ser interesantes en la industria alimentaria en general y la panadera en particular. Existen muy pocas referencias bibliográficas al respecto y en prácticamente su totalidad los tratamientos de ozonización se aplicaron bien al grano antes de la molienda (Violleau et al., 2012) o bien a las harinas (Shandu et al., 2011a, 2011b). Así, el tratamiento controlado por gasificación de O_3 de harinas durante su almacenamiento produce el aumento del volumen y mayor blancura de la miga en los panes elaborados con esas harinas (Sandhu et al. 2011a), y presentándose como una posible alternativa al uso de bromato potásico como agente oxidante (Sandhu et al., 2011b). El ozono promueve la oxidación de grupos sulfhídricos, haciendo que se formen enlaces disulfuro entre los aminoácidos de las proteínas de las harinas tratadas., confiriéndoles mayor fuerza y capacidad de retención, como muestra el estudio en el que se realiza el tratamiento del grano de trigo con concentraciones controladas y moderadas de gas O_3 produciendo un incremento en la fuerza y tenacidad aunque una menor extensibilidad de las masas elaboradas con harinas tratadas (Vioellau et al 2012). En estos estudios se pone claramente de manifiesto que los efectos del ozono dependen en gran medida de la intensidad de los tratamientos. Dosificaciones muy elevadas o muy

extendidas en el tiempo pueden provocar efectos contrarios a los buscados.

Se ha encontrado una única referencia de aplicación del O₃ para el tratamiento del agua utilizada en la elaboración de masas de panificación (Tarazona-Rodríguez et al. 2001). Los autores observaron que el agua ozonizada permitió acelerar el desarrollo de la masa durante el amasado debido a un aumento de la velocidad de absorción del agua. Además comprobaron que el ozono no interfirió en la actividad fermentativa de las levaduras, y que los panes resultantes presentaron un mayor volumen específico, y unas mejores dimensiones (mayor altura y menor longitud) que los panes testigo.

Este trabajo surge por iniciativa de una empresa panificadora con interés en valorar la posibilidad de introducir en sus procesos la aplicación de ozono al agua de las masas, con el fin de sustituir el uso de agentes oxidantes químicos. Así, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la ozonización del agua sobre las propiedades de masas de panificación y la calidad del pan de uno de los tipos de pan elaborados por la empresa.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Agua ozonizada. Se ozonizó el agua de red mediante el equipo de ozonización IberOzono ST 4G (IberOzono Caicedo de Camargo, España). Ingredientes de las masas: harina de trigo ($W = 182 \text{ J} \times 10^{-4}$, $P/L = 0,69$; 15 % humedad y 10,35 % contenido proteínas), agua de red (60 %), levadura (0,7 %), sal (2 %).

2.2. Diseño experimental

Primeramente se elaboró un diseño con un único factor de variación, la concentración de O₃ en el agua a añadir a la masa. Como resultado se definieron 6 tratamientos diferentes: control sin ozono y con mejorante (CM) que incluía ácido ascórbico como agente oxidante, control sin ozono ni mejorante (C), tratamientos con agua ozonizada a distintas concentraciones: Oz1 (0.47-0.48 ppm); Oz2 (0.64-0.68 ppm); Oz3 (0.89-0.91 ppm); Oz4 (> 2 ppm). En estos tratamientos todos los demás factores se mantuvieron constantes, incluido el tiempo de amasado (4 minutos amasado lento y 7 minutos de amasado rápido).

Posteriormente al comprobarse visualmente que el desarrollo de la masa durante el amasado se aceleraba en los tratamientos con ozono, se decidió realizar unos tratamientos adicionales modificando el, el tiempo de amasado. Se elaboraron 4 masas de 2 tratamientos: 2 masas (CM_b) de control sin ozono y con mejorante (ácido ascórbico más complejo enzimático) y 2 masas de con agua ozonizada a concentración una concentración de alrededor de 0.80 ppm (Oz3_b), sin ácido ascórbico y con complejo enzimático, en cuya elaboración se modificó el tiempo de amasado (4 minutos amasado lento y 5 minutos 30 segundos de amasado rápido).

2.3. Preparación de las masas y panes precocidos congelados.

Las elaboraciones se realizaron en la planta piloto de la empresa panificadora. Para cada condición experimental se realizaron dos elaboraciones. Y en cada una de ellas se obtuvieron 6 panes de formato barra estilo batard.

Para cada elaboración se prepararon 15 litros de agua ozonizada. Inmediatamente antes de elaborar cada masa se midió la concentración de ozono del agua empleando un fotómetro HI83200 (Hanna Instruments, Eibar) y el reactivo para análisis de ozono HI93757 (Hanna Instruments, Eibar).

El amasado se realizó en una amasadora de espiral. Se tomaron muestras de las masas para su análisis en el laboratorio de control de calidad de la empresa. Las masas se dividieron y bolearon plastones de 310 gr, para dar lugar en una formadora a barras estilo batard de 26 cm de largo. La fermentación tuvo lugar a 25 °C y 80

% humedad relativa durante 2 horas. La precocción se realizó en horno de convección Mini compact (Gashor, Zizurkil) durante 12 minutos a 170 °C con un baño de vapor inicial a 240°C. Se almacenaron las elaboraciones -20 °C hasta su análisis en la Universidad Pública de Navarra (UPNA).

Los panes precocidos congelados se hornearon en la UPNA en un horno de convección Self Cooking SCC61 (RATIONAL Ibérica Cooking Systems, Barcelona), siguiendo las instrucciones de la empresa. Se descongelaron los panes a temperatura ambiente durante 20 minutos, mientras que el horno se precalentaba. Tras esto, los panes fueron horneados a 200 °C durante 13 minutos en tandas de 6 panes. Posteriormente se dejaron enfriar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los panes se hornearon de manera aleatoria distribuidos en 2 bandejas, así se pretendía minimizar el efecto de las posiciones en el horno seco de convección. La única condición fue que hubiese por lo menos un pan de cada uno de los tratamientos a analizar en cada horneado.

2.4. Análisis de las masas en la empresa

Las masas se analizaron en el laboratorio de calidad de la empresa participante. Las propiedades alveográficas de las masas fueron analizadas con un Alveógrafo NG (Chopin Technologies, Francia) de acuerdo al método AACCI 54-30. A partir de los alveogramas se obtuvieron los parámetros tenacidad (P, mm), extensibilidad (L, mm), fuerza panadera (W, $\text{J} \times 10^{-4}$), relación de configuración de la curva (P/L), y el índice de elasticidad (Ie, %). Todas las medidas fueron realizadas por duplicado para cada tratamiento.

Las propiedades de la masa durante la fermentación se analizaron en Reofermentómetro F3 (Chopin Technologies, Francia) por medio método AACC 89-01. En la curva de desarrollo de la masa se determinó Hm (altura máxima de desarrollo de la masa, en mm). A partir de la curva de desprendimiento gaseoso se determinó H'm (altura máxima de desprendimiento gaseoso, mm), VT (volumen total de gas producido durante la fermentación, ml), VP (volumen de gas perdido, que la masa ha dejado escapar, ml), VR (volumen de gas retenido en la masa fermentada, ml) y RET (coeficiente de retención relación del volumen de retención con el volumen total).

2.5. Análisis del volumen y dimensiones de los panes

Tras el horneado, se determinaron una serie de características físicas. Se obtuvo el volumen a través de la medición del peso de las semillas de colza desplazadas de un recipiente de volumen y peso conocido la longitud de cada uno de los 36 panes horneados; la anchura y altura se determinó mediante un calibre, midiendo la parte central de cada pan.

2.6. Análisis de textura

Se analizaron parámetros de textura de los panes elaborados a las 0 horas (tras el horneado y enfriamiento de los panes) y a las 24h. De cada pan elaborado se cortaron con un cuchillo de pan 3 rebanadas de 20 mm. El análisis de perfil de textura (TPA) se realizó con el equipo TA-XTplus Texture Analyser (Stable Micro Systems, Surrey) con la sonda cilíndrica de 12,8 mm. La velocidad de preensayo y de ensayo fue de 2 mm/s y se aplica una distancia de deformación del 35% de la altura de la rebanada. Se realizaron 3 medidas en cada una de las rebanadas obtenidas. A partir de las curvas TPA se determinaron los parámetros: dureza (N), cohesividad, gomosidad (producto de la dureza y la cohesividad, N) y masticabilidad (producto de la gomosidad por la elasticidad, N).

2.7. Determinación del color de la corteza y de la miga de los panes

Se determinó el color de la corteza y de la miga utilizando como medida objetiva de color el espacio CIELABb, mediante un

espectrofotómetro Minolta CM-2500d. Para la corteza se realizaron 6 medidas en diferentes partes de la corteza de cada uno de los panes horneados. Para el color de la miga se realizaron 3 medidas en cada una de las caras de 3 rodajas de la parte central de cada pan elaborado.

2.8. Análisis de imagen del alveolado de la miga

Se analizaron imágenes (resolución 300 ppi tamaño de 100 x 100 mm) de 2 rodajas de cada pan escaneadas con el escáner Epsylon Stylus SX415 (Epson Ibérica, Cerdanyola del Vallés). Con el programa Fiji (Schindelin et al, 2012), previamente calibrado se analizaron las imágenes. A partir del centro de cada rodaja se obtuvo una imagen (40 x 40 mm). Se convirtió a 8 bit en escala de grises. Se ajustó el brillo y contraste a un valor de 70. Para binarizar la imagen se determinó un valor umbral de 110 con la utilización del algoritmo de Huang. De este modo los alvéolos se representan en negro y las paredes de los mismos en color blanco. Se analizó la imagen binarizada. Solo las zonas de la imagen de área superior al umbral $0,2 \text{ mm}^2$ se consideraron como alvéolos. Se cuantificaron el número de alvéolos, el área y la circularidad de los mismos en cada imagen obtenida.

2.9. Análisis estadístico.

Se realizó el tratamiento estadístico de los datos con el programa Statgraphics Centurion XVII, con el cual se realizaron los análisis de varianza (ANOVA) y de comparación múltiple, empleando el test de Bonferroni al 95% de confianza ($p < 0,05$), para determinar la existencia o no de diferencias significativas para cada parámetro analítico entre los tratamientos.

3. Resultados y discusión

En los apartados 3.1 a 3.5 se presentan y discuten los resultados obtenidos en las masas y panes correspondientes al diseño experimental inicial. En el punto 3.6 se realizan algunas consideraciones relativas a los ensayos adicionales realizados posteriormente al modificar el tiempo de amasado.

3.1. Parámetros analíticos de las masas

En la tabla 1 se presentan los resultados del ANOVA y análisis de comparación múltiple entre los tratamientos para los parámetros alveográficos (Tabla 1). Se observó que W de las masas del tratamiento Oz3 era significativamente mayor que en el resto de los tratamientos, mientras que es en la siguiente concentración (Oz4) cuando se observaron las masas con una menor fuerza. Estos resultados parecen coherentes con las referencias previas. La acción de los agentes oxidantes sobre las proteínas del trigo, promueven la creación de enlaces disulfuro, lo que hace que se cree una red entre estas, confiriendo a las masas un aumento de la W y P y una disminución de L (Violleau et al. 2012). Pero esta acción tendría lugar únicamente a dosis bajas o moderadas de ozono. Una sobreoxidación provocaría efectos contrarios (Shandu et al. 2011a, 2011b, Violleau et al., 2012).

Resulta curioso observar cómo el tratamiento CM (sin ozono y con ácido ascórbico) presentó una fuerza similar al tratamiento Oz4, y unos valores de P, L y P/L muy distintos al resto de tratamientos. Desde un punto de vista teórico la acción del ácido ascórbico en la masa favorecería la creación de enlaces entre las moléculas de gluten, dando como resultado un aumento de la fuerza y tenacidad. Y lo observado es más bien lo contrario. No obstante, atendiendo al índice de elasticidad se observa que el valor del tratamiento CM es muy superior a todos los demás. Esto significaría que si bien la tenacidad máxima de la masa CM es baja su caída en el tiempo es menos acusada que en el resto de tratamientos, lo que parece coherente con algunos resultados obtenidos al analizar los panes, que se comentan posteriormente.

Tabla 1. Parámetros alveográficos medios de las masas^a

Tratamiento	W ($\text{J} \times 10^4$)	P (mm)	L (mm)	P/L	Ie (%)
CM	199 ^{ab}	52 ^a	103 ^c	0,50 ^a	65,1 ^c
C	210 ^{ab}	73 ^{bc}	88 ^b	0,83 ^b	52,7 ^b
Oz1	213 ^{bc}	77 ^{bcd}	81 ^{ab}	0,9 ^{bc}	54,1 ^b
Oz2	210 ^{ab}	79 ^{bcd}	80 ^{ab}	0,99 ^{bc}	52,1 ^{ab}
Oz3	228 ^c	82 ^d	77 ^a	1,07 ^c	57,8 ^a
Oz4	194 ^a	72 ^{cd}	82 ^{ab}	0,88 ^b	51,3 ^{ab}

CM, masa control con mejorante; C, masa control sin mejorante, Oz1, Oz2, Oz3, Oz4; masas con agua ozonizada. W, fuerza panadera; P, tenacidad; L, extensibilidad; P/L, relación de equilibrio; Ie, índice de elasticidad. ^a Valores medios seguidos de letras distintas son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

A la vista de los datos obtenidos mediante el reofermentómetro, parece que la acción del agua ozonizada no provoca diferencias significativas respecto a las muestras control en los parámetros relativos al desprendimiento gaseoso. Los valores medios globales obtenidos para estos parámetros fueron: una altura máxima de desprendimiento gaseoso (H^*m) de $31,5 \pm 2,3 \text{ mm}$, un volumen total de CO_2 producido (VT) de $433 \pm 28 \text{ ml}$, un volumen de gas perdido (VP) de $1,7 \pm 0,7 \text{ ml}$, un volumen gas retenido en la masa fermentada (VR) de $431 \pm 28 \text{ ml}$, y por lo tanto un coeficiente de retención de gas (Ret) muy elevado de $99,6 \pm 0,2 \%$. Esto indicaría que la ozonización no parece afectar a la acción fermentativa de las levaduras (Tarazona-Rodríguez et al. 2001), ni tampoco a la capacidad de las masas para retener el gas durante la fermentación. Donde sí existieron diferencias fue en la altura máxima de desarrollo de la masa (Hm). Se observa que CM presentaba los valores más altos (aunque estadísticamente similares al tratamiento C y Oz2), mientras que el tratamiento a la dosis más elevada de ozono (Oz4) presentó el valor más bajo (Fig. 1). Estos resultados parecen correlacionarse bien con los observados posteriormente en algunos parámetros de los panes.

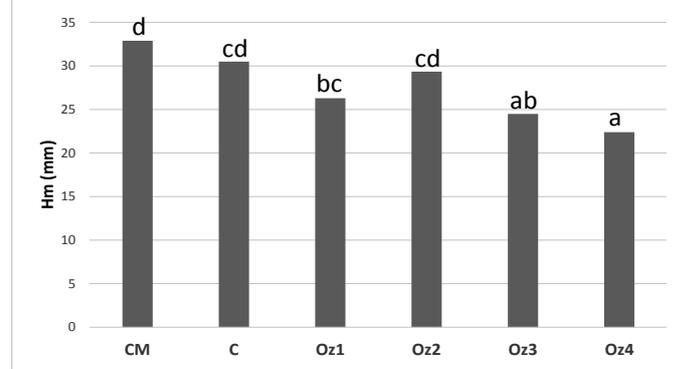


Figura 1. Valores medios de altura máxima de desarrollo de las masas (Hm) para cada tratamiento^a

CM, masa control con mejorante; C, masa control sin mejorante, Oz1, Oz2, Oz3, Oz4, masas con agua ozonizada. ^a Valores medios seguidos de letras distintas son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

3.2. Dimensiones de los panes

Se tomaron medidas de las dimensiones de todos los panes elaborados a partir de las masas elaboradas con los diferentes tratamientos. No se observaron diferencias significativas en cuanto al volumen, 963 ml de valor medio, y anchura, 92 mm, de los panes elaborados. Sí que se observaron diferencias significativas en cuanto a la forma de los panes, longitud y altura sobre todo (Fig. 2). Los panes CM muestran una longitud menor pero una mayor altura, mientras que los panes con la dosis más elevada de ozono (Oz4) son panes muy alargados y de menor altura que el resto de los panes. El resto de tratamientos (C, Oz1, Oz2, Oz3) forman un grupo homogéneo intermedio entre CM y Oz4. (Figura 2).

Los resultados indican por lo tanto que los panes CM mantienen mejor la forma durante los procesos de formación y cocción que el resto de formulaciones. Como se observó en los análisis

alveográficos, las masas de los tratamientos CM presentaron valores del índice de elasticidad (Ie) más elevados que los del resto de tratamientos y presentaban también una mayor altura máxima de desarrollo (Hm), lo que coincide con la capacidad de mantener una mayor altura que presentan los panes CM. Por el contrario, se observa que los panes elaborados con elevadas cantidades de ozono (Oz4) perdieron su forma de forma acusada extendiéndose en longitud y cayendo en altura, lo que parece ser también coherente con los bajos valores presentados en Ie y Hm. Algunos estudios anteriores muestran una pérdida de elasticidad en panes elaborados con agua ozonizada a alta concentración ozono debido a un exceso oxidativo de las proteínas de las masas (Tarazona-Rodríguez et al, 2001), así como una pérdida de volumen específico en panes elaborados con harinas sobre-ozonizadas (Sandhu et al. 2011a, 2011b). Una sobreexposición a la acción oxidativa del ozono provocaría la despolimerización de las proteínas (Berlett et al 1996, Violleau et al. 2012) y esto podría dar lugar a una pérdida de la capacidad de las masas para mantener la forma deseada del pan.

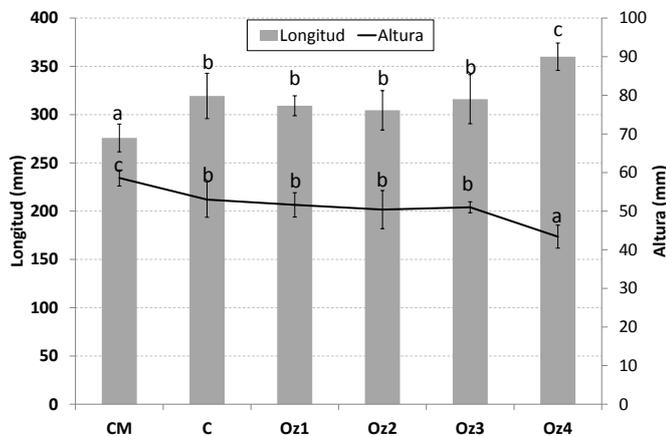


Figura 2. Longitud (a) y altura (b) de los panes para los diferentes tratamientos^a

CM, masa control con mejorante; C, masa control sin mejorante, Oz1, Oz2, Oz3, Oz4; masas con agua ozonizada. ^a Valores medios seguidos de letras distintas son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

3.3. Textura de los panes

Al estudiarse la textura a tiempo 0h de los panes elaborados, se observó los panes Oz4 presentaban una mayor dureza, mientras que los panes CM presentaban la menor dureza. El resto de tratamientos no presentaba diferencias, formando un grupo homogéneo (datos no mostrados).

El mismo resultado se observó en características texturales como la gomosidad y masticabilidad, mientras que no se observaron diferencias en cuanto a la cohesividad. Estos datos correlacionaban los datos comentados anteriormente para los tratamientos CM, en los que se observó que podría relacionar el índice de elasticidad y Hm con la capacidad de los panes para mantener una mayor altura y una longitud menor que la del resto de tratamientos. Estas características anteriormente observadas, podrían conferir a los panes una menor dureza, menor masticabilidad y gomosidad respecto al resto de tratamientos. En cambio, los panes obtenidos a partir de tratamientos con valores altos de ozono presentaban un perfil de textura con valores de dureza, masticabilidad y gomosidad más elevados, valores que correlacionarían con los bajos índices de elasticidad y Hm que presentaron las masas de estos tratamientos.

Los diferentes parámetros de textura de los panes se van modificando a medida que va transcurriendo el tiempo. Así, estudios previos mostraban que cuando son almacenados durante un periodo de tiempo determinado, se puede observar como la fuerza y la gomosidad, entre otros parámetros se ven incrementados, mientras que otros, como la cohesividad disminuyen en el mismo periodo (Crowley et al. 2002)

De esta manera, en el presente estudio, observamos que al transcurrir 24h de almacenamiento de los panes, efectivamente

aumentaba la fuerza, gomosidad y masticabilidad de los panes respecto a las 0h (Fig. 3), mientras que disminuía la cohesividad. Además, se pudo ver que los tratamientos con más ozono presentaban peores propiedades (Fig. 3), lo que podría indicar entonces que una ozonización elevada aceleraría el proceso de envejecimiento del pan. Este envejecimiento se debe en parte a la retrogradación de las cadenas de almidón, y este hecho podría verse acelerado por una posible despolimerización del almidón debido al ozono (Sandhu et al. 2011).

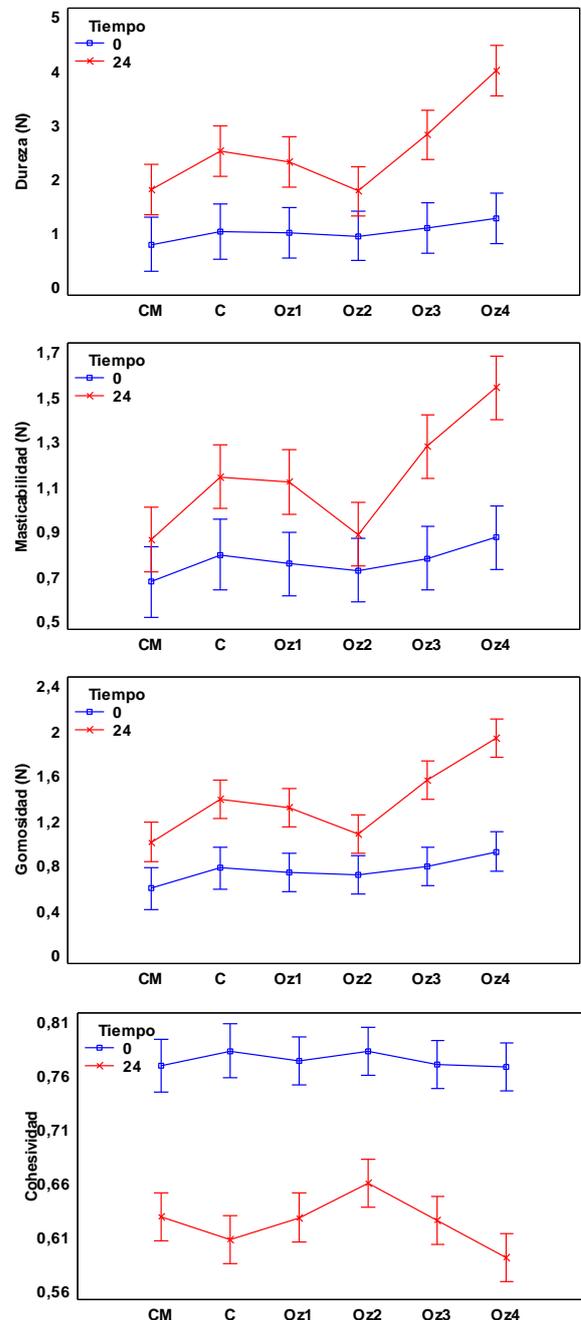


Figura 3. Gráficos de la interacción tratamiento x tiempo de medida para los parámetros de textura de los panes

CM, masa control con mejorante; C, masa control sin mejorante, Oz1, Oz2, Oz3, Oz4; masas con agua ozonizada.

3.4. Color de la miga y de la corteza.

Diferentes aplicaciones han mostrado anteriormente que el uso de gas de ozono sobre los granos de trigo y sobre la harina, ejerce un efecto blanqueante sobre la miga de los panes elaborados con las mismas debido a la oxidación de los carotenoides presentes en las masas (Violleau et al 2012, Sandhu et al 2011a, 2011b).

Tabla 2. Parámetros colorimétricos (CIELAB) medios de las migas.

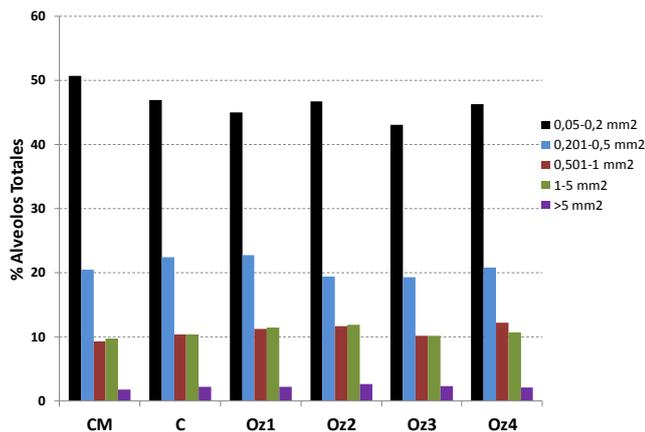
Tratamiento	L	a	b
CM	66,8 ^c	0,64 ^{bc}	14,5 ^{bc}
C	64,1 ^b	0,38 ^{ab}	13,4 ^a
Oz1	64,4 ^{ab}	0,35 ^a	13,0 ^a
Oz2	67,1 ^b	0,77 ^d	15,0 ^c
Oz3	65,9 ^{ab}	0,50 ^{a^{bc}}	13,4 ^a
Oz4	64,1 ^a	0,73 ^{cd}	13,7 ^{ab}

CM, masa control con mejorante; C, masa control sin mejorante, Oz1, Oz2, Oz3, Oz4; masas con agua ozonizada

El color de la miga es una característica que tiene como objetivo una mejor percepción o aceptación de los panes por parte de los consumidores. En este caso, la empresa señaló su interés que la pérdida de color en la miga de los panes fuera la menor posible, penalizando los panes de miga de color más blanco. Los valores del espacio CIELAB determinados para la miga de los diferentes tratamientos mostraba diferencias significativas en el color de la corteza y la miga de los panes respecto a los panes control, (Tabla 2). Así, las diferencias en los parámetros del espacio b, cuyos valores positivos indican color amarillo y negativos azules, mostraban que los tratamientos con ozono pierden levemente el color amarillo (despigmentación por oxidación), pero que esa pérdida puede llegar a decirse que es imperceptible.

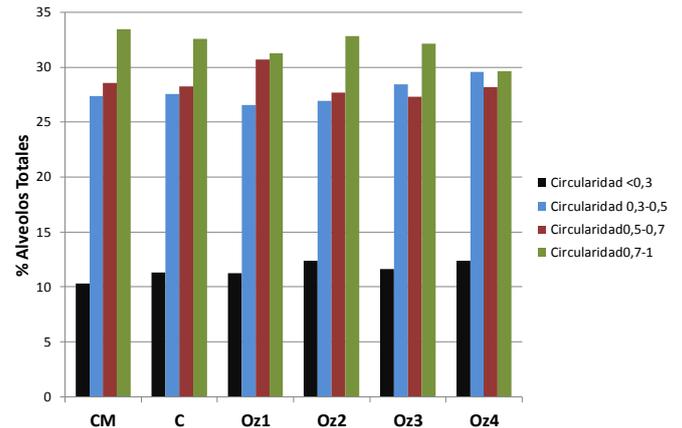
3.5. Apariencia del alveolado de la miga

Los alveolos se forman durante el proceso de expansión del gas (CO₂) en el interior de la miga durante la fermentación. El tamaño, diámetro y circularidad de los alveolos, son indicadores de la calidad de la elaboración, ya que muestran la capacidad de expansión y retención de la masa, dando lugar a panes esponjosos o a panes demasiado compactos y gomosos. También el número de alveolos se relaciona directamente con el volumen de los panes elaborados (Shandu *et al* 2011). El número medio de alveolos analizados no fue significativamente diferente entre los tratamientos, siendo el valor medio de 395 alveolos. Analizada la distribución de los alveolos según el área en mm² (Fig. 4), y de la circularidad (Fig. 5) en los diferentes tratamientos, no se observaron diferencias significativas entre ellos.

**Figura 4.** Distribución de los alveolos según su área en cada uno de los tratamientos

CM, masa control con mejorante; C, masa control sin mejorante, Oz1, Oz2, Oz3, Oz4; masas con agua ozonizada

Los alveolos no eran de un tamaño excesivamente grande que indique la formación de grandes burbujas de gas y que darían un aspecto poco homogéneo a la miga, lo mismo que la circularidad que a la vista de los resultados mostrados indican que todas las elaboraciones presentan una cierta homogeneidad en la forma de los alveolos generados.

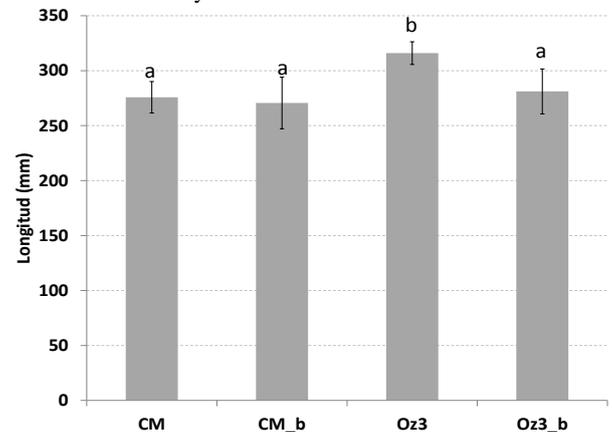
**Figura 5.** Distribución de los alveolos según su circularidad en cada uno de los tratamientos.

CM, masa control con mejorante; C, masa control sin mejorante, Oz1, Oz2, Oz3, Oz4; masas con agua ozonizada

3.6. Variación del tiempo de amasado

Como ya se indicó en el apartado de material y métodos durante los ensayos correspondientes al diseño experimental inicial, el personal del departamento de la empresa observó que el desarrollo de la masa parecía ser más rápido en las muestras ozonizadas que en los controles sin ozono. Por lo tanto, es posible que las masas ozonizadas hubieran sufrido un amasado excesivo con respecto a su óptimo de desarrollo.

Se decidió incluir el factor tiempo de amasado dentro de la ampliación del estudio, disminuyendo el tiempo de amasado. Se realizaron medidas de textura, dimensiones, color de la miga y tamaño de los alveolos de los panes elaborados en las instalaciones de la UPNA. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente junto con los datos que se obtuvieron en las elaboraciones anteriores de los tratamientos CM y Oz3.

**Figura 6.** Longitud de los panes CM, CM_b, Oz3 y Oz3_b

CM y CM_b, masas control con mejorante; Oz3 y Oz3_b, masas agua ozonizada (0,80 ppm) con amasado estándar y reducido, respectivamente.

Se observó que tanto los parámetros de longitud (Fig. 6) como de textura (Fig. 7) de los panes elaborados, el tratamiento Oz3_b se asemeja de manera significativa a los valores de los tratamientos control, tanto de CM como de CM_b, mientras que los valores obtenidos con los panes de los tratamientos Oz3 se diferencian significativamente.

El color de la miga fue analizado comparado con los tratamientos CM y Oz3. Se comprobó que el tratamiento Oz3_b se diferenciaba significativamente del resto de tratamientos y presentaba una miga menos amarilla aunque desde un punto de vista sensorial las diferencias no parecen relevantes.

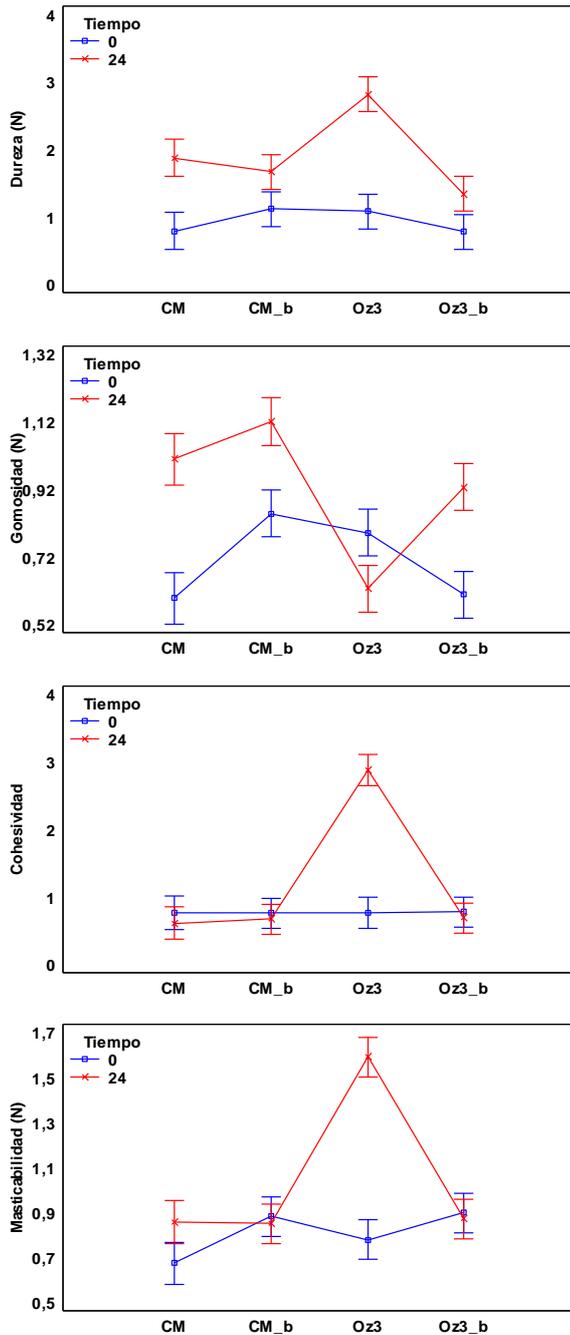


Figura 6. Gráficos de la interacción tratamiento x tiempo de medida para los parámetros de textura de los panes CM, CM_b, Oz3 y Oz3_b
 CM y CM_b, masas control con mejorante; Oz3 y Oz3_b, masas agua ozonizada (0.80 ppm) con amasado estándar y reducido, respectivamente.

Por lo tanto, la reducción del tiempo de amasado en el tratamiento Oz3_b dio lugar a panes con unas características similares tanto a CM como a CM_b, hecho que en el tratamiento Oz3 no se observaba, posiblemente debido al exceso de amasado al que fue sometido.

4. Conclusiones

A través de este estudio se ha analizado el efecto del agua ozonizada en las características de las masas y panes elaborados con diferentes concentraciones de ozono. Se ha observado que las

elevadas dosis de ozono, probablemente debido a sobreoxidación de las proteínas del gluten, provocan que en las masas disminuyan la altura máxima a la que llegan durante la fermentación y también su fuerza y tenacidad, lo que hace que los panes resultantes no sean capaces de mantener la forma deseada. Además los panes elaborados con dosis muy altas de ozono parecen sufrir un proceso de envejecimiento más rápido que lo deseable. En cambio, las dosis bajas y medias de ozono en los tratamientos, no provocaban tantas diferencias respecto al control. La firmeza o la fuerza del pan, su gomosidad y masticabilidad no se diferenciaban del tratamiento control aunque algunos parámetros importantes en el desarrollo de las masas como el índice de elasticidad y la altura de desarrollo se diferenciaban de manera significativa respecto a los controles. Estas diferencias, sin embargo, se vieron reducidas al disminuir el tiempo de amasado.; los panes elaborados con dosis medias de ozono y una disminución de su tiempo de amasado presentaban características que se asemejaban al tratamiento control.

A la vista de los resultados de este estudio, la utilización de agua ozonizada puede ser una alternativa real al uso de compuestos químicos oxidantes en el proceso de fabricación industrial. Para ello parece imprescindible ajustar con precisión la dosis de ozono aplicada, a concentraciones bajas o moderadas, así como la intensidad y el tiempo de amasado para que el desarrollo de la masa sea el adecuado.

Referencias

- AACCI Method 54-30.02. Alveograph Method for Soft and Hard Wheat Flour
- AACCI Method 89-01.01. Yeast Activity, Gas Production
- Berlett, B.S., Levine, R.L., Stadtman, E.R., 1996. Comparison of the effects of ozone on the modification of amino acid residues in glutamine synthetase and bovine serum albumin. *J Biol Chem* 271, 4177-4182.
- Crowley, P; Schober, TJ; Clarke CI; Arendt EK. The effect of storage time on textural and crumb grain characteristics of sourdough wheat bread. *Eur Food Res. Technol.* (2002) 214:489-496
- Bloksma AH. 1972. The relation between the thiol and disulfide contents of dough and its rheological properties. *Cereal Chem.* (49):104-118.
- Hunter Associates Laboratory, Inc (2008). Measuring color using Hunter L, a, b versus CIE 1976 L*a*b* <http://www.hunterlab.com/an-1005b.pdf>. (09.09.2015)
- Greenwell, P. and Brock, C. J. 1996. Modified flour. Patent US 5560953.
- Sandhu, HPS; Manthey, FA; Simsek, S. 2011. Quality of bread made from ozonated wheat (*Triticum aestivum* L.) flour. *J. Sci. Food Agric.* (91) 1576-84.
- Sandhu, H.P.S., Manthey, F.A., Simsek, S., Ohm, J.-B., 2011b. Comparison between potassium bromate and ozone as flour oxidants in breadmaking. *Cereal Chem.* (88), 103-108.
- Schindelin, J.; Arganda-Carreras, I. & Frise, E., 2012. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat. Methods.* 9(7): 676-682
- Tarazona-Rodríguez, G; Ramos Villagarcía, C; González Barrón, U. 2001. Determinación de la influencia del agua ozonizada en masas de panificación. *Anales científicos de la Universidad Nacional Agraria de la Molina.* <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/123456789/709> (25.08.2015)
- Violleau, F; Pernot, AG; Surel, O. 2012. Effect of Oxygreen wheat ozonation process on bread dough quality and protein solubility. *J Cereal Sci* (55) 392-96.