

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO



Instituto de Ciencias de la Salud
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
Instituto de Ciencias Agropecuarias

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD HUMANA

TESIS DOCTORAL

**USO DE HARINA DE PAPA ROJA (*Oxalis tuberosa*) EN LA
ELABORACIÓN DE PAN TIPO DANÉS (CROISSANT), CON ACTIVIDAD
FUNCIONAL, REDUCIDO EN GRASA SATURADA LIBRE DE GLUTEN**

Para obtener el título de
Doctor en Ciencia de los Alimentos y Salud Humana

P R E S E N T A

M. en C. Salvador Omar Espino Manzano

Directora:
Dra. Norma Güemes Vera

San Agustín, Tlaxiaca, Hgo., Enero 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD HUMANA

ICSa-DCASH-Acta-Tit-1/2018
Asunto: Asignación de Jurado de Examen

M. en A. JULIO CESAR LEINES MEDÉCIGO
COORDINACIÓN DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR

Por este medio se informa que el comité tutorial asignado al M. en C. Salvador Omar Espino Manzano, estudiante del Doctorado en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana dio seguimiento al trabajo de tesis titulado "Uso de harina de papa roja (*Oxalis tuberosa*) en la elaboración de pan tipo danés (croissant), con actividad funcional, reducido en grasa saturada libre de gluten", y por lo tanto se autoriza la impresión del documento de tesis en extenso propuesto por el estudiante.

Lo anterior, en función de que, el estudiante realizó todas las correcciones, adiciones y/o modificaciones sugeridas por el comité en la revisión previa con fecha 15 de noviembre 2018.

Por tal motivo, solicito a usted tenga a bien permitir al doctorando dar continuidad al proceso necesario que conlleve a la obtención del grado de Doctor en Ciencias de los Alimentos y Salud Humana.

DRA. NORMA GÜEMES VERA
Director de tesis

DRA. ARACELI CASTAÑEDA OVANDO

DR. ERNESTO ALANIS GARCÍA

DR. JAVIER PILONI MARTINI

ATENTAMENTE
Pachuca, Hidalgo, 14 de diciembre del 2018
"Amor, Orden y Progreso"

M.C. Esp. Adrían Moya Escalera
Director del Instituto de Ciencias de la Salud
Dean

M. en N.C Arianna Omaña Covarrubias
Jefa del Área Académica de Nutrición
Chair of Academic Area of Nutrition

Dra. Lydia López Pontigo
Coordinadora de Posgrado del ICSa
Director of Graduate Studies of ICSa

Dra. Esther Ramirez Moreno
Coordinadora del Programa Educativo
Director of Graduate Studies

*Tienes tres opciones en la vida:
Ser bueno, hacerte bueno o darte por vencido.*

Dr. House

Agradecimientos

En la trayectoria de este camino llamado vida, nos encontramos con un sin número de personas. Vamos marcando etapas, tiempos, metas. Nos enfrentamos a varias encrucijadas en las cuáles nos vemos forzados a tomar una decisión, que puede ser acertada o errónea, viéndose alimentada por pequeñas corazonadas, ideas y pensamientos; que bien son semillas que pueden germinar para formar nuestro destino.

En esta etapa de mi vida, consigo un logro más. Y siendo sincero me quedaría corto al no tener espacio incluirlos a todos. Sin embargo, me es permitido incluir en este trabajo un pequeño apartado para agradecer a todas las personas e instituciones que hicieron posible la culminación de mi grado.

Hace no mucho, en un periodo situado entre noviembre y diciembre de 2018, sólo tenía un boceto de todo por lo que quiero estar agradecido. Pero una serie de acontecimientos dieron lucidez a mis ideas y pensamientos, e hicieron darme cuenta de lo invaluable que son muchas personas para mí.

Primeramente quiero agradecer a mi alma mater, la UAEH, donde he forjado mi trayectoria académica y profesional a lo largo de estos años. En ella tuve la oportunidad de conocer y convivir con mi directora de tesis, la Dra. Norma Güemes Vera, gracias por ser mi mentor, desde el inicio de esta aventura, que es el posgrado. A su vez, agradezco a todos los integrantes mi comité tutorial (Dra. Araceli Castañeda Ovando, Dr. Javier Piloni Martini, Dr. Ernesto Alanís García) por sus consejos y críticas constructivas para que este trabajo fuera de calidad. Sumados a ellos también al Dr. Jorge Chanona Pérez del IPN y la Dra. Aurea Bernardino Nicanor del Tecnológico de Celaya, son uno de los pilares en el cual esta cimentado este trabajo.

Doy gracias por mi familia, y tener la fortuna de convivir con cada uno de ellos. Cada uno tiene un lugar y un rol específico en mí. Y sé que estarán leyendo estas líneas donde les comparto cuan agradecido estoy con ustedes desde el principio.

Mamá, me has ayudado y apoyado siempre. A pesar de mis ideas locas y repentinas. Has procurado estar al tanto de mí, exigiéndome, educándome y sin ti no sería lo que soy hoy en día.

Papá, eres mi ejemplo, en muchos sentidos; de ti sigo el ejemplo de ser buen padre, buen hijo, buen maestro. Porque si de acuerdo a tu filosofía, “de que te sirve hacerlo, si no lo vas a hacer bien”. Agradezco que seas tú, y tu personalidad única. A pesar de expresar pocas palabras, con tus acciones siempre nos has dicho cuanto nos quieres.

Pata, mi hermana, te quiero mucho. Sé que siempre puedo contar contigo y agradezco que mantengas esas ideologías que tita te ha heredado.

Tita, tengo tanto que agradecerte, que no me alcanzan las palabras para abarcarlo todo. Pero si tuviera que resumirlo en unas líneas, agradecería sobre todo, que tuve la oportunidad de crecer bajo tu tutela. Admirar ese amor por la cocina que soló tu trasmites, ese espíritu inagotable, y esa voluntad inquebrantable sobre todo en las situaciones más difíciles. Tita, gracias por darme cobijo cuando estuve desprotegido y tender su mano siempre que la necesito.

Tío Juanito, tu junto con Tita han sido el pilar de esta familia, gracias por velar por todos nosotros, dándonos guía y consejo. Eres y has sido nuestro padre y a ti debemos parte de quien somos. Tu amor incondicional nos ha dado dicha siempre. Gracias.

Mitla y Karly, hijas mías, agradezco que formen parte de mí, y poder ser un ejemplo para ustedes. Son la nueva generación que debe conservar el legado que nos han heredado. Dense cuenta que esta familia está fundamentada en el amor, la unidad y el apoyo. Deben saber que no importa la situación que pase o donde estén, aquí está su familia para apoyarlas siempre. Las amo mis pequeñas.

Agradezco también a mis amigos y colegas, Toño, Mac, Geral, por compartir la travesía del posgrado a su lado y en un futuro poder compartir y colaborar juntos. Si bien, no nos tocó compartir la misma generación o programa, esa diversidad ha hecho factible que nuestra amistad sea única. Gracias por su apoyo y esas horas infinitas de risas, pláticas y sobre todo de ciencia.

Es importante mencionar a estos seres llenos de luz (Bola, Kudy, Lobillo y ... Bosito), por ser una compañía llena de serenidad, alegría y lealtad, siendo mis vigías permanentes. Ya que ellos sólo dan, sin pedir nada a cambio. Su lealtad es sinceramente admirable.

Y finalmente....

*De manera muy especial quiero agradecerte a ti, **Katya Verde**, amor mío. Gracias por estar conmigo desde el principio. Dándome luz, amor, cariño y fuerza, guiando mis pasos para ser una mejor persona cada día. A lo largo de este tiempo, hemos aprendido a convivir, crecer y estar al pendiente el uno de otro. Contigo tengo mi hogar, el lugar a donde quiero llegar siempre que la jornada llegó a su fin. Eres una persona muy importante para mí, y nunca estará demás decirte que eres increíble. Admiro y valoro que no mires atrás por prejuicios ajenos a ti, y mires adelante conmigo, tomados de la mano. Quiero que sigamos construyendo nuestro presente y futuro. Siendo solo nosotros dos, o tres o cuatro, tú me entiendes. **Te amo**. Gracias por llegar a mi vida.*

Índice general

Índice de figuras	X
Índice de tablas	XI
Resumen	XIII
<i>Abstract</i>	XV
I. Introducción	1
II. Antecedentes y objetivos	4
2.1 Enfermedad celiaca.....	5
2.2 Alimentación para celíacos.....	8
2.3 Pan libre de gluten	9
2.4 Calidad nutricional de pan libre de gluten	10
2.5 Fuentes alternas para la elaboración de pan libre de gluten: papa roja (<i>Oxalis tuberosa</i>).....	13
III. Justificación	16
IV. Objetivos	17
4.1 General	17
4.2 Específicos.....	17
V. Materiales y métodos.....	18
5.1 Elaboración de harina de papa roja (<i>Oxalis tuberosa</i>)	19
5.2 Análisis químico proximal de harina de papa roja (<i>Oxalis tuberosa</i>).....	19
5.3 Formulación de pan tipo danés (croissant) utilizada como estándar.....	19
5.4 Formulación de pan tipo danés (croissant) utilizada en el diseño experimental	21
5.5 Proceso de elaboración de pan tipo danés (croissant)	21
5.6 Análisis en materia prima y masa	22
5.6.1 Análisis de perfil de textura para materia prima y masa	22
5.6.2 Extensibilidad de la materia prima y masa.....	22
5.7 Análisis de calidad del pan.....	22
5.7.1 Análisis de perfil de textura del pan	22
5.7.2 Volumen específico y pérdida de peso por horneado	22
5.7.3 Color de miga y corteza del pan	23
5.7.4 Estructura de la miga	23
5.7.5 Dimensión fractal de la textura de la corteza	24

5.8 Evaluación sensorial	24
5.9 Características nutricionales y capacidad antioxidante del pan	25
5.9.1 Análisis químico proximal	25
5.9.2 Digestibilidad del almidón <i>in vitro</i>	25
5.9.3 Contenido de fenoles totales y evaluación de la capacidad antioxidante (% de inhibición del radical DDPH).....	25
5.10 Respuesta glucémica <i>in vivo</i>	26
5.11 Determinación de ácidos grasos	28
5.12 Diseño experimental (ortogonal de Taguchi)	29
5.13 Análisis estadístico.....	31
VI. Resultados y discusiones	33
6.1 Análisis químico proximal de harina de papa roja (<i>Oxalis tuberosa</i>).....	34
6.2 Análisis de perfil de textura y extensibilidad de la materia prima	34
6.3 Análisis de perfil de textura y extensibilidad de la masa del estándar.....	38
6.4 Análisis de perfil de textura y contenido de grasa del pan del estándar.....	39
6.5 Relación entre los parámetros del análisis de perfil de textura en masas y pan.....	43
6.6 Volumen específico y pérdida de peso por horneado del estándar	45
6.7 Color de miga y corteza del estándar.....	46
6.8 Estructura de la miga del estándar.....	48
6.9 Diseño ortogonal de Taguchi y obtención de la formulación óptima	52
6.9.1 Análisis de varianza y cálculo de los porcentajes de contribución.....	57
6.9.2 Obtención de las formulaciones óptimas	58
6.9.3 Predicción y comprobación de resultados	60
6.10 Análisis de calidad del pan.....	63
6.11 Características nutricionales y actividad antioxidante del pan	70
6.12 Evaluación sensorial	73
6.13 Respuesta glucémica	74
6.14 Perfil de ácidos grasos.....	77
VII. Conclusiones	82
VIII. Referencias	84
ANEXOS	94

Índice de figuras

Figura. 1 Biopsia endoscópica de intestino delgado.....	6
Figura. 2 Esquema de la patogénesis de la celiaquía	7
Figura. 3 Papa roja en el tianguis del municipio de Acaxochitlán Hgo, México	14
Figura. 4 Variedades de <i>Oxalis tuberosa</i>	14
Figura 5. Relación del parámetro de dureza (N) de masa-pan.....	43
Figura 6. Relación del parámetro de cohesividad de masa-pan.....	44
Figura 7. Relación del parámetro de elasticidad de masa-pan.....	45
Figura 8. Color de la miga y corteza de los tratamientos que corresponde al sistema L*a*b*	47
Figura 9. Imágenes de la miga en color, escala de grises y visualización con el algoritmo de Otsu de los tratamientos.	51
Figura 10. Gráficos de las variables de respuesta de los factores del diseño ortogonal de Taguchi.....	59
Figura 11. Imágenes en escala de grises 40X40 mm de la estructura de los tratamientos	68
Figura 12. Dimensión fractal de la textura de la corteza.....	69
Figura 13. Evaluación sensorial del pan.....	73
Figura. 14 Curva de la respuesta glucémica del ensayo <i>in vivo</i>	75

Índice de tablas

Tabla 1. Fuentes alternas al trigo para elaboración de productos de panificación libres de gluten	10
Tabla 2. Enfermedades relacionadas con el continuo consumo de alimentos con IG alto.....	12
Tabla 3. Composición químico proximal de la papa roja (<i>Oxalis tuberosa</i>).....	15
Tabla 4. Formulaciones para pan tipo danés	20
Tabla 5. Factores, niveles y códigos del diseño experimental Taguchi L ₁₆ (2x5).....	30
Tabla 6. Diseño ortogonal de Taguchi de arreglo L ₁₆ (2x5)	31
Tabla 7. Análisis químico proximal de harina de papa roja (<i>Oxalis tuberosa</i>) y otros tubérculos.....	35
Tabla 8. Análisis de perfil de textura y extensibilidad de la materia prima	37
Tabla 9. Análisis de perfil de textura y extensibilidad de masas para pan tipo danés (croissant).....	40
Tabla 10. Análisis de perfil de textura y contenido de grasa de pan tipo danés (croissant)	42
Tabla 11. Volumen específico y pérdida de peso por horneado de pan tipo danés (croissant)	46

Tabla 12. Color de la miga y la corteza de pan tipo danés (croissant).....	47
Tabla 13. Estructura de la miga de pan tipo danés (croissant)	50
Tabla 14. Tratamientos del diseño experimental y los resultados de las variables de respuesta del diseño ortogonal de Taguchi L ₁₆ (2x5).....	56
Tabla 15. Niveles de significancia y porcentajes de contribución obtenidos del ANOVA de los factores	57
Tabla 16. Obtención de las formulaciones óptimas de acuerdo al diseño ortogonal de Taguchi L ₁₆ (2x5)	58
Tabla 17. Formulaciones óptimas de la harina compuesta libre de gluten en base al diseño ortogonal de Taguchi L ₁₆ (2X5).....	60
Tabla 18. Predicción y comprobación de resultados de las formulaciones optimas del diseño ortogonal de Taguchi L ₁₆ (2X5)	62
Tabla 19. Evaluación de textura, física y estructura de pan tipo danés (croissant) libre de gluten	64
Tabla 20. Valor nutricional y actividad antioxidante de pan tipo danés (croissant) libre de gluten	72
Tabla 21. Índice glucémico y carga glucémica de los tratamientos.....	76
Tabla 22. Perfil de ácidos grasos (mg/100 g) de los tratamientos	79

Resumen

En la actualidad, la creciente demanda de productos libres de gluten ha creado la necesidad de formular alimentos libres de gluten que cubran con las características de sus homólogos elaborados con trigo. Han sido buscadas distintas fuentes para la elaboración de productos de panificación libres de gluten, donde es importante mantener aspectos de calidad sensorial y nutricional del producto. El objetivo de esta investigación fue utilizar la papa roja (*Oxalis tuberosa*) en una harina compuesta, para la elaboración de pan tipo danés (croissant) libre de gluten, con la finalidad de incrementar su calidad y valor nutricional, además de evaluar su posible efecto funcional. En primer lugar, se llevó a cabo una investigación documental que permitiera brindar fundamentos para el estudio; y con base en esto, fue realizado el planteamiento de los objetivos. Después se caracterizó la materia prima mediante técnicas fisicoquímicas y reológicas para establecer la formulación del producto estándar que sería utilizado como control durante el desarrollo de la investigación. Más adelante fue planteado el diseño experimental para lograr la optimización de las formulaciones del producto, mediante un diseño ortogonal de Taguchi, tomando como variables de respuesta los resultados del análisis de perfil de textura, que permitieron establecer el contenido de harina de papa roja en la harina compuesta libre de gluten. Una vez obtenidas las formulaciones óptimas (OP1 y OP2) el estudio consistió en realizar un análisis de la calidad del producto (tecnológico y nutricional), donde se evaluaron aspectos como calidad de miga, textura, digestibilidad del almidón *in vitro* y capacidad antioxidante. También fue realizada la evaluación sensorial del producto a nivel de agrado general (con el uso de una escala hedónica) y otros aspectos sensoriales, los resultados mostraron que el uso de harina de papa roja mejora la de calidad del producto, mejorando la textura y las características sensoriales, además de incrementar la calidad nutricional al disminuir el contenido de grasa y aumento de almidón de lenta digestión. Finalmente, se evaluó la respuesta glucémica y el perfil de ácidos grasos del

producto con la finalidad de profundizar en sus características nutricionales y analizar el posible efecto funcional del producto, mostrando que el uso de harina de papa roja en la elaboración de pan tipo danés (croissant) libre de gluten mantiene una respuesta glucémica más estable y reduce el índice glucémico. De acuerdo al perfil de lípidos se observó que fue reducido el contenido de grasa saturada y se mejora el balance de ácidos grasos $\omega 6/\omega 3$. En conclusión se demostró que el uso de harina de papa roja mejora la calidad y características sensoriales del pan danés libre de gluten. Además de aumenta el aporte nutricional del producto, incrementado el contenido de almidón de lenta digestión y almidón resistente; reflejado en la respuesta glucémica. También fortalece el potencial funcional del alimento al incrementar la capacidad antioxidante. Por otra parte, el uso de un sustituto de grasa redujo el contenido de ácidos grasos saturados y a la vez mejora el balance de ácidos grasos poliinsaturados ($\omega 6/\omega 3$) del pan.

Abstract

Currently, the growing demand for gluten-free products has created the need to formulate gluten-free foods that meet the characteristics of their counterparts made with wheat. Different sources have been sought for the preparation of gluten-free bread products, where it is important to maintain aspects of sensory and nutritional quality of the product. The aim of this research was to use the red potato (*Oxalis tuberosa*) in composite flour, for bread type Danish (croissant) gluten-free, in order to increase its quality and nutritional value, in addition to assessing its possible functional effect. In the first place, a research review was carried out that allowed providing foundations for the study; and based on this; the statement of objectives was made. Then the raw material was characterized by physicochemical and rheological techniques to establish the formulation of the standard product that would be used as control during the development of the research. Later on, the experimental design was proposed to achieve the optimization of the product formulations, by means of an orthogonal Taguchi design, taking as response variables the results of the texture profile analysis. This allowed establishing the content of red potato flour, for the gluten-free compound flour. Once the optimal formulations (OP1 and OP2) were obtained, the study consisted of an analysis of the product quality (technological and nutritional), where aspects such as crumb quality, texture, *in vitro* starch digestibility and antioxidant capacity were evaluated. The sensory evaluation of the product was also carried out at the level of general liking (with the use of a hedonic scale) and other sensory aspects, the results showed that the use of red potato flour improves the quality of the product, improving the texture and sensory characteristics, in addition to increasing the nutritional quality by decreasing the content of fat and increasing the slowly-digesting starch content. Finally, the glycemic response and the fatty acid profile of the product were evaluated in order to deepen their nutritional characteristics and analyze the possible functional effect of the product, showing that the use of red potato flour in the preparation of Danish-type bread (croissant) gluten-free

maintains a more stable glycemic response and reduces the glycemic index. According to the lipid profile, it was observed that the saturated fat content was reduced and the $\omega 6/\omega 3$ fatty acid balance was improved. In conclusion, it was demonstrated that the use of red potato flour improves the quality and sensory characteristics of Danish gluten-free bread. In addition to increasing the nutritional contribution of the product, increased the content of slowly-digesting starch and resistant starch; reflected in the glycemic response. It also strengthens the functional potential of the food by increasing the antioxidant capacity. On the other hand, the use of a fat substitute reduced the content of saturated fatty acids and at the same time improves the balance of polyunsaturated fatty acids ($\omega 6/\omega 3$) of bread.

I. Introducción

En la actualidad, la celiaquía ha trascendido como tema de estudio para la ciencia y tecnología de alimentos. La prevalencia de la enfermedad va en aumento, donde, teniendo en cuenta las diferencias naturales que existen entre las regiones, los estudios epidemiológicos internacionales muestran que alrededor de un 2% de la población global sufre de enfermedad celíaca y que el fenómeno se ha duplicado en los últimos 25 años, especialmente en niños (Catassi *et al.* 2014). En México, un estudio realizado por el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), en 2008, muestra que la prevalencia oscila entre el 2.6 y 4.3% de acuerdo a los perfiles serológicos, en los que fueron encontrados pacientes con niveles anormales de IgA-antitransglutaminasa (Aguilar, 2011).

La enfermedad celiaca o celiaquía es un problema del sistema inmune que afecta principalmente las vellosidades del intestino delgado y es provocada por una intolerancia permanente al gluten; afectando a personas con predisposición genética. El único tratamiento que existe para esta enfermedad es la restricción del gluten de la dieta, por lo que productos de consumo popular elaborados con trigo como pan, pasteles, galletas, entre otros son excluidos (Olvera-Obregón *et al.*, 2012). El pan con el tiempo se ha convertido en la base de alimentación en países europeos y América Latina, donde, México es el cuarto consumidor con 34kg de pan *per cápita* según datos de la Cámara Nacional de la Industria de la Panificación (CANAIMPA, 2014), siendo el pan dulce altamente consumido en el desayuno y la merienda.

Este tipo de pan tiene diversas variedades de acuerdo al tipo de masa y proceso de elaboración, donde los ingredientes principales son harina, azúcar y grasa. Por lo que su consumo es limitado, sobre todo a personas susceptibles al síndrome metabólico (Barbosa-Ríos *et al.*, 2018). Parte de la variedad del pan dulce es elaborado con masa danesa. Su elaboración consiste en una masa dulce fermentada con levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), a la cual se incorpora materia grasa por medio de un proceso de laminado, similar a la masa hojaldrada

(feité) (Baardseth *et al.*, 1995). Los cuernitos o croissants son un producto de gran popularidad elaborados con masa danesa, sin embargo, el contenido de grasa que contiene es del 26% (Deligny & Lucas, 2015).

En la actualidad, la tecnología de alimentos ofrece alternativas para la sustitución de grasa por medio de combinación de grasas vegetales o el uso de hidrocoloides, sin restar importancia a las características que la materia grasa otorga a este tipo de productos. La materia grasa promueve la aireación del producto, lubricación durante el amasado y mejora las propiedades de textura (Rios *et al.*, 2014). Sin embargo, es altamente conocido el serio problema que representa para la salud pública el sobrepeso y la obesidad.

El alto consumo de grasas en la dieta de la población son un factor que debe puede ser modificado para no privar a los consumidores de ciertos productos. La cantidad y tipo de grasa son de importancia para la etiología de muchas enfermedades crónicas (Santos & Salas-Mellado, 2017). Por lo que, se busca un producto reducido en grasa en la elaboración de pan tipo danés, conservando las características sensoriales del producto como son una corteza de textura ligeramente crujiente y una miga suave y esponjosa.

Por otra parte, para la elaboración de pan, el trigo juega un rol muy importante debido a las propiedades fisico-químicas que el gluten otorga a la masa, como lo son: elasticidad, extensibilidad y retención de CO₂ (Mariotti *et al.*, 2013); dando como resultado un producto con volumen, buena calidad en la estructura, además de sabor y olor característico (Poutanen *et al.*, 2009).

La elaboración de productos de panificación libres de gluten tiene como reto principal, igualar las características tecnológicas y sensoriales del pan con trigo. Deben utilizarse aditivos alimentarios tales como la carboximetilcelulosa (CMC) o la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) que son hidrocoloides que imitan las propiedades fisico-químicas del gluten ayudando a la obtención de una masa cohesiva y elástica, a la retención de CO₂ y a dar estructura estable a la miga (Cappa *et al.*, 2013; Matos *et al.*, 2013; Ziobro *et al.*, 2013; Demirkesen *et al.*,

2014; Mohammadi *et al.*, 2014; Buresova *et al.*, 2016; Mir *et al.*, 2016). Para cubrir la demanda de productos de panificación libres de gluten, son empleadas harinas y/o féculas provenientes de algunos cereales (maíz, arroz), pseudocereales (amaranto), semillas (quínoa, chía), leguminosas (soya, chícharo) y tubérculos (papa, yuca), que por sí mismos tienen algunas propiedades funcionales como prebióticos, alimentos con capacidad antioxidante o propiedades hipoglucémicas (Schober *et al.*, 2008; Renzetti *et al.*, 2008; Moroni *et al.*, 2009; Onyango *et al.*, 2011; Sakac *et al.*, 2011; Matos, 2012; Cappa *et al.*, 2013; Dermirkesen *et al.*, 2014).

Algunos tubérculos no convencionales como la papa roja (*Oxalis tuberosa*), originaria de los Andes, pueden ser utilizadas como materia prima para la elaboración de pan libre de gluten. La papa roja relegada al autoconsumo y producción a pequeña escala. Es una fuente rica en almidones, contiene zinc, vitamina B₁₂, vitamina C, fibra dietética y compuestos antioxidantes; además de ser un alimento de bajo índice calórico que aporta solo 30 kcal/100gr (Barrera *et al.* 2004; León *et al.*, 2011).

Estudios han mostrado que la papa roja al ser un tubérculo pigmentado tiene capacidad antioxidante, siendo identificados compuestos bioactivos como ácido vanílico, ácido caféico y antocianinas, por lo que se espera que al utilizarse en productos de panificación libres de gluten, la adición de papa roja otorgue capacidad antioxidante al producto (Chirinos *et al.*, 2009). Por consiguiente, el objetivo de esta investigación fue utilizar la papa roja (*Oxalis tuberosa*) en una harina compuesta, para la elaboración de pan tipo danés (croissant) libre de gluten, con la finalidad de incrementar su calidad y valor nutricional, además de evaluar su posible efecto funcional.

II. Antecedentes y objetivos

2.1 Enfermedad celiaca

La Organización Mundial de Gastroenterología (WGO por sus siglas en inglés) define a la enfermedad celiaca o celiaquía como un problema del sistema inmune que afecta principalmente las vellosidades del intestino delgado, provocada por una intolerancia permanente al gluten que afecta a personas con una predisposición genética (WGO, 2012).

El gluten es un complejo proteico compuesto de gliadina y glutenina, que una vez hidratadas y tratadas mecánicamente, otorgan las propiedades fisico-químicas a la masa elaborada con trigo para obtener un producto con baja densidad y características aceptables para el consumidor (Marchetti *et al.*, 2012). Por otra parte, el gluten tiene algunas desventajas sobre todo en el aporte nutrimental que contiene. Este complejo proteico de bajo valor nutricional que es particularmente difícil de digerir por el organismo, tiene un bajo contenido de aminoácidos esenciales (lisina y treonina), por lo que desde el punto de vista de la nutrición su exclusión de la alimentación no significa ningún problema (Reilly *et al.*, 2016). En la actualidad, la prevalencia de la enfermedad celiaca va en aumento (Catassi *et al.*, 2014). Teniendo en cuenta las diferencias naturales que existen entre las regiones, los estudios epidemiológicos internacionales muestran que alrededor de 150 millones de personas (representa el 2% de la población mundial) padecen de enfermedad celíaca, duplicándose en los últimos 25 años, especialmente en niños.

En México, un estudio realizado por el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), en 2008, muestra que la prevalencia oscila entre el 2.6 y 4.3% de acuerdo a los perfiles serológicos, en los que se encontraron pacientes con niveles anormales de IgA-antitransglutaminasa (Aguilar, 2011).

La enfermedad requiere de dos componentes principales: la exposición al gluten de trigo (o algunas fracciones proteicas de cebada, centeno y avena) concentrado en los alimentos y la susceptibilidad genética que provoca una reacción anormal que daña al propio intestino (Fig. 1), ocasionando falta de absorción de los nutrientes y malestar frecuente (Wagner *et al.*, 2016).

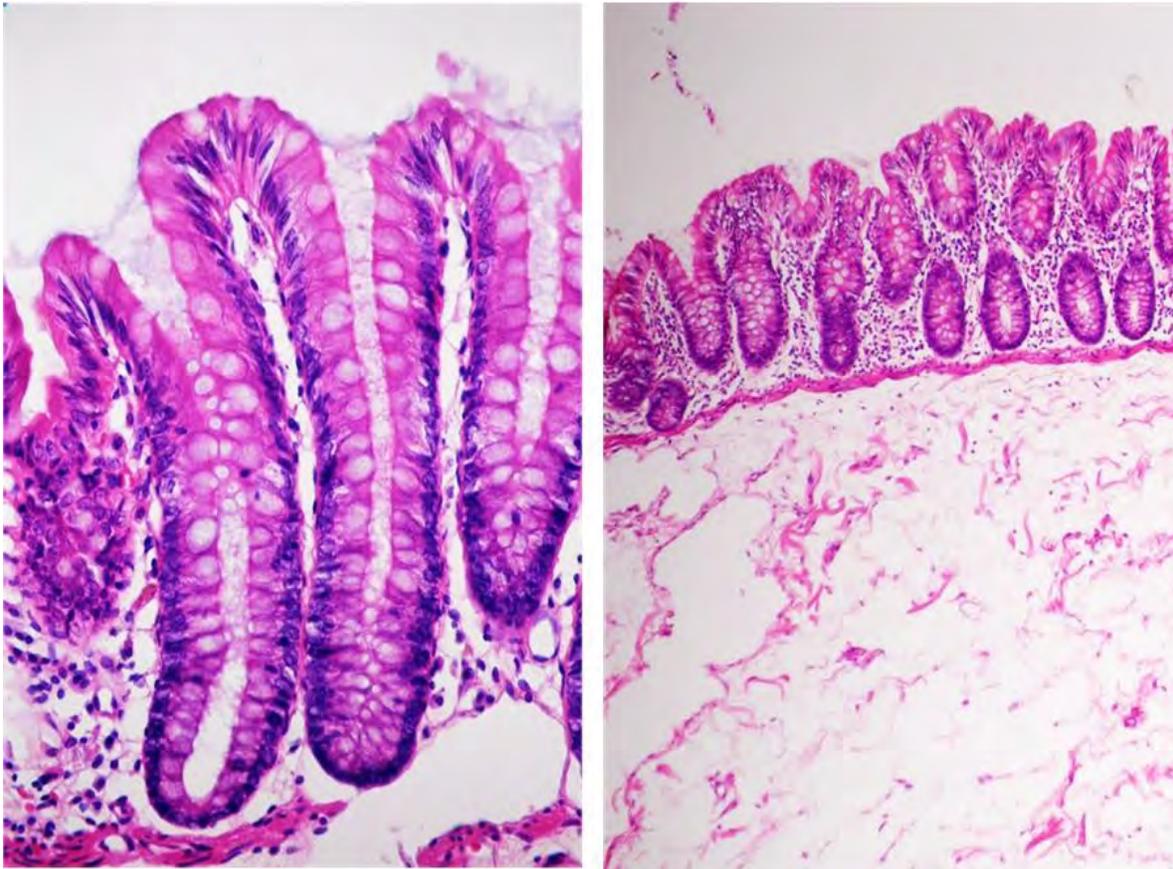


Figura 1. Biopsia endoscópica de intestino delgado. Células epiteliales sanas (izquierda). Atrofia severa de las microvellosidades intestinales (derecha) (Federación de Asociaciones de Celiacos de España, 2016).

La Fig. 2 ilustra la patogenia de la enfermedad celiaca, es desarrollada por los péptidos de gliadina, que resultan de la hidrólisis parcial del gluten, penetrando la lámina propia y activando la transglutaminasa tisular convirtiéndolos en péptidos de gliadina deamidados. Esta desamidación crea potentes epítomos inmunoestimulantes que actúan como antígenos, estimulando el sistema inmunológico. Este proceso es llevado a cabo en la mucosa intestinal y se determina a partir de la aparición de una lesión histológica característica (Rodríguez, 2010).

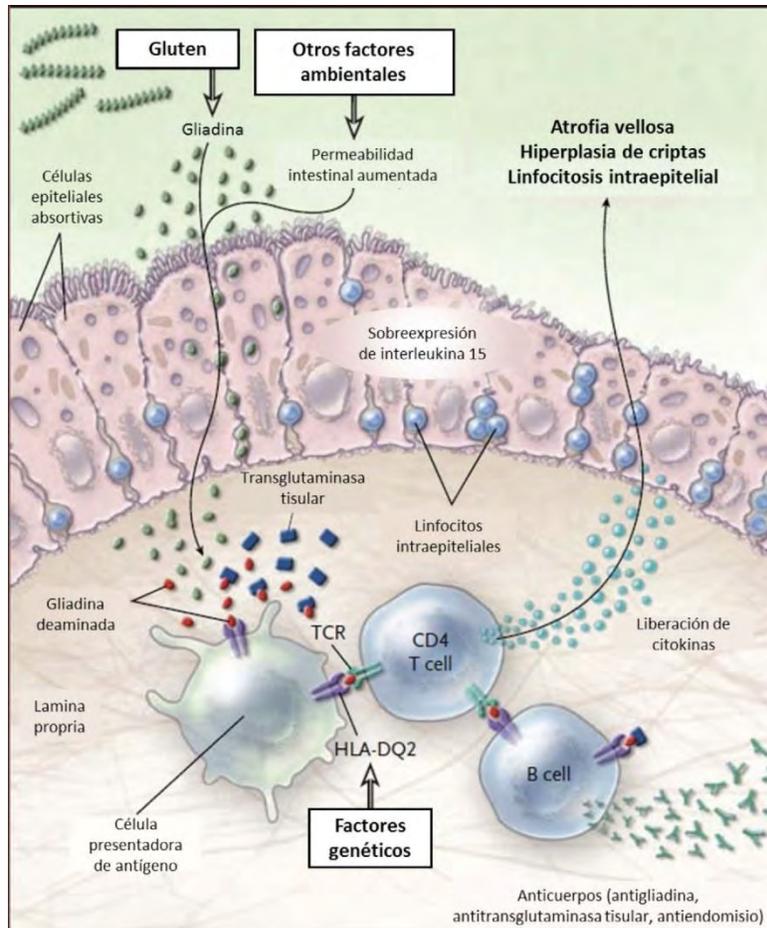


Figura 2. Esquema de la patogénesis de la enfermedad celíaca (Moscoso & Quera, 2015)

El diagnóstico sigue diversas etapas para cerciorarse de la existencia de la enfermedad celíaca. Debido a una sospecha de enfermedad celíaca, se realizan pruebas serológicas donde la reacción positiva a transglutaminasa es un parámetro inicial pero no convincente. Posteriormente se realiza una biopsia de duodeno, donde puede observarse el estado del epitelio y confirmar la posible existencia de atrofia de las microvellosidades. Por último, una dieta libre de gluten es prescrita, que excluye al trigo, centeno, cebada y avena, como único tratamiento existente para la enfermedad celíaca (Rodríguez, 2010; Moscoso & Quera, 2015).

Con base al grado en el que la enfermedad se encuentre, la histopatología es señalada de acuerdo a la clasificación de Marsh, presentándose 4 tipos de acuerdo a la intensidad del daño epitelial. En el tipo 1 existe lesión infiltrativa como avistamiento de las primeras señales, en el tipo 2 existe hiperplasia de criptas, en

el tipo 3 se presenta atrofia en las microvellosidades y finalmente el tipo 4 muestra una lesión destructiva de las paredes del intestino. Algunas de las consecuencias del atrofiamiento de las microvellosidades convierten a la celiaquía en un trastorno sistémico. La malabsorción de los nutrientes, además de causar una malnutrición del individuo puede desencadenarse en problemas de anemia por falta de hierro. Algunos de los síntomas, una vez introducido el gluten en la dieta son: diarrea crónica, vómitos, distensión abdominal, irritabilidad y apatía (Parada & Araya, 2010; Olvera-Obregón *et al.*, 2012).

2.2 Alimentación para celíacos

Hoy en día, el único tratamiento para la enfermedad celíaca es una dieta exenta de gluten de por vida. Restringe el consumo algún alimento o medicamento que contenga gluten (trigo, centeno y cebada) ni sus derivados, ya que incluso pequeñas cantidades de gluten son perjudiciales y pueden desencadenar nuevamente los síntomas (Fernández-Feo *et al.*, 2013). Para su alimentación, los celíacos requieren de alternativas de productos que originalmente son elaborados con trigo, donde dominan las pastas, galletas, pasteles y pan. Dentro de los productos libres de gluten, que actualmente ofrece la ciencia y tecnología de los alimentos, los productos de panificación son los de mayor impacto en el mercado, seguidos de las pastas alimentarias (Reilly *et al.*, 2016). De acuerdo al *Codex Alimentarius* (2016), se considera un producto libre de gluten a aquel cuyo contenido de fracciones peptídicas de gliadina no sobrepasen los 20 mg/kg.

El consumo de pan en México, de acuerdo a datos de la Cámara Nacional de la Industria Panificadora (CANAINPA), reporta que en 2014 el consumo de pan *per cápita* era de 34 kg, de los cuales el 75% corresponde a pan blanco y el 25% restante a pan dulce, ocupando el cuarto lugar a nivel Latinoamérica en consumo. El pan dulce tiene diversas variedades de acuerdo al tipo de masa y proceso de elaboración. La masa danesa es utilizada para la elaboración de productos de panificación, y pueden consumirse con relleno dulce o salado. Su elaboración consiste en la formulación de una masa fermentada con levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), a la que es incorporada la materia grasa por medio de un proceso de

laminado, evitando que las capas de masa y grasa se empalmen (Baardseth *et al.*, 1995). Los “cuernitos” o croissants son un producto de gran popularidad elaborados con masa danesa con un contenido de grasa de aproximadamente el 26%, donde dominan las grasas saturadas (Deligny *et al.*, 2015). Con este proceso se obtiene una miga con alveolos alargados, con una estructura definida, apreciándose la materia grasa entre las capas del producto. El efecto secundario que se observa en este tipo de productos es un volumen específico mayor comparado con un pan tipo bizcocho, además de una corteza crocante causada por el laminado de la masa y el contenido de grasa (Baardseth *et al.*, 1995). El valor nutricional de este tipo de pan es deficiente, ya que el contenido calórico de un croissant puede alcanzar las 500 kcal, derivado de la naturaleza de sus ingredientes donde destacan el huevo, la leche y un alto contenido de azúcar y materia grasa, lo que representa una limitante a su consumo (Vives, 2012).

2.3 Pan libre de gluten

Dentro de los alimentos aptos para el consumo de celíacos, el pan ha tomado importancia a nivel tecnológico y nutricional (Matos & Rosell, 2011). La elaboración de productos de panificación libres de gluten, tienen como reto principal imitar las propiedades fisicoquímicas que la red de gluten otorga a la masa elaborada con trigo: ser extensible y elástica, formar una estructura en la miga, retener el CO₂ generado en la fermentación para obtener un producto de baja densidad, integrar los demás ingredientes y mantenerlos unidos a la estructura, retener agua para prolongar la vida de anaquel del producto y conferir características sensoriales como suavidad, esponjosidad, sabor y aroma a los productos (Poutanen *et al.*, 2009; Mariotti *et al.*, 2013). Para cubrir la demanda de productos de panificación libres de gluten, se utilizan harinas y/o féculas (Tabla 1) provenientes de algunos cereales (maíz, arroz), pseudocereales (amaranto), semillas (quínoa, chía), leguminosas (soya, chícharo) y tubérculos (papa, yuca). A su vez, se emplean algunos aditivos alimentarios (hidrocoloides, aislados protéicos y/o enzimas), emulando las propiedades fisicoquímicas del gluten. (Lazaridou *et al.*, 2007; Schober *et al.*, 2008; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010; Demirkesen *et al.*, 2010; Onyango *et al.*, 2011; Hager *et al.*, 2012; Cappa *et al.*, 2013; Matos &

Rosell, 2013; Ziobro *et al.*, 2013; Demirkesen *et al.*, 2014; Mohammadi *et al.*, 2014; Buresova *et al.*, 2016; Mir *et al.*, 2016).

Tabla 1. Fuentes alternas al trigo para elaboración de productos de panificación libres de gluten.

Cereales	Semillas	Leguminosas	Tubérculos
Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	Amaranto (<i>Amaranthus spp.</i>)	Soya (<i>Glycine max</i>)	Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)
Maíz (<i>Zea mays</i>)	Chia (<i>Salvia hispánica</i>)	Chícharo (<i>Pisum sativum</i>)	Mandioca (<i>Manihot esculenta</i>)
Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>)	Quínoa (<i>Chenopodium quinoa</i>)		Camote (<i>Ipomoea batatas</i>)

Schober *et al.*, 2008; Moroni *et al.*, 2009; Onyango *et al.*, 2011; Sakac *et al.*, 2011; Matos & Rosell, 2013; Cappa *et al.*, 2013; Demirkesen *et al.*, 2014; Mir *et al.*, 2016.

2.4 Calidad nutricional de pan libre de gluten

En estudios recientes han sido investigadas las deficiencias nutricionales de estos productos, encontrándose que algunas de las carencias son el bajo contenido de fibra dietética, minerales (calcio, magnesio y hierro), vitaminas (B₁₂, D y folato) y proteínas. Conjuntamente tienen un exceso de grasas saturadas y un índice glucémico superior a 80, que los engloba como alientos de IG alto (Vici *et al.*, 2016).

Para la salud pública, el problema que representa el sobrepeso, la obesidad y su asociación con enfermedades crónico-degenerativas, principalmente enfermedades cardiovasculares y diabetes; está ligado al alto consumo de grasas saturadas y alimentos con alto contenido de carbohidratos (Spahillari *et al.*, 2016). La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2015) recomienda que una alimentación adecuada debe tener los siguientes criterios:

- Lograr un equilibrio calórico y un peso saludables.
- Reducir la ingesta calórica procedente de las grasas, cambiar las grasas saturadas por las insaturadas y eliminar los ácidos grasos *trans*.

- Aumentar el consumo de frutas, hortalizas, legumbres, cereales integrales y frutos secos.
- Reducir la ingesta de azúcares libres.
- Reducir el consumo de sal (**sodio**), de cualquier fuente, y garantizar que la sal consumida esté yodada.
- Es recomendable un consumo de grasas entre el 15-30% de la ingesta calórica total diaria, de las cuales el 10% puede ser grasa saturada (OMS, 2015).

Otro aspecto de importancia en la valoración nutrimental de los productos libres de gluten es el cálculo del índice glucémico (IG), el cual es una valoración numérica dada a un alimento de acuerdo a la respuesta que tienen los carbohidratos sobre la glucemia postprandial (Wordu & Banigo, 2013). Cada alimento tiene un IG propio. El IG es agrupado en tres categorías: alto (≥ 70), medio (56-69) y bajo (≤ 55), dependiendo del impacto que obtenga en los niveles de glucosa posteriores al consumo del alimento (Wolever *et al.*, 2008). El pan blanco por ejemplo, se cataloga con un IG=70 (alimento con alto IG) (Goñi *et al.*, 2003).

El IG es el resultado de una serie de factores fisico-químicos que pueden ser intrínsecos y extrínsecos, que van desde los métodos de conservación (molienda o congelación), los métodos y técnicas de cocción (calor, agua y tiempo de preparación), hasta la composición del alimento de cada una de sus partes y en conjunto. En el caso del pan, los carbohidratos son uno de sus componentes principales, compuesto por almidón, fibra dietética y azúcares simples, que en conjunto tiene un papel importante en el IG del pan (Arteaga, 2006). En el caso de los productos libres de gluten, el almidón es el componente principal y le proporciona características físicas y químicas a los alimentos, además de determinar parte de su calidad nutrimental, teniendo estrecha relación con el IG. El almidón es clasificado en fracciones nutricionales de acuerdo con su tasa de hidrólisis como: almidón rápidamente digerible (RDS), almidón de digestión lenta (SDS) y almidón resistente (RS). La variación en el tipo de almidón influye en la respuesta glucémica, donde la SDS mantiene la glucosa en sangre constante y el contenido de RS disminuye en el IG del alimento (Camelo-Méndez *et al.*, 2016).

El IG es empleado como herramienta de control y prevención de enfermedades como: diabetes, sobrepeso, obesidad, enfermedades cardiovasculares y dislipidemias. El consumo recurrente de alimentos de IG alto, tiene relación convincente con el desarrollo a resistencia a la insulina y ésta a su vez con el origen de estas enfermedades (Neuhouser *et al.*, 2006). Hoy en día la importancia del IG alto con el desarrollo de síndrome metabólico ha sido estudiada, por tanto, si es controlado el consumo de alimentos considerando su IG, se podrían prevenir patologías y evitar su afección (Pineda, 2008). La Tabla 2 muestra la relación del continuo consumo de alimentos con IG alto con algunas enfermedades crónicas degenerativas.

Tabla 2. Enfermedades relacionadas con el continuo consumo de alimentos con IG alto.

Enfermedad	Consecuencias	Recomendaciones generales (OMS, 2015)
Diabetes	Amputación de los miembros, ceguera, deficiencia renal, neuropatía	<ul style="list-style-type: none"> • Lograr un equilibrio calórico y un peso saludables. • Reducir la ingesta calórica procedente de las grasas, cambiar las grasas saturadas por las insaturadas y eliminar los ácidos grasos <i>trans</i>. • Aumentar el consumo de frutas, verduras, legumbres, cereales integrales y frutos secos. • Reducir la ingesta de azúcares libres. • Consumo de alimentos con IG bajo • Reducir el consumo de sal (sodio), cualquiera que sea su fuente, y garantizar que la sal consumida esté yodada. • Llevar una vida activa
Enfermedades cardiovasculares	Arteriosclerosis, colesterol elevado, infartos, embolias	
Hipertensión arterial	Trombosis	
Obesidad	Síndrome metabólico	

Fuente: OMS, 2015.

Es importante reducir y controlar la ingesta de alimentos con IG alto, por lo que se aconseja comer alimentos con carbohidratos complejos para que exista una absorción lenta de estos nutrientes, esto aunado al consumo de alimentos ricos en fibra que mantienen el buen funcionamiento del colon. Además de la búsqueda del cálculo del IG para aquellos alimentos de los cuales no exista registro (Macagnan *et al.*, 2016).

2.5 Fuentes alternas para la elaboración de pan libre de gluten: papa roja (*Oxalis tuberosa*)

Dentro de los ingredientes que son utilizados en la elaboración de productos libres de gluten se encuentra la papa roja (*Oxalis tuberosa*) conocida también como Oca. En la región Andina es segundo tubérculo en importancia y es valorada por el alto contenido de carbohidratos que contiene. Los usos de la *O. tuberosa* son escasos, al considerarse como un subcultivo. Es limitada sólo al auto-consumo y algunas preparaciones gastronómicas. En la gastronomía peruana es parte de un platillo prehispánico conocido como "*Pachamanca*". Que consiste en un guiso cocido bajo tierra compuesto de carne de llama, cuy y papas de diversas variedades (Pazmiño, 2007). Por otra parte, en México es utilizada comúnmente en la elaboración de mazamorra o atole, puede obtenerse harina, o es adicionada en guisados como guarnición y es utilizada en la elaboración de salsas. Existen pocos registros acerca de la ubicación de los cultivos de la papa roja en México, aunque todos coinciden en que sólo es cultivada en zonas donde el clima es templado-frío y a una altura considerable como las zonas altas de la sierra poblana, la sierra hidalguense o cerca del Nevado de Toluca (Bukasov, 1963; Díaz, 2001). Se vende en mercados locales o tianguis como en el municipio de Acaxochitlán, Hidalgo (Fig. 3) en temporada invernal entre los meses de octubre y febrero donde recibe el nombre de papa inglesa o papa extranjera.



Figura 3. Papa roja (*Oxalis tuberosa*) en el tianguis del municipio de Acaxochitlán Hgo., México

Dentro de su mismo género, existen diferentes especies que varían en su composición pero principalmente en su forma y color (Fig. 4).



Figura 4. Variedades de *Oxalis tuberosa*. Fuente: International Potato Center, 2017.

Las diferentes tonalidades de la cáscara de *O. tuberosa* varían en una gama de amarillo, rojo-naranja, rojo, rojo-púrpura hasta púrpura grisáceo, de acuerdo a la cantidad y tipos de compuestos pigmentados que contienen (Flores *et al.*, 2002) entre los cuales destacan los compuestos fenólicos considerados como compuestos antioxidantes. Algunos de estos compuestos aislados identificados en la papa roja son el ácido cafeico, ácido vanílico, ácido cinámico y antocianinas, con una capacidad antioxidante de entre 77-82%, cuantificada con el método ABTS y tomando como antioxidante de referencia al ácido gálico (Chirinos *et al.*, 2009). La composición químico-proximal de la papa roja en base seca es: cenizas

(3.39%), proteína (4.60%), fibra (2.16%), grasa (1.66%) y carbohidratos (88.19%), que por su naturaleza, esta fracción está compuesta en su mayoría de almidón (Tabla 3). La papa roja además contiene algunos micronutrientes como: calcio, fósforo, magnesio, cobre y hierro (Barrera *et al.* 2004; León *et al.*, 2011).

Tabla 3. Composición químico proximal de la papa roja (*Oxalis tuberosa*)

Componente	Contenido
Cenizas %	3.39
Proteína %	4.60
Fibra %	2.16
Grasa %	1.66
Carbohidratos %	88.19
Almidón %	42.17
Calcio mg/kg	0.012
Fósforo mg/kg	0.14
Magnesio mg/kg	0.006
Sodio mg/kg	0.018
Potasio mg/kg	1.30
Cobre mg/kg	2.25
Hierro mg/kg	48.85
Manganeso mg/kg	5.35
Zinc mg/kg	5.95
Yodo mg/kg	3.65
Ácido ascórbico mg/ 100 g mf	34.53
Ácido oxálico mg/ 100 g mf	82.93

Datos expresados en base seca, muestra entera; mf = materia fresca.
Fuente: Barrera *et al.*, 2004

A razón de lo anterior, en esta investigación se planteó utilizar harina de papa roja como fuente para la elaboración de pan tipo danés (croissant) libre de gluten; además de un sustituto de grasa con el objetivo de reducir el contenido de grasa saturada.

III. Justificación

En la actualidad el desarrollo de productos de panificación libres de gluten ha sido un reto para la industria de los alimentos, debido a que sus características sensoriales son deficientes comparadas con las de productos elaborados con trigo. Este comportamiento es causado a la falta de la red de gluten, quien otorga la suavidad y esponjosidad en el producto final. Las personas con enfermedad celiaca, al estar obligados a llevar una dieta exenta de gluten de por vida, requieren de alternativas para el consumo de productos que originalmente son elaborados con trigo donde dominan las pastas, galletas, pasteles y pan.

Los productos libres de gluten son elaborados con harinas y/o almidones de algunos cereales, semillas y tubérculos. Actualmente cultivos como la papa roja (*Oxalis tuberosa*) son considerados como cultivos marginados al autoconsumo y producción a pequeña escala, a pesar de tener un mejor aporte nutricional comparada con la papa blanca (*Solanum tuberosum*), al contener zinc, vitamina B₁₂, vitamina C, fibra y compuestos antioxidantes. Por otra parte, uno de los problemas de salud es derivado del abuso del consumo de alimentos con alto índice calórico que desencadenan enfermedades como obesidad la cual tiene una relación convincente con otras enfermedades como diabetes tipo 2. En ese sentido, el desarrollo de alimentos reducidos en grasa que conserven las características sensoriales del producto original, son una alternativa para la prevención de este tipo de enfermedades donde se busca la satisfacción del consumidor y el cuidado de su salud.

Por lo tanto, el objetivo de la investigación consiste en estudiar el uso de harina de papa roja para la elaboración de pan tipo danés (croissant) libre de gluten reducido en grasa, con posible capacidad antioxidante.

IV. Objetivos

4.1 General

Diseñar pan tipo danés (croissant) libre de gluten reducido en grasa saturada mediante el uso de una harina compuesta a base de papa roja (*Oxalis tuberosa*) con la finalidad de proponer una alternativa de alimento nutritivo con posible efecto funcional para celíacos.

4.2 Específicos

- Analizar la composición química de la harina de *Oxalis tuberosa* mediante métodos oficiales para utilizarla en la formulación de harinas compuestas.
- Evaluar las características reológicas de la masa libre de gluten mediante análisis de perfil de textura y extensibilidad de masas, con la finalidad de tener información que permita establecer las formulaciones estándar.
- Formular un producto mediante la preparación de una masa estándar para obtener los testigos utilizados en la investigación.
- Caracterizar el producto testigo por medio de ensayos reológicos, físicos (volumen, color, calidad de miga) y contenido de grasa, para utilizar estos parámetros como referencia.
- Seleccionar las condiciones de formulación utilizando un diseño ortogonal de Taguchi que permita obtener la masa óptima para preparar pan tipo danés libre de gluten reducido en grasa saturada.
- Caracterizar físicoquímica y sensorialmente mediante diversos ensayos (análisis proximal, reológicos, de textura, de grado de satisfacción, entre otros) el pan tipo danés (croissant) libre de gluten, obtenido de la formulación óptima, para evaluar su calidad.
- Evaluar la digestibilidad del almidón *in vitro* y la respuesta glicémica mediante un ensayo *in vivo* con consumidores voluntarios, del pan tipo danés (croissant) libre de gluten, obtenido de la formulación óptima, con la finalidad de valorar su calidad nutricional.
- Determinar el contenido de fenoles totales, la capacidad antioxidante y el perfil de ácidos grasos del pan tipo danés mediante métodos espectrofotométricos y cromatográficos para evaluar el potencial funcional del producto óptimo obtenido.

V. Materiales y métodos

5.1 Elaboración de harina de papa roja (*Oxalis tuberosa*)

La obtención de la harina se realizó mediante la metodología propuesta por Hathorn *et al.* (2008), donde los tubérculos adquiridos del mercado local del municipio de Singuilucan, Hgo., México, se seleccionaron, lavaron, pelaron y cortaron en rebanadas de 2 mm.

Después las rebanadas se colocaron en charolas con papel encerado y se deshidrataron en un horno convencional (Sanson, HCC, México) a 40 °C durante 24 h. Las hojuelas de papa deshidratada se trituraron en un molino de cuchillas (IKA, MF 10.1, USA) y se tamizaron en una malla No. 35. Posteriormente la harina obtenida se guardó en bolsas resellables de polietileno y resguardadas para su uso futuro.

5.2 Análisis químico proximal de harina de papa roja (*Oxalis tuberosa*)

El contenido de proteína (46-12.01), lípidos (30-10.01), humedad (44-19.01), cenizas (08-01.01) y fibra cruda (32-05.01) de las muestras se determinaron acorde a los métodos de la AACC (2000). Los carbohidratos se calcularon por diferencia entre los demás componentes y el peso total de la muestra.

5.3 Formulación de pan tipo danés (croissant) utilizada como estándar

La masa danesa control se elaboró con: harina de trigo (42%; San Antonio Tres Estrellas, Grupo La Moderna, México), sal (0.4%; La Fina, Sales del Istmo, México), azúcar (4.2%; Zulka, Zucarmex, México), levadura liofilizada (1.3%; Azteca, Levadura Azteca S.A. de C.V., México), huevo deshidratado (2%; Ovopol, Ovoplus del Centro S.A. de C.V., México), leche (8.4%; Alpura, Grupo Alpura, Mexico), agua (25%) y materia grasa (16.7%; Flex Azul, Unilever, México). La Tabla 4 muestra las formulaciones utilizadas para la elaboración del pan tipo danés. Donde, TTR es la formulación elaborada con harina de trigo y margarina, TTRS es la formulación elaborada con harina de trigo y sustituto de grasa. GFCCG es la formulación elaborada con harina libre de gluten y margarina y GFSG es la

formulación elaborada con harina libre de gluten y sustituto de grasa. La harina libre de gluten es una harina compuesta a base de: harina de arroz (32%; Tres estrellas, Grupo La Moderna, México), almidón de mandioca (20.5%; Fabsa de Oriente S.A. de C. V., México), almidón de papa (17%; Fabsa de Oriente S.A. de C. V., México), almidón de maíz (27%; Maicena, Unilever, México) y HPMC (3.5%; Wellence Gluten Free, DOW Chemical Pharma & Food Solutions, Alemania) utilizada como hidrocoloide.

Tabla 4. Formulaciones para pan tipo danés.

Ingrediente	TTR	TTRS	GFCG	GFSG
Harina de trigo (g)	100	100	-	-
Harina libre de gluten (g)	-	-	100	100
Sal (g)	1	1	1	1
Azúcar (g)	10	10	10	10
Levadura seca (g)	3	3	3	3
Huevo deshidratado (g)	5	5	5	5
Leche (mL)	20	20	20	20
Agua (mL)	125	125	125	125
Margarina (g)	40	-	40	-
Sustituto de grasa (g)	-	40	-	40

TTR: Trigo con margarina
TTRS: Trigo con sustituto de grasa
GFCG: Libre de gluten con margarina
GFSG: Libre de gluten con sustituto de grasa

La materia grasa utilizada fue margarina para danés (Flex Azul, Unilever, México) y un sustituto de grasa de naturaleza lipídica (“I can’t believe it’s not butter”, Unilever, USA). Para fines de esta investigación se tomó en cuenta la información proporcionada por los fabricantes de la materia grasa utilizada en la formulación del pan. Se observó que la margarina por cada 5 g de producto (100%) contiene 3.3 g de grasa total (66%), de los cuales: 1.9 g es grasa saturada (38%), 0.8 g es grasa poliinsaturada (16%) y 0.6 g es grasa monoinsaturada (12%). En cambio, el

sustituto de grasa por cada 5 g de producto (100%) contiene 3 g de grasa total (60%), de los cuales: 0.9 g es grasa saturada (18%), 1.4 g es grasa poliinsaturada (28%) y 0.7 g es grasa monoinsaturada (28%).

5.4 Formulación de pan tipo dânes (croissant) utilizada en el diseo experimental

Para los tratamientos, la harina de trigo (100%) se sustituyó por harina libre de gluten en base de: harina de arroz (32%; Tres estrellas, Grupo La Moderna, México), almidón de mandioca (20.5%; Fabsa de Oriente S.A. de C. V., México), almidón de papa (17%; Fabsa de Oriente S.A. de C. V., México), almidón de maíz (27%; Maizena, Unilever, México) y HPMC como hidrocoloide (1.5%; Wellence Gluten Free, DOW Chemical Pharma & Food Solutions, Alemania).

Para el diseo experimental se utilizó harina de papa roja (*Oxalis tuberosa*) y un sustituto de grasa de naturaleza lipídica ("I can't believe it's not butter", Unilever, USA). Los tubérculos de papa roja se adquirieron del mercado de Singuilucan Hgo., México, de la cosecha de invierno de 2015 en su estado de maduración fisiológica. La harina de papa roja se obtuvo acorde a los métodos de Hathorn *et al.* (2008) y se utilizó en el diseo experimental en sustitución de harinas y/o almidones.

5.5 Proceso de elaboración de pan tipo danés (croissant)

La masa danesa fue elaborada con todos los ingredientes excepto la grasa. Los ingredientes se mezclaron en una batidora (Kitchen Aid, Professional 600, USA) por 5 min a velocidad media. Subsecuentemente, la masa se extendió y laminó incorporando la materia grasa. El laminado consistió en la extensión de la masa hasta 6 mm de grosor, posteriormente se doblaron las orillas de la masa hacia el centro. Este proceso se repitió tres veces. Después de obtener la masa laminada, se fermentó a 30°C por 120 min. Posteriormente se extendió nuevamente y se cortó en triángulos de 10 cm de base y 10 cm de altura. Cada triángulo se enrolló, comenzando de la base, dando la forma característica de croissant, el cual se fermentó por 30 min más y finalmente se horneó a 180°C por 20 min (Deligny & Lucas, 2015).

5.6 Análisis en materia prima y masa

5.6.1 Análisis de perfil de textura para materia prima y masa

El análisis de perfil de textura (APT) de la materia prima y la masa de las formulaciones, se determinó en un texturómetro (Brookfield, CT3 Texture Analyzer, USA) siguiendo la metodología de Bourne (2002). Donde, 25 g de muestra fueron comprimidos al 20% de deformación, bajo las siguientes condiciones: geometría cilíndrica de 36 mm (TA-AACC36), carga de 4.5 kg, velocidad constante de 0.5 mm/s y tiempo de reposo de 5 s entre las dos compresiones. Se determinó dureza (N), adhesividad (mJ), cohesividad y elasticidad (adimensionales).

5.6.2 Extensibilidad de la materia prima y masa

Las propiedades de elongación uniaxial de las masas fueron analizadas usando el aditamento Kieffer Dough and Gluten Extensibility Rig acoplado al texturómetro (Brookfield, CT3 Texture Analyzer, USA). La extensibilidad de masa (mm) se midió como la distancia del inicio del ensayo hasta la ruptura de la muestra, acorde al método AACC 54-10 (2000).

5.7 Análisis de calidad del pan

5.7.1 Análisis de perfil de textura del pan

El análisis de perfil de textura (APT) de la materia prima y la masa de las formulaciones, fue determinado en un texturómetro (Brookfield, CT3 Texture Analyzer, USA) siguiendo la metodología de Bourne (2002). Fue determinada la dureza (N), masticabilidad (mJ), cohesividad y elasticidad (adimensionales).

5.7.2 Volumen específico y pérdida de peso por horneado

El volumen del pan se midió por el método de desplazamiento de semillas (AACC 10-05, 2000). El volumen específico (cm^3/g) se calculó basado en el peso del

producto, el volumen específico fue calculado. La pérdida de peso por horneado fue calculada con la Eq. 1 (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

$$\text{Pérdida de peso por horneado \%} = \frac{(\text{peso de la masa} - \text{peso del pan enfriado a temperatura ambiente})}{(\text{peso de la masa})} \times 100 \quad (1)$$

5.7.3 Color de miga y corteza del pan

Para determinar los parámetros instrumentales de color (L^* , a^* y b^*), se tomaron fotografías digitales de la miga y corteza de las muestras como lo describe Velez *et al.*, (2014) utilizando un sistema de visión asistido por computadora (SVC), que consiste en un domo de difusión de forma semiesférica, el cual contiene: la zona de inspección, un sistema de iluminación y un sistema de captura (Canon, Power shot SX110 IS camera, Japón) conectado a una PC.

Las imágenes digitales de las muestras se procesaron utilizando el software ImageJ 1.49v (National Institutes of Health, USA), seleccionando 12 regiones de 350X350 pixeles como muestra representativa. Las imágenes se convirtieron a valores RGB (red-green-blue) con el “colour space converter” plug-in, que interpola los valores RGB a valores L^* (luminosidad), a^* (componente rojo-verde) y b^* (componente amarillo-azul).

5.7.4 Estructura de la miga

La estructura de la miga de los tratamientos fue analizada por análisis de imagen de acuerdo con Sánchez-Pardo *et al.* (2012), con modificaciones. Donde, seis muestras de pan se cortaron justo por la mitad con una cuchilla dentada para obtener 12 mitades. Para la captura de las imágenes se utilizó el SVC descrito anteriormente. Las imágenes fueron seccionadas del centro con un tamaño de 720x720 pixeles (4.0 cm², 1 pixel = 0.0278 mm) y guardadas en formato TIFF. Más adelante, cada imagen se convirtió a formato de 8-bit (escala de grises) y segmentada utilizando el algoritmo de *Otsu plug-in*, que genera imágenes binarias (contraste de blanco y negro) altamente uniformes utilizadas para el análisis de imagen utilizando el software ImageJ 1.49v

Se midieron los siguientes parámetros: 1) área de las celdas, 2) área promedio de las celdas, 3) densidad de las celdas por cm^2 and 4) porcentaje de la fase dispersa (definida como porcentaje de aire atrapado en la miga por unidad de área).

5.7.5 Dimensión fractal de la textura de la corteza

Para las imágenes de la corteza, la dimensión fractal de la textura de la corteza se evaluó mediante la power-law scaling utilizando el método shifting differential counting (método de conteo de cajas) (FD_{SDBC}). FD_{SDBC} se calculó utilizando el SDBC plug-in del software ImageJ 1.49v (National Institutes of Health, USA). FD_{SDBC} se estimó a partir de la pendiente en la gráfica de \log (conteo de cajas) y \log (tamaño de caja) y se calculó por Eq. 2, donde N es el número de cajas y r es la longitud del lado de la caja.

$$FD_{SDBC} = \frac{\log(N)}{\log\left(\frac{1}{r}\right)} \quad (2)$$

Los resultados de FD_{SDBC} muestran la rugosidad de la superficie con un posible rango de valores de 2 a 3. Donde los valores cercanos a 2 son asociados con superficies lisas y los valores cercanos a 3 con superficies rugosas (Pérez-Nieto et al., 2010). Finalmente, se obtuvieron imágenes de la textura de la corteza con el Interactive 3D Surface Plot plug-in.

5.8 Evaluación sensorial

Un panel semi-entrenado de doce miembros evaluó las propiedades sensoriales de los panes. Las muestras se codificaron con números específicos para eliminar el sesgo. Los panelistas se instruyeron para evaluar el aspecto general, el color de la corteza, el color de la miga, la textura (suavidad, firmeza), el sabor, la masticabilidad (capacidad de masticar y deglutir el pan), el aroma y la aceptación general. Una escala hedónica de nueve puntos con: 1 me disgusta mucho; 5, no me gusta ni me disgusta y 9 me gusta mucho (Jan et al., 2016) se utilizó.

5.9 Características nutricionales y capacidad antioxidante del pan

5.9.1 Análisis químico proximal

El contenido de proteína (46-12.01), lípidos (30-10.01), humedad (44-19.01), cenizas (08-01.01), fibra cruda (32-05.01) de las muestras se determinaron acorde a los métodos de la AACC (2000). Los carbohidratos asimilables fueron calculados por diferencia entre los demás componentes y el peso total de la muestra.

5.9.2 Digestibilidad del almidón *in vitro*

La hidrólisis enzimática de las muestras se determinó siguiendo el método reportado por Gularte & Rosell (2011), utilizando 100 mg de pan en polvo. De acuerdo con la tasa de hidrólisis del almidón, se cuantificaron tres fracciones diferentes. El almidón de rápida digestión (RDS), se refiere al porcentaje de almidón total que se hidrolizó en los primeros 30 min; el almidón de lenta digestión (SDS) fue el porcentaje de almidón hidrolizado entre los 30 y 120 min y el almidón resistente (RS) fue el almidón restante después de 16 h de incubación.

5.9.3 Contenido de fenoles totales y evaluación de la capacidad antioxidante (% de inhibición del radical DDPH)

El contenido de fenoles totales se determinó de acuerdo por método espectrofotométrico mediante el uso del reactivo Folin-Ciocalteu (Bernardino-Nicanor, 2016). La fracción de los compuestos fenólicos se obtuvo del extracto acuoso. El extracto se centrifugó a 4 000 rpm durante 20 min. Después, 1580 μ L del extracto se mezclaron con 100 μ L de reactivo Folin-Ciocalteu. La mezcla reaccionó durante 8 min con 300 μ L de carbonato sódico (20% p/v). Después de esta incubación, la mezcla se colocó a 50°C durante 15 min. Luego se determinó la absorbancia a 765 nm (A_{muestra}). Los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico (GAE) en μ g/g, usando una curva estándar de ácido gálico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

El ensayo de capacidad de inhibición del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo; DPPH, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) se utilizó para la determinación de la capacidad antioxidante. Para ello, 0.1 mL de extracto acuoso se mezclaron con 3.9 mL de DPPH en metanol ($6 \times 10^{-5} \text{M}$). La reducción de la absorbancia se tomó a 516 nm durante 60 min según lo descrito por Bernardino-Nicanor (2016). El porcentaje de inhibición se calculó usando Eq. 3.

$$I\% = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100\% \quad (3)$$

Donde I % es el porcentaje de inhibición, A_0 es la absorbancia del blanco y A_s es la absorbancia de la muestra.

5.10 Respuesta glucémica *in vivo*

El índice glucémico (IG) se determinó de acuerdo con protocolo de la FAO (1998) y Astawan & Widowati (2011). El Comité de Ética e Investigación del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México, aprobó el protocolo de estudio (dictamen Cinv/045/2017) y todos los voluntarios dieron su consentimiento informado por escrito.

Se reclutaron adultos sanos que no incurrieran en los criterios de exclusión: fumadores, embarazadas o en lactancia, alergia a cualquier ingrediente que compone el producto, diabetes diagnosticada o alguna enfermedad crónica, historial familiar con antecedentes de diabetes y uso de medicamentos, especialmente aquellos que tengan efecto sobre la respuesta glucémica.

Doce voluntarios (5 mujeres y 7 hombres), con intervalo de edad de 25.8 ± 2.56 años e índice de masa corporal (IMC) de $25.6 \pm 2.2 \text{ kg/m}^2$ se incluyeron en el estudio. La respuesta glucémica producida por el alimento control y los tratamientos se determinó, donde, los voluntarios acudieron a la revisión en intervalos de 72 h con ayuno previo de 12 h.

Una solución de glucosa (50 g de glucosa anhidra y 250 mL de agua purificada) se utilizó como alimento control. En las sesiones subsecuentes, los voluntarios ingirieron una porción de cada tratamiento. Cada porción de alimento contenía 50 g de carbohidratos disponibles, previamente calculados de acuerdo al análisis químico proximal (datos no mostrados), siendo 112 g de TTR, 95 g de GFSG, 91 g de OP1 y 96 g de OP2.

Los voluntarios tuvieron 10 min para ingerir cada porción de alimento acompañada de 250 mL de agua. Se tomaron muestras de sangre capilar con una lanceta estéril (OneTouch, Johnson & Johnson, Miami FL, USA) para glucosa basal y los tiempos 15, 30, 45, 60, 90 y 120 min después del consumo del alimento. La concentración de glucosa en sangre se midió con un glucómetro de sangre (OneTouch Ultra-Mini meter, Johnson & Johnson, Miami FL, USA).

Para el cálculo del IG de cada tratamiento se utilizó la metodología propuesta por Wolever (2004) que consiste en comparar el área bajo la curva del alimento de referencia y los alimentos a evaluar (Eq. 4).

$$IG \text{ del alimento} = \frac{\text{Área bajo la curva del alimento}}{\text{Área bajo la curva del alimento de referencia (glucosa)}} \times 100 \quad (4)$$

Las medias resultantes para todos los voluntarios representaban el IG del tratamiento. La carga glucémica (CG) de cada tratamiento se calculó de acuerdo con la Eq. 5 (Scazzina *et al.*, 2016):

$$CG \text{ del alimento} = \frac{\left(\frac{\text{Índice glucémico del alimento}}{100}\right) \left(\frac{\text{Carbohidratos por porción de alimento (100g)}}{100}\right)}{100} \quad (5)$$

Usando glucosa como un alimento estándar (IG glucosa = 100) el IG de un alimento es clasificado como bajo (≤ 55), medio (56-69) y alto (≥ 70), y la CG puede clasificarse como baja (≤ 10), media (11-19) y alta (≥ 20) (Atkinson *et al.*, 2008).

5.11 Determinación de ácidos grasos

El perfil de ácidos grasos de las muestras se determinó con la metodología de Añorve-Morga *et al.* (2015). Para la extracción de los ácidos grasos, se colocaron 2 g de muestra seca en 5 mL de una mezcla de cloroformo-metanol (2:1 v/v); y se mantuvieron en extracción durante 72 h.

La extracción y transesterificación de los ácidos grasos se llevó a cabo tomando a 500 µL del extracto lipídico obtenido en cada muestra, se adicionó 1 mL de BF₃ en metanol. Cada extracto fue purificado mediante un lavado con hexano y dos veces más con agua saturada de hexano.

El extracto lipídico purificado se concentró con N₂ hasta sequedad y se adicionó ácido tricosanoico (C23:0) (Sigma T-6543, Merck, Alemania) como estándar interno en cada una de las muestras.

Para la cuantificación el extracto se resuspendió en 0.5 mL de diclorometano y fue inyectado en un cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de flama (Perkin Elmer®, Autosystem XL, USA) y una columna capilar de sílica (Supelco SPTM-2560) de 75 m x 0.18 mm, 0.14 µm. Se inyectó 1 µL de extracto en modo splitless. Fue utilizado N₂ grado cromatográfico como gas acarreador a una tasa de flujo de 1 mL min⁻¹. Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 230°C y 250°C respectivamente.

El gradiente de temperatura utilizado fue: 150°C de temperatura inicial, incrementando 4°C min⁻¹ hasta 214°C, tiempo de reposo de 2 min. Posteriormente, se incrementó 2.5 °C min⁻¹ hasta 244°C manteniéndose finalmente por 5 min. La identificación de los esteres metilados se compararon con los tiempos de retención con una mezcla de estándares (FAME Mix C4-C24, Supelco®). Las muestras fueron analizadas por triplicado.

5.12 Diseño experimental (ortogonal de Taguchi)

El diseño de Taguchi es un método estadístico creado por Genichi Taguchi para investigar el efecto de diferentes factores en el desarrollo de las condiciones de un sistema de operación. El método de Taguchi utiliza un arreglo ortogonal que ofrece la oportunidad de reducir el número de tratamientos (Kumar *et al.*, 2015).

Para el análisis estadístico de este diseño de experimento se realizó el ANOVA ($p > 0.05$) de cada uno de los factores, para observar su nivel de significancia y su porcentaje de contribución.

En esta investigación se utilizó un arreglo L_{16} (2x5) en el diseño ortogonal de Taguchi para elegir las formulaciones óptimas de la masa para pan tipo danés (croissant) libre de gluten con harina de papa roja en su elaboración.

Los factores se seleccionaron de acuerdo con la composición de la harina compuesta, que sustituyeron a la harina de trigo, los cuales fueron: la harina de arroz, almidón de maíz, almidón de mandioca, almidón de papa, además del tipo de materia grasa.

Las variables de respuesta que tienen mayor incidencia en las características del producto se seleccionaron tomando como criterios seleccionados *nominal-es-mejor*, *menor-es-mejor* y/o *mayor-es-mejor*.

Las variables de respuesta utilizadas para la optimización de la masa libre de gluten se basaron en los ensayos de análisis de perfil de textura, extensibilidad y el contenido de grasa (en pan). Los valores que se buscaron fueron: más bajos para los parámetros de dureza (N), adhesividad (mJ) y contenido de grasa (g/100 g), y más altos para los parámetros de cohesividad, elasticidad y extensibilidad (mm).

Estos factores determinarán en una escala de: “*menor es mejor*” o “*mayor es mejor*”, cuál es la formulación óptima, a partir de las interacciones obtenidas entre los factores de ajuste que son elegidos para realizar el experimento (Balki *et al.*, 2016). En esta investigación se utilizó un diseño ortogonal de Taguchi con un arreglo L_{16} (2x5) de 2 niveles y 5 factores (Tabla 5).

Tabla 5. Factores, niveles y códigos del diseño experimental Taguchi L₁₆ (2x5).

Factores	Niveles		Códigos	
Harina de arroz (Ha)	32% harina de arroz	32% harina de papa roja	+	-
Almidón de maíz (AMz)	27% almidón de maíz	27% harina de papa roja	+	-
Almidón de mandioca (AMa)	20.5% almidón de mandioca	20.5% harina de papa roja	+	-
Almidón de papa (Ap)	17% almidón de papa	17% harina de papa roja	+	-
Tipo de materia grasa (G)	Margarina comercial	Sustituto de grasa comercial	+	-

La Tabla 6 muestra la matriz de los tratamientos del diseño experimental del arreglo ortogonal de Taguchi L₁₆ (2x5). Con base en la codificación (Tabla 5), se muestran las distintas combinaciones.

Las variables de respuesta establecidas en el experimento consisten en el análisis de perfil de textura y extensibilidad de la masa y el contenido de grasa del pan, donde el criterio establecido para los parámetros de dureza, adhesividad y contenido de grasa fue “*menor es mejor*”, y para los parámetros de cohesividad, elasticidad y extensibilidad se estableció el criterio de “*mayor es mejor*”.

Tabla 6. Diseño ortogonal de Taguchi de arreglo L₁₆ (2x5)

Tratamiento	Ha	AMz	AMa	Ap	G
1	+	+	+	+	+
2	+	+	+	-	-
3	+	+	-	+	-
4	+	+	-	-	+
5	+	-	+	+	-
6	+	-	+	-	+
7	+	-	-	+	+
8	+	-	-	-	-
9	-	+	+	+	-
10	-	+	+	-	+
11	-	+	-	+	+
12	-	+	-	-	-
13	-	-	+	+	+
14	-	-	+	-	-
15	-	-	-	+	-
16	-	-	-	-	+

Ha: harina de arroz, AMz: almidón de maíz, AMa: almidón de mandioca, Ap: almidón de papa, G: tipo de materia grasa

Los factores de ajuste seleccionados fueron las harinas y/o almidones utilizados en el sustituto de harina de trigo (harina compuesta libre de gluten), los cuales se sustituyeron por harina de papa roja. Otro factor de ajuste fue el tipo de materia grasa utilizada, donde se utilizó margarina y sustituto de grasa de naturaleza lipídica. Una vez realizado el análisis estadístico del diseño experimental se eligieron las formulaciones óptimas.

5.13 Análisis estadístico

Se utilizó el software *Minitab*® 16.1.0, para establecer el diseño ortogonal de Taguchi de arreglo L₁₆ (2x5), en el que se realizó el análisis de los resultados en base a cada factor y posteriormente, de acuerdo con los criterios de “*mayor es mejor*” y “*menor es mejor*” se obtuvieron los gráficos de respuesta. Simultáneamente, se realizó el ANOVA con un nivel de significancia del 5%

($p < 0.05$) para estimar los porcentajes de contribución de cada factor y los niveles de significancia. En los demás experimentos realizados se utilizó el análisis de varianza ANOVA en la fase experimental con una confiabilidad del 95%. Las medias se compararon mediante la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p < 0.05$) mediante el uso de software Minitab® 16.1.0 para encontrar diferencias significativas.

VI. Resultados y discusiones

6.1 Análisis químico proximal de harina de papa roja (*Oxalis tuberosa*)

Los resultados del análisis químico proximal de la harina papa roja y otros tubérculos se muestran en la Tabla 7. Donde se observa que el valor nutrimental es similar en los 4 tubérculos. El contenido proteico de la harina de papa roja es de 3.70 g/100 g, que si es utilizado en la elaboración de pan libre de gluten puede conferirle ciertas propiedades viscoelásticas. Tiene además un contenido de cenizas de 4.02 g/100g que representan los micronutrientes del tubérculo y de los cuales pueden encontrar calcio, fósforo, magnesio, hierro; de acuerdo a estudios de León *et al.*, (2011). El contenido de grasa es de 0.51 g/100 g y de fibra dietética 2.23 g/100 g. El contenido de carbohidratos 80.76 g/100 g, donde, según datos de Barrera *et al.*, (2004) la mayor parte corresponde a almidón y el resto a carbohidratos más simples. Finalmente el aporte calórico es de 342 kcal/100 g.

6.2 Análisis de perfil de textura y extensibilidad de la materia prima

La Tabla 3 muestra los resultados del APT y extensibilidad realizados a materia prima utilizada para la elaboración de la masa libre de gluten. La mayor dureza está en la harina de papa roja (9.36 N) seguido de la harina de arroz (4.74 N). Los almidones presentaron una menor dureza siendo el de mandioca la menor (2.18 N).

Este efecto puede deberse a que los almidones por si solos tiene una mayor interacción con el hidrocoloide utilizado en la elaboración de la masa lo que incrementa su suavidad, aunque además lo convierte en un material gomoso.

En la adhesividad, la masa elaborada con harina de papa roja fue más adhesiva que las demás, donde las que fueron elaboradas con almidones mostraban además una resequedad casi instantánea en la superficie. Por el contrario, las masas con harinas (papa roja y arroz) que tenía una mayor apariencia húmeda en la superficie. La mayor cohesividad fue observada en la masa con harina de papa roja con un 0.474.

Tabla 7. Análisis químico proximal de harina de papa roja (*Oxalis tuberosa*) y otros tubérculos

Tubérculo	Humedad*	Proteína*	Cenizas*	Grasa*	Fibra*	Carbohidratos asimilables*	Contenido energético (kcal/100g)
Papa roja (<i>Oxalis tuberosa</i>)	8.78±0.70 ^b	3.70±0.06 ^b	4.02±0.10 ^b	0.51±0.02 ^b	2.23±0.06 ^b	80.76±0.77 ^a	342
Camote amarillo (<i>Ipomoea batatas</i>)	8.97±0.56 ^{ab}	4.19±0.04 ^a	4.41±0.18 ^a	1.30±0.04 ^a	2.76±0.10 ^a	78.38±0.70 ^b	342
Papa cambray (<i>Solanum tuberosum</i>)	10.32±0.29 ^a	4.94±0.11 ^a	3.97±0.03 ^b	0.20±0.02 ^c	1.65±0.02 ^c	78.92±0.24 ^b	338
Papa blanca (<i>Solanum tuberosum</i>)	10.35±0.63 ^a	4.85±0.20 ^a	4.64±0.11 ^a	0.15±0.02 ^c	1.62±0.07 ^c	78.39±0.51 ^b	333

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba *Tukey*.

El contenido energético se determinó tomando como base 4 kcal por gramo de carbohidratos, 4 kcal por gramo de proteína y 9 kcal por gramo de grasa. * g/100 g de materia seca.

Las masas hechas con los otros tipos de materia prima mostraron una reducción del 50% de la cohesividad, por lo que puede observarse que las masas elaboradas con harina de papa roja son más cohesivas y mantienen algunas propiedades viscoelásticas. Mientras que las masas elaboradas con almidones tienen un comportamiento de fluido dilatante, comportándose como un sólido cuando es sometido a una fuerza constante y como un líquido cuando la fuerza de deformación es retirada y está en reposo. En el parámetro de elasticidad se presentó un comportamiento similar relacionado con la cohesividad.

La extensibilidad, es definida como la máxima extensión de la masa hasta la ruptura, mostró que las masas elaboradas con almidones presentaron una mayor extensibilidad, donde, el almidón de mandioca mostró la mayor (18.85 mm).

En los almidones puede verse la influencia del hidrocoloide que infiere a las masas más fuerza de extensión. Por el contrario, la masa elaborada con harina de papa roja reflejó la menor extensibilidad (9.92 mm). De lo anterior puede concluirse que la materia prima por separado tiene diversas características que pueden tener algunos inconvenientes en la elaboración de un producto de panificación. Por ejemplo, la poca cohesividad de las elaboradas con almidones es complementada con la harina de papa roja que mostró la cohesividad más alta, además que si se requiere obtener un producto que no requiera molde, las fuerzas internas que mantienen la estructura deben ser estables y continuas, de lo contrario el producto perderá su forma al final del proceso.

Otro aspecto importante es la extensibilidad, que de acuerdo con estudios de Dobraszczyk *et al.*, (2008), la calidad de la masa determina las propiedades del producto final. Existe una correlación positiva entre parámetros como extensibilidad y el volumen del producto final.

Utilizando esta predicción puede visualizarse como es el comportamiento interno de la estructura y si además de mantenerse estable, existe una interacción con los componentes de las mismas. Por ello, es importante que en la formulación de productos libres de gluten la formulación de una harina compuesta que actúe en sinergia con todos los componentes con el objetivo de obtener un producto de calidad, sin descuidar el valor nutricional del mismo.

Tabla 8. Análisis de perfil de textura y extensibilidad de la materia prima

	Análisis de perfil de textura				Extensibilidad (mm)
	Dureza (N)	Adhesividad (mJ)	Cohesividad	Elasticidad	
Harina de papa roja	9.36±0.10 ^a	0.670±0.02 ^a	0.474±0.01 ^a	0.5±0.00 ^a	9.92±0.07 ^e
Harina de arroz	4.74±0.10 ^b	0.01±0.01 ^b	0.178±0.01 ^d	0.2±0.00 ^c	16.09±0.05 ^d
Almidón de maíz	4.14±0.09 ^c	0.02±0.00 ^b	0.116±0.01 ^e	0.3±0.00 ^b	18.35±0.06 ^b
Almidón de mandioca	2.18±0.02 ^d	0.02±0.00 ^b	0.209±0.01 ^b	0.3±0.00 ^b	18.85±0.03 ^a
Almidón de papa	2.31±0.12 ^d	0.01±0.00 ^b	0.196±0.01 ^c	0.3±0.00 ^b	16.39±0.12 ^c

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba *Tukey*. Se adicionó el 2% de hidroxipropilmetilcelulosa (Wellence Gluten Free, DOW Chemical Pharma & Food Solutions, Alemania), para la formación de la masa.

6.3 Análisis de perfil de textura y extensibilidad de la masa del estándar

Los resultados del análisis de perfil de textura y extensibilidad de las masas para pan tipo danés elaboradas con trigo y libres de gluten son mostrados en la Tabla 9, estas formulaciones se utilizaron como estándares en el desarrollo de la investigación. Se observó que la dureza de las masas libres de gluten es mayor que las elaboradas con trigo, teniendo que la masa de GFCCG es la de mayor dureza (14.66 N).

La dureza presente en las masas ayuda a proyectar la dureza que tendrá el producto final. Además la cohesividad de las masas elaboradas con harina trigo de trigo (TTR, TTRS) es mayor comparadas con las masas libres de gluten (GFCCG, GFSG). La masa con la mayor cohesividad, es la de TTR (0.784).

La cohesividad en las masas es un parámetro que indica la esponjosidad que puede ser pronosticada en el producto final, así como el desarrollo estable de la estructura interna. La adhesividad de las masas que se define como la fuerza de adherencia con la superficie de contacto, donde, la masa de GFCCG tuvo la menor adhesividad (1.49 mJ), causada por la formulación libre de gluten y el tipo de materia grasa utilizado.

En el parámetro de elasticidad, el uso del sustituto de grasa en la elaboración de masas para pan tipo danés aumentó el índice de elasticidad. Esto representa que las masas tienden a conservar una mayor cohesión en su estructura, y pudiera proyectar mayor estabilidad al momento de la fermentación y horneado del producto.

Datos comparables en el parámetro de dureza se encuentran en un estudio realizado por Brites *et al.* (2010), quienes realizaron pan libre de gluten a base de maíz encontrando valores en promedio de 24.5 N para la dureza de la masa sin la incorporación de aditivos, mostrando que sin su uso son obtenidas masas duras. El desarrollo de los productos libres de gluten implica el uso de fuentes alternas al trigo, cebada, centeno, triticale y en ocasiones avena, como lo son harinas y/o

féculas de maíz, yuca, papa, sorgo, arroz, pseudocereales, harinas pregelatinizadas, gomas e hidrocoloides que solas o mezcladas han servido de parámetro inicial en la elaboración de productos de panificación libres de gluten (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010; Demirkesen *et al.*, 2010; Cappa *et al.*, 2013).

La extensibilidad, mostró que las masas libres de gluten son menos extensibles que las elaboradas con trigo, esto debido al gluten, el cual confiere a las masas con trigo las propiedades viscoelásticas (Buresova *et al.*, 2016).

Los resultados muestran que las masas elaboradas con harina de trigo incrementan la extensibilidad en un 300% comparadas con las masas libres de gluten. La masa con mayor extensibilidad es la TTR (32.92 mm) y la de menor extensibilidad fue GFSG (10.15 mm). Puede apreciarse además que las masas libres de gluten son muy quebradizas, lo que puede resultar en una deficiente estructura en la miga del producto final. Estudios realizados por Al-Saleh & Brennan (2012), mostraron que la extensibilidad de masas elaboradas con harina de trigo débil, tienen un intervalo de 12 a 20 mm, lo que puede relacionarlas con las masas libres de gluten (GFCG, GFSG).

6.4 Análisis de perfil de textura y contenido de grasa del pan del estándar

La Tabla 10 muestra los resultados del análisis de perfil de textura y contenido de grasa del pan tipo danés de los estándares. Se muestra que, para el APT, la dureza es mayor en los productos libres de gluten, encontrando el GFCG con la mayor dureza (15.49 N) y el TTR con la menor (8.78 N), que en términos sensoriales es considerado como el producto más suave. La cohesividad de TTRS (0.250) es la menor, comparada con GFSG (0.502) que mostró la mayor cohesividad. En este parámetro, la corteza de TTRS no permite apreciar la esponjosidad del producto, a causa de las fracturas visibles en la corteza. Sin embargo, una de las características de un pan tipo danés de calidad se determina por una corteza crujiente y una miga suave.

Tabla 9. Análisis de perfil de textura y extensibilidad de masas para pan tipo danés (croissant)

Tratamientos	Análisis de perfil de textura				Extensibilidad (mm)
	Dureza (N)	Cohesividad	Adhesividad (mJ)	Elasticidad	
TTR	5.17±0.13 ^c	0.784±0.02 ^a	2.09±0.09 ^a	0.8±0.05 ^a	32.92±0.24 ^a
TTRS	3.82±0.06 ^d	0.665±0.01 ^b	1.73±0.03 ^b	0.9±0.00 ^a	30.85±0.26 ^b
GFCG	14.66±0.31 ^a	0.224±0.01 ^d	1.49±0.12 ^c	0.3±0.05 ^c	10.88±0.12 ^c
GFSG	9.25±0.10 ^b	0.346±0.02 ^c	1.73±0.08 ^b	0.5±0.00 ^b	10.15±0.05 ^{cd}

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba *Tukey*.

TTR: Trigo con margarina

TTRS: Trigo con sustituto de grasa

GFCG: Libre de gluten con margarina

GFSG: Libre de gluten con sustituto de grasa

Por contraparte, la alta cohesividad de los productos libres de gluten puede confundirse con el efecto gomoso que otorga el hidrocoloide utilizado en la elaboración del pan. Relacionado con la dureza del pan, la masticabilidad se incrementó en los productos libres de gluten, encontrando en GFCG (37.36 mJ) la mayor masticabilidad, por ende requerirá un mayor esfuerzo para masticarse y deglutirse, por el contrario, TTRS (9.76 mJ) mostró la menor masticabilidad.

La determinación del contenido de grasa de los panes mostró que los productos elaborados con margarina (TTR y GFCG) tienen el mayor contenido etéreo con 17.14% y 15.21% respectivamente. Por otra parte los panes elaborados con el sustituto de grasa presentaron una disminución del contenido de grasa con TTRS (14.29%) y GFSG (13.75%) encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras. Este último parámetro indica que el uso del sustituto de grasa en la formulación original cumple con el objetivo de la disminución del contenido graso.

En general para los productos de panificación, la dureza o firmeza es considerada como uno de los parámetros de calidad más importantes para producto terminado, ya que esta correlacionado inversamente con la vida de anaquel del producto (Dobraszczyk & Salmanowicz, 2008).

De acuerdo con estudios realizados por Mohammadi *et al.* (2014) y Ziobro *et al.* (2013) la dureza sigue un comportamiento lineal al aumentar más de un 200% desde su medición inicial hasta las 72h, por lo que su vida útil es relativamente corta. De hecho uno de los objetivos en la elaboración de pan libre de gluten es el obtener una dureza inicial baja para que aumente la vida de anaquel del producto.

Con este objetivo existen estudios donde se realizan distintos tipos de harinas compuestas libres de gluten como Onyango *et al.* (2011) quien encontró que una mezcla de almidón de tapioca y harina de sorgo producen un producto más suave comparado con otras mezclas.

Tabla 10. Análisis de perfil de textura y contenido de grasa de pan tipo danés (croissant)

	Análisis de perfil de textura				Contenido de grasa
	Dureza (N)	Cohesividad	Elasticidad	Masticabilidad (mJ)	g/100g mf*
TTR	8.78±0.09 ^d	0.408±0.02 ^c	0.7±0.00 ^b	15.86±0.14 ^c	17.14±0.05 ^a
TTRS	9.82±0.24 ^c	0.250±0.01 ^d	0.7±0.00 ^b	9.76±0.12 ^d	14.29±0.10 ^c
GFCG	15.49±0.01 ^a	0.444±0.01 ^b	0.8±0.00 ^a	37.36±1.28 ^a	15.21±0.15 ^b
GFSG	14.77±0.10 ^b	0.502±0.02 ^a	0.8±0.00 ^a	22.51±0.08 ^b	13.75±0.13 ^d

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba *Tukey*.

* mf: materia fresca

TTR: Trigo con margarina

TTRS: Trigo con sustituto de grasa

GFCG: Libre de gluten con margarina

GFSG: Libre de gluten con sustituto de grasa

6.5 Relación entre los parámetros del análisis de perfil de textura en masas y pan

De manera técnica, la masa es transformada en pan una vez aplicado un tratamiento térmico (horneado) por circulación de aire caliente. Los resultados de los ensayos reológicos en masa y pan muestran la relación que existe en el parámetro de dureza (Fig. 3), donde se observa que en todos los tratamientos existe un incremento en la dureza de masa a pan. El incremento más significativo fue TTRS aunque como fue mencionado anteriormente, este tratamiento tiene fracturas en la corteza, siendo además un producto ligeramente crujiente. El incremento de dureza en la transformación de masa-pan es causada por deshidratación de la corteza durante el horneado. Se aprecia además que los tratamientos libres de gluten (GFCG, GFSG) incrementan su dureza comparados con los productos de trigo (TTR, TTRS)

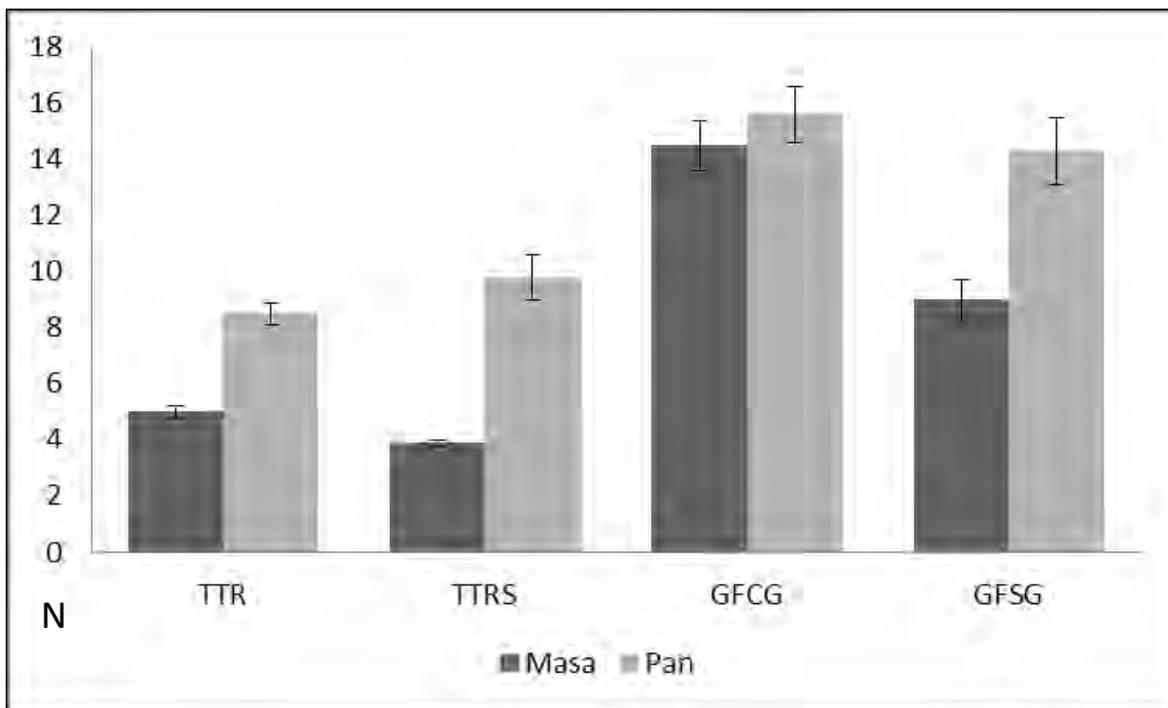


Figura 5. Relación del parámetro de dureza (N) de masa-pan

En el parámetro de cohesividad (Fig. 6) existe un comportamiento inverso entre los productos de trigo y los productos libres de gluten. En los productos elaborados con trigo (TTR y TTRS), la cohesividad disminuye. Mientras que en los

productos libres de gluten (GFCG y GFSG) existe un aumento en la cohesividad del producto terminado respecto a la masa. En el segundo caso puede hacerse una atribución a que una vez formada la estructura del producto, el hidrocoloide aporte cierto efecto de gomosidad en el pan.

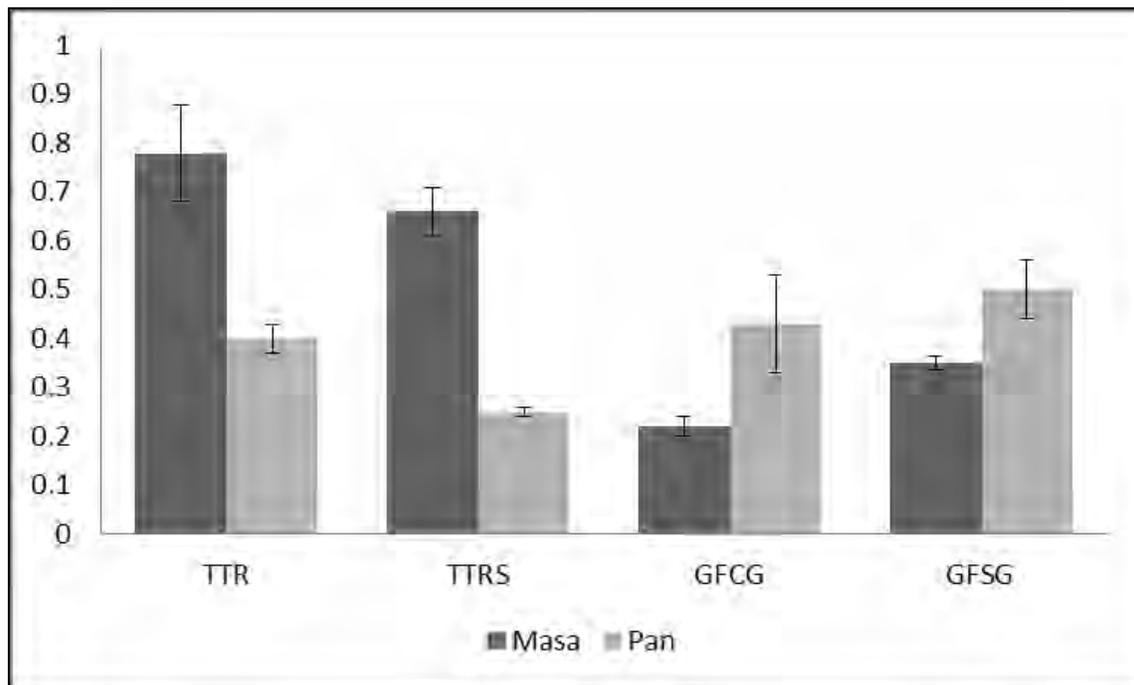


Figura 6. Relación del parámetro de cohesividad de masa-pan

En el parámetro de elasticidad (Fig. 7) existe un comportamiento similar al parámetro de cohesividad, entre los productos de trigo y los libres de gluten. En los productos elaborados con trigo (TTR y TTRS), la elasticidad disminuye, mientras que en los productos libres de gluten (GFCG y GFSG) incrementa la elasticidad del producto terminado respecto a la masa.

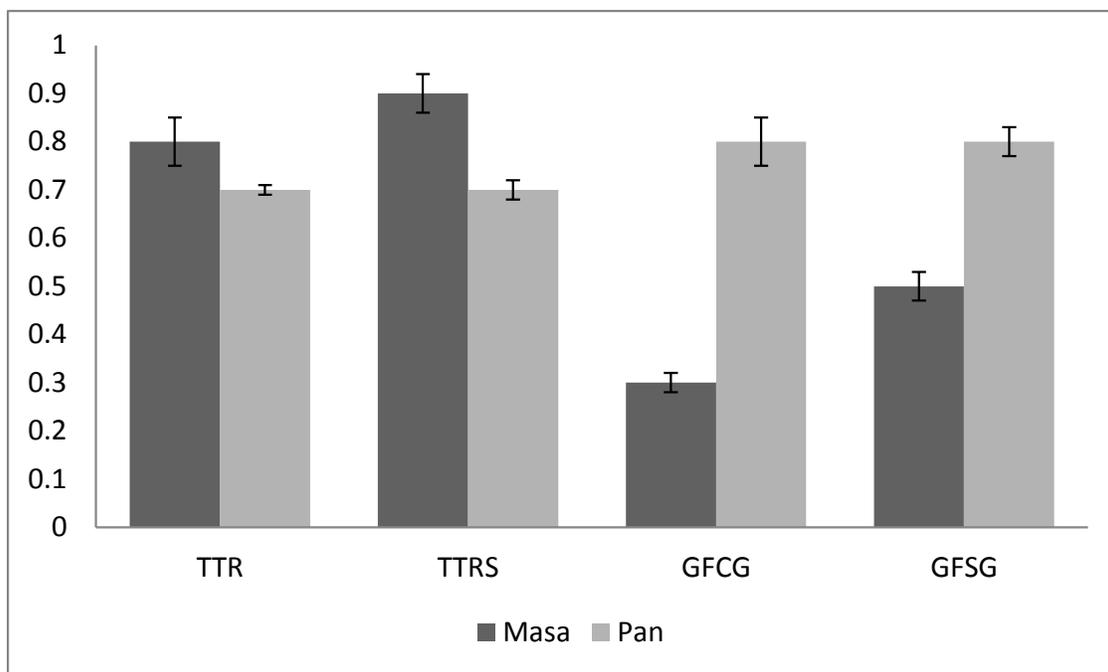


Figura 7. Relación del parámetro de elasticidad de masa-pan

6.6 Volumen específico y pérdida de peso por horneado del estándar

Entre los tratamientos, el volumen específico disminuyó en los panes libres de gluten y en consecuencia la pérdida de peso de cocción aumentó (Tabla 11). El contenido de agua presente en la masa, ayuda a la formación de la estructura de la miga durante el horneado, que junto con la fermentación dan volumen al pan a través de la generación de CO₂ y vapor (Onyango *et al.*, 2011). Sin embargo, en los productos libres de gluten (GFCG, GFSG), es formado un gel que es sólo termoestable durante un tiempo corto y no permite la retención de agua en la estructura final, lo que resulta en un pan más seco, además de no permitir una expansión en el pan (Demirkesen *et al.*, 2010).

Tabla 11. Volumen específico y pérdida de peso por horneado de pan tipo danés (croissant)

	Volumen específico (cm ³ /g)	Pérdida de peso por horneado (%)
TTR	4.59±0.05 ^a	14.75±0.82 ^c
TTRS	4.01±0.05 ^a	14.25±0.96 ^c
GFCG	2.40±0.05 ^b	17.25±0.58 ^b
GFSG	1.99±0.03 ^c	26.00±0.58 ^a

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba *Tukey*
TTR: Trigo con margarina
TTRS: Trigo con sustituto de grasa
GFCG: Libre de gluten con margarina
GFSG: Libre de gluten con sustituto de grasa

6.7 Color de miga y corteza del estándar

El color es un factor importante para la aceptación del producto por parte del consumidor. La Tabla 12 muestra los resultados del color de la miga y la corteza. El color de la miga, muestra una alta luminosidad L^* influenciada por el color de las harinas y almidones. Mientras que el parámetro b^* (+ b = amarillo, - b =azul) se mostró ligeramente afectado por el uso de del sustituto de la materia grasa.

En el color de la corteza, los valores de b^* mostraron el color dorado característico del pan (Cappa *et al.*, 2013). Los valores altos del parámetro b^* se muestra en todos los tratamientos, por lo que el uso de sustituto de materia grasa o la harina libre de gluten no afecta el color dorado de la corteza. En la Fig. 8 puede observarse el color de la miga y corteza de los tratamientos que corresponde al sistema $L^*a^*b^*$, utilizando el color converter a CIELAB.

Tabla 12. Color de la miga y la corteza de pan tipo danés (croissant)

	Color de miga			Color de corteza		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
TTR	93.68±0.30 ^a	-1.53±0.05 ^a	8.73±0.02 ^c	76.28±0.76 ^c	-3.80±0.61 ^a	41.45±1.15 ^b
TTRS	87.33±0.05 ^c	-6.38±0.17 ^d	22.30±0.05 ^a	81.48±1.37 ^a	-4.10±0.14 ^a	37.73±1.02 ^c
GFCG	91.15±0.19 ^b	-5.30±0.80 ^b	21.85±0.07 ^a	79.50±0.32 ^b	-5.25±0.17 ^b	52.60±0.64 ^a
GFSG	87.40±0.39 ^c	-6.00±0.16 ^c	17.43±0.03 ^b	78.98±0.57 ^b	-3.90±0.22 ^a	39.65±0.61 ^b

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba *Tukey*

TTR: Trigo con margarina

TTRS: Trigo con sustituto de grasa

GFCG: Libre de gluten con margarina

GFSG: Libre de gluten con sustituto de grasa

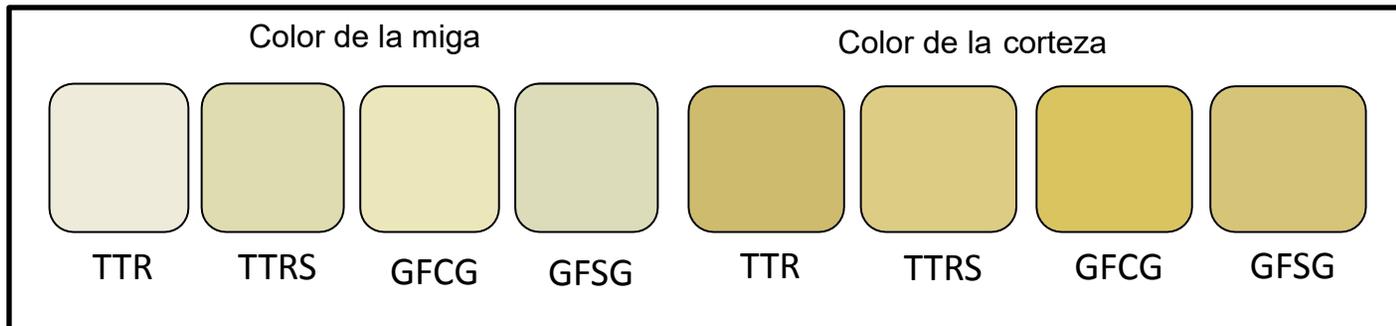


Figura 8. Color de la miga y corteza de los tratamientos que corresponde al sistema L*a*b*

6.8 Estructura de la miga del estándar

En la evaluación de la estructura de la miga, mostró un índice de correlación $r=0.90$ entre el área de las celdas y la fase dispersa (Tabla 13), además de encontrarse diferencias significativas entre los tratamientos ($p<0.05$).

La fase dispersa muestra la cantidad de aire retenida en la estructura de la miga (Farrera-Rebollo *et al.*, 2012), y está relacionada con la esponjosidad y volumen del pan. La fase sólida de la masa danesa se forma alternando capas de masa y materia grasa, dando como resultado una estructura de celdas alargadas, una miga abierta y no uniforme (Renzetti *et al.*, 2016).

TTR y TTRS mostraron la estructura característica del pan danés (Fig. 9a-9b) con un porcentaje de fase dispersa de 55.01 y 45.03%, respectivamente, que está relacionado directamente con el volumen específico.

GFCG y GFSG (Fig. 9c-9d) mostraron un porcentaje de fase dispersa de 39.35 y 32.64%, respectivamente, donde, la ausencia de gluten no permitió la formación de una estructura definida, obteniendo migas más compactas y no uniformes, similares a miga de panque (Farrera-Rebollo *et al.*, 2012).

Ha sido estudiado que el número y la uniformidad de las células en la estructura del pan sin gluten afecta directamente la textura y la vida útil del pan (Demirkesen *et al.*, 2014). La relación entre el área promedio de las celdas, la densidad de celdas por cm^2 y el % de fase dispersa (aire), que pueden ser apreciados utilizando el algoritmo de Otsu, que permite visualizar el contraste de fases al establecer un algoritmo binario donde la imagen se divide en dos fases (continua y dispersa). Cada fase de contraste de acuerdo a una escala de grises inicial se definirá si pertenece a la fase continua (color negro) o a la fase dispersa (blanco), lo cual permite finalmente un contraste claro y definido.

Estos parámetros definen finalmente la estructura del producto, que a su vez es derivada de la composición de la materia prima y el procesamiento (Scanlon *et al.*, 2001). En los panes libres de gluten (GFCG, GFSG) existe un cambio sustancial

en la estructura de la miga, que puede mejorarse con el uso de fuentes alternas a las convencionales.

Hager *et al.* (2012) realizaron una comparación de la estructura de pan libre de gluten de diferentes orígenes y la compararon con su contraparte de trigo, encontrando que el pan hecho con avena era el que presentaba una estructura similar al trigo; sin embargo, estos panes se elaboraron con una pasta y no con masa, lo que cambia las propiedades del producto. Se demostró que el tamaño de celda promedio tenía un índice de correlación ($r=0.88$) con respecto al volumen específico del pan, donde un tamaño de celda mayor reflejaba un aumento de volumen en el producto.

El tamaño promedio de las celdas es afectado por los enlaces internos formados en la masa, que son limitados. Lo cual no permite la expansión de pan, producida por el vapor y el CO_2 de la fermentación. Estas propiedades pueden mejorarse mediante el uso adecuado de hidrocoloides, que tienen como finalidad evitar las fracturas en el producto, al aumentar la extensibilidad de la masa, formar una estructura más estable y retrasar la retrogradación del pan para aumentar su vida de anaquel (Mohammadi *et al.*, 2014, Demirkesen *et al.*, 2014).

Tabla 13. Estructura de la miga de pan tipo danés (croissant)

	Área celdas (mm ²)	Área promedio de las celdas (mm ²)	Densidad de celdas por cm ²	% Fase dispersa (aire)
TTR	66.52±0.24 ^a	8.25±0.03 ^a	8.00±0.00 ^d	55.01±0.39 ^a
TTRS	54.89±1.97 ^b	5.31±0.23 ^b	10.33±0.58 ^c	45.03±2.11 ^b
GFCG	47.82±1.83 ^c	4.22±0.14 ^c	11.33±0.57 ^b	39.35±1.87 ^c
GFSG	39.83±1.46 ^d	3.06±0.11 ^d	13.00±0.00 ^a	32.64±1.24 ^d

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba *Tukey*

TTR: Trigo con margarina

TTRS: Trigo con sustituto de grasa

GFCG: Libre de gluten con margarina

GFSG: Libre de gluten con sustituto de grasa

Área total: 4 cm²

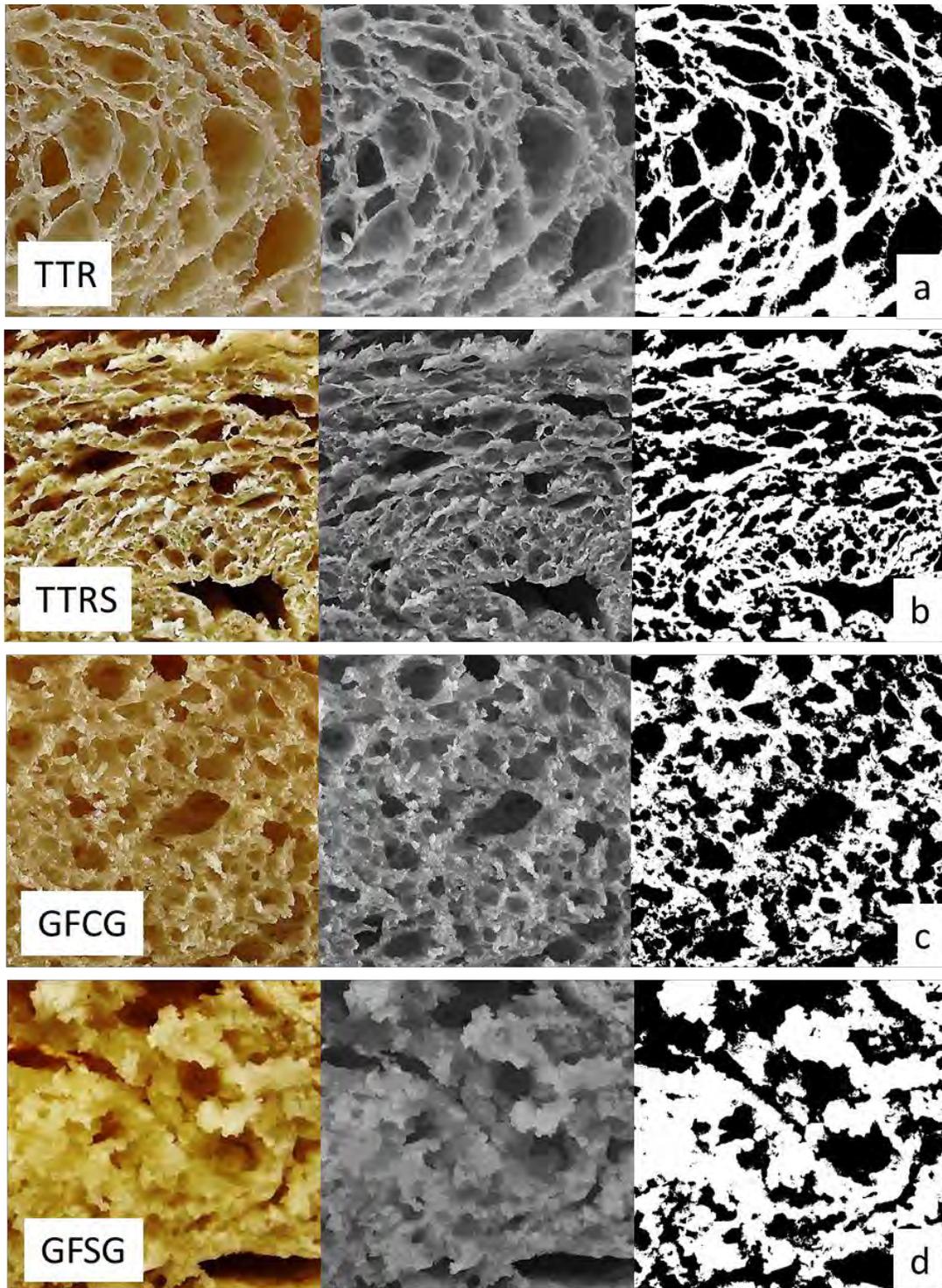


Figura. 9 Imágenes de la miga en color, escala de grises y visualización con el algoritmo de Otsu de los tratamientos. a) TTR muestra los alveolos característicos del pan danés siendo alargados y ovalados. b) TTRS muestra una estructura más compacta pero ordenada causada por el tipo de materia grasa utilizada. c) GFCG muestra que no se conserva la estructura del control, sin embargo la miga es definida y con pequeños alveolos y d) GFSG muestra que al sustituir el tipo de grasa y la ausencia de gluten en pan tipo danés la estructura colapsa.

6.9 Diseño ortogonal de Taguchi y obtención de la formulación óptima

La Tabla 14 muestra los tratamientos del diseño experimental y los resultados de las variables de respuesta del arreglo ortogonal de Taguchi. Para el parámetro de dureza, que en términos de textura es definida como la fuerza necesaria para la deformación del producto (Bourne, 2002). Los tratamientos 4, 6, 7, 10, 11, 13 y 16, que se elaboraron con margarina, presentaron mayor dureza que los tratamientos elaborados con sustituto de grasa. El tratamiento 1 tuvo la mayor dureza (14.66 N), este tratamiento además no contenía harina de papa roja. Otro tratamiento que tiene una dureza por encima del promedio es el tratamiento 16, que se elaboró con 100% de harina de papa roja.

Por otra parte, los tratamientos 2, 3, 5, 8, 9, 12, 14 y 15 mostraron una dureza menor, siendo el tratamiento 9 el de menor dureza (1.79 N). De acuerdo con estos resultados, la margarina, por su contenido de grasa saturada (38%), tiene un comportamiento de fluido plástico y eso le otorga más dureza al producto, comparada con las que tienen sustituto de grasa. En estudios realizados por Renzetti *et al.*, (2016) se demostró que, en la elaboración de masas laminadas, aquellas que tenían un contenido de grasas saturadas mayor al 46% del contenido de grasa total, mostraron una mejor respuesta al proceso de laminado y una estructura más estable en la miga. Además, se encontró que existe una correlación entre una correcta distinción de las capas de grasa y masa con la expansión del producto final y la estructura de la miga.

Los resultados de adhesividad (Tabla 3) fueron mayores en los tratamientos que contienen harina de arroz (1, 4, 6, 7 y 8), siendo el 1 el que tuvo la mayor adhesividad (1.47 mJ) y el 14 el que presentó menor valor, el cual contiene 76% de harina de papa roja. El parámetro de adhesividad es importante ya que se define como el trabajo necesario para vencer la fuerza de atracción entre la muestra y una superficie de contacto. Este comportamiento puede deberse a que los gránulos de almidón de la harina de arroz son más pequeños en comparación

con los demás componentes de la harina compuesta, lo que genera a su vez una mayor superficie de contacto y una mayor adhesión (Bourne, 2002).

Mir et al., (2016) observaron que el uso de hidrocoloides en la elaboración de pan libre de gluten, que utiliza harina de arroz como materia prima principal y la adición de hidroxipropilmetilcelulosa, incrementaron la elasticidad y viscosidad de la masa, y además, demostraron que el agua interactúa con los hidrocoloides mediante los puentes de hidrógeno, delimitando así sus características.

Sin embargo, una mayor adhesividad tendría un efecto negativo en la elaboración de una masa danesa en el momento del laminado, lo que provocaría una fusión de las capas y daño en la estructura del producto final.

La cohesividad se define como la fuerza de los enlaces internos que mantienen la estructura de una muestra (Bourne, 2002), y representa la resistencia de un material a una segunda deformación con relación al primer ciclo de deformación. Este parámetro es importante, ya que muestra las propiedades viscoelásticas del material de deformación, en este caso, existe la tendencia de la masa a recuperar su forma original una vez que la fuerza de deformación es retirada.

Los tratamientos 4 y 12 presentaron la mayor cohesividad (0.470), en los cuales, el único almidón que es utilizado es el de maíz, el resto de la composición de la base seca es harina. El tratamiento 4 (32% de harina de arroz y 37.5% de harina de papa roja) y el tratamiento 12 (69.5% de harina de papa roja), al ser en su mayoría harinas nativas, contienen proteínas en su composición, lo que puede causar la formación de enlaces entre péptidos y proteínas que confieran ciertas propiedades viscoelásticas a las masas.

De acuerdo con estudios de Demirkesen et al. (2014), el uso de hidrocoloides, como la hidroxipropilmetilcelulosa, tienen incidencia en este tipo de propiedades, donde mejora la cohesividad de las masas.

Los resultados del parámetro de elasticidad muestran que los tratamientos 8, 9 y 11, que contienen sustituto de grasa y un contenido de harina de papa roja mayor

a 32%, tienen la mayor elasticidad (0.6). La menor elasticidad estuvo en el tratamiento 16, elaborado con 100% de harina de papa roja y margarina.

La elasticidad se define como el índice con el cuál la muestra puede deformarse nuevamente a la distancia establecida (Bourne, 2002), es un parámetro que está relacionado con la cohesividad de la masa, y puede interpretarse como el índice de recuperación de la muestra.

En investigaciones realizadas por Lazaridou et al. (2007), se estudió el efecto de la adición de distintos hidrocoloides sobre las propiedades de textura de pan libre de gluten elaborado con harina de arroz, almidón de maíz y caseinato de sodio como control, mostrando que la goma xantana obtuvo valores más altos de elasticidad comparada con goma agar, encontrando que este hidrocoloide, al ser capaz de absorber agua a bajas temperaturas, incrementa la elasticidad al momento del proceso de mezclado.

La extensibilidad de la masa mide la resistencia a la ruptura por tensión (uniaxial) que tiene la masa. La extensibilidad de la masa está relacionada con la calidad del gluten (en masas de trigo) y con la expansión del producto final (volumen).

Los resultados muestran que los tratamientos 5, 9, 10 y 11, presentaron una extensibilidad mayor a 13.5 mm, con 13.95, 14.59, 13,88 y 14.76 mm, respectivamente. Cabe destacar que el tratamiento 5 es el único que contiene harina de arroz. El tratamiento 8 fue el que mostró un valor de extensibilidad menor (6.9 mm), el cual se elaboró con harina de arroz (32 %) y harina de *Oxalis tuberosa* (64.5 %) sin la adición de ningún almidón.

Sin embargo, al compararse con su contraparte de trigo, aún están lejos del resultado esperado. Las masas de trigo tienden a alcanzar valores de extensibilidad entre 30 y 40 mm. La extensibilidad visualiza la capacidad que tiene la masa de retener aire (en forma de celdas) que formaran la estructura durante el amasado, la fermentación y el horneado, además, en el caso de las masas laminadas permitirá obtener capas uniformes y definidas, lo que se reflejará en el volumen del producto final.

Buresnova et al. (2014) observaron las características reológicas de masas libres de gluten y su efecto en la calidad de pan, elaborado con amaranto, maíz, quínoa y harina de arroz, lo que mostró la correlación que existe entre la extensibilidad y la resistencia a la extensión con el volumen específico ($r=0.86$ y $r=0.98$).

Por último, se muestran los resultados obtenidos en la cuantificación del contenido de grasa de los tratamientos. Los tratamientos 1, 4, 6, 7, 10, 11, 13 y 16 se elaboraron con margarina, mostrando los tratamientos 7 y 13 el mayor contenido de grasa (18.29 y 18.44%, respectivamente). En cambio, los tratamientos 8, 9, 12, y 15 (elaborados con sustituto de grasa) mostraron un menor contenido, con 13.37, 13.45, 13.30 y 13.41% de grasa respectivamente.

Tabla 14. Tratamientos del diseño experimental y los resultados de las variables de respuesta del diseño ortogonal de Taguchi L₁₆ (2x5)

Replica	Factores					Análisis de perfil de textura				Extensibilidad (mm)	Contenido de grasa (g/100g)
	Ha	AMz	AMa	Ap	G	Dureza (N)	Adhesividad (mJ)	Cohesividad	Elasticidad		
TTR						5.17±0.13	2.09±0.09	0.784±0.01	0.8±0.0	32.92±0.24	17.14±0.13
GFSG						9.25±0.10	1.73±0.08	0.346±0.02	0.5±0.0	10.15±0.05	13.75±0.13
1	+	+	+	+	+	14.66±0.31	1.47±0.05	0.352±0.01	0.5±0.00	11.36±0.29	15.21±0.15
2	+	+	+	-	-	2.38±0.10	0.38±0.01	0.364±0.00	0.5±0.00	10.57±0.44	14.45±0.28
3	+	+	-	+	-	1.75±0.03	0.41±0.01	0.37±0.00	0.5±0.00	10.30±0.14	14.52±0.27
4	+	+	-	-	+	4.53±0.17	0.76±0.02	0.474±0.01	0.5±0.00	9.91±0.08	15.39±0.42
5	+	-	+	+	-	1.55±0.03	0.43±0.01	0.375±0.01	0.5±0.00	13.95±0.37	14.71±0.29
6	+	-	+	-	+	4.87±0.15	0.79±0.01	0.431±0.01	0.5±0.00	10.61±0.20	17.32±0.42
7	+	-	-	+	+	5.47±0.21	0.83±0.01	0.415±0.01	0.5±0.00	11.91±0.10	18.29±0.25
8	+	-	-	-	-	1.84±0.06	0.74±0.03	0.432±0.01	0.6±0.00	6.90±0.10	13.37±0.23
9	-	+	+	+	-	1.49±0.07	0.43±0.02	0.414±0.00	0.6±0.00	14.59±0.12	13.45±0.12
10	-	+	+	-	+	4.02±0.07	0.36±0.01	0.353±0.00	0.5±0.00	13.88±0.06	17.49±0.38
11	-	+	-	+	+	3.86±0.05	0.37±0.02	0.352±0.01	0.4±0.00	14.76±0.09	16.34±0.13
12	-	+	-	-	-	1.75±0.03	0.55±0.02	0.475±0.00	0.6±0.00	10.05±0.23	13.30±0.27
13	-	-	+	+	+	3.43±0.03	0.39±0.02	0.394±0.00	0.5±0.00	11.91±0.13	18.44±0.32
14	-	-	+	-	-	1.97±0.04	0.12±0.01	0.349±0.01	0.4±0.00	11.37±0.08	15.55±0.16
15	-	-	-	+	-	2.70±0.08	1.09±0.02	0.356±0.01	0.4±0.00	9.99±0.14	13.41±0.30
16	-	-	-	-	+	9.31±0.07	1.25±0.05	0.252±0.01	0.3±0.00	12.46±0.43	17.64±0.39

TTR: control con trigo, GFSG: control libre de gluten, Ha: harina de arroz, AMz: almidón de maíz, AMa: almidón de mandioca, Ap: almidón de papa, G: tipo de materia grasa.

6.9.1 Análisis de varianza y cálculo de los porcentajes de contribución

Se realizó el ANOVA para cada variable del diseño experimental, con una confiabilidad del 95%, y se obtuvieron los porcentajes de contribución para cada factor (Tabla 15). Puede observarse que, en las variables de dureza y contenido de grasa, el factor de materia grasa muestra diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los niveles, siendo en ambos casos el uso del sustituto de grasa el que asigna mejores características a la masa.

Esto cumple con los criterios establecidos inicialmente al reducir la dureza y el contenido de grasa (“*menor es mejor*”). Por otra parte, para el resto de las demás variables, en los niveles de cada factor no existen diferencias significativas ($p > 0.05$), por lo tanto, el uso de la materia prima de los factores para establecer las formulaciones óptimas debe cumplir con los criterios evaluados de los gráficos de respuesta.

Tabla 15. Niveles de significancia y porcentajes de contribución obtenidos del ANOVA de los factores

Factor	Dureza (N)		Adhesividad (mJ)		Cohesividad		Elasticidad		Extensibilidad (mm)		Contenido de grasa (g/100g)	
	PRC (%)	<i>p</i>	PRC (%)	<i>p</i>	PRC (%)	<i>p</i>	PRC (%)	<i>p</i>	PRC (%)	<i>P</i>	PRC (%)	<i>p</i>
	Ha	6	0.513	16	0.431	57	0.303	31	0.243	30	0.062	2
AMz	1	0.798	9	0.563	18	0.558	31	0.243	6	0.348	10	0.056
AMa	1	0.806	28	0.310	7	0.711	8	0.549	23	0.092	5	0.158
Ap	1	0.742	2	0.764	8	0.688	0	1.000	27	0.070	0.2	0.752
G	92	0.020	45	0.206	10	0.660	31	0.243	13	0.187	84	0.000

HA: harina de arroz, AMz: almidón de maíz, AMa: almidón de mandioca, Ap: almidón de papa, G: tipo de materia grasa. PRC: porcentaje de contribución. *p*: nivel de significancia *Minitab*® 16.1.0

6.9.2 Obtención de las formulaciones óptimas

Una vez analizados los resultados del diseño ortogonal de Taguchi , el análisis de varianza de los factores (Tabla 16) y los gráficos de respuesta (Fig. 10), se procedió a establecer las formulaciones óptimas (Tabla 17) donde fueron elegidas dos formulaciones de harina compuesta libre de gluten, utilizada como sustituto de harina de trigo. La primera compuesta por harina de arroz, harina de *Oxalis tuberosa* y almidón de maíz. La segunda compuesta por harina de *Oxalis tuberosa*, almidón de maíz y almidón de mandioca. En ambos casos, se utilizó el sustituto de grasa comercial.

Tabla 16. Obtención de las formulaciones óptimas de acuerdo al diseño ortogonal de Taguchi L₁₆ (2x5)

Factor	Nivel	Dureza (N)	Adhesividad (mJ)	Cohesividad	Elasticidad	Extensibilidad (mm)	Contenido de grasa (g/100g)	OP1	OP2
Ha	+	4.63	0.72	0.402	0.51	10.69	15.28	+	
	-	3.57	0.57	0.368	0.46	12.38	15.7		-
AMz	+	4.31	0.59	0.394	0.51	11.93	15.02	+	+
	-	3.89	0.7	0.376	0.46	11.14	15.97		
AMa	+	4.29	0.54	0.379	0.50	12.28	15.83		+
	-	3.9	0.75	0.391	0.48	10.79	15.16	-	
Ap	+	4.36	0.68	0.379	0.49	12.35	15.42		
	-	3.83	0.62	0.391	0.49	10.72	15.56	-	-
G	+	6.26	0.78	0.378	0.46	12.10	16.89		
	-	1.93	0.52	0.392	0.51	10.97	14.09	-	-

Ha: harina de arroz, AMz: almidón de maíz, AMa: almidón de mandioca, Ap: almidón de papa. G: tipo de materia grasa. OP1: óptimo 1. OP2: óptimo 2. *Minitab*® 16.1.0

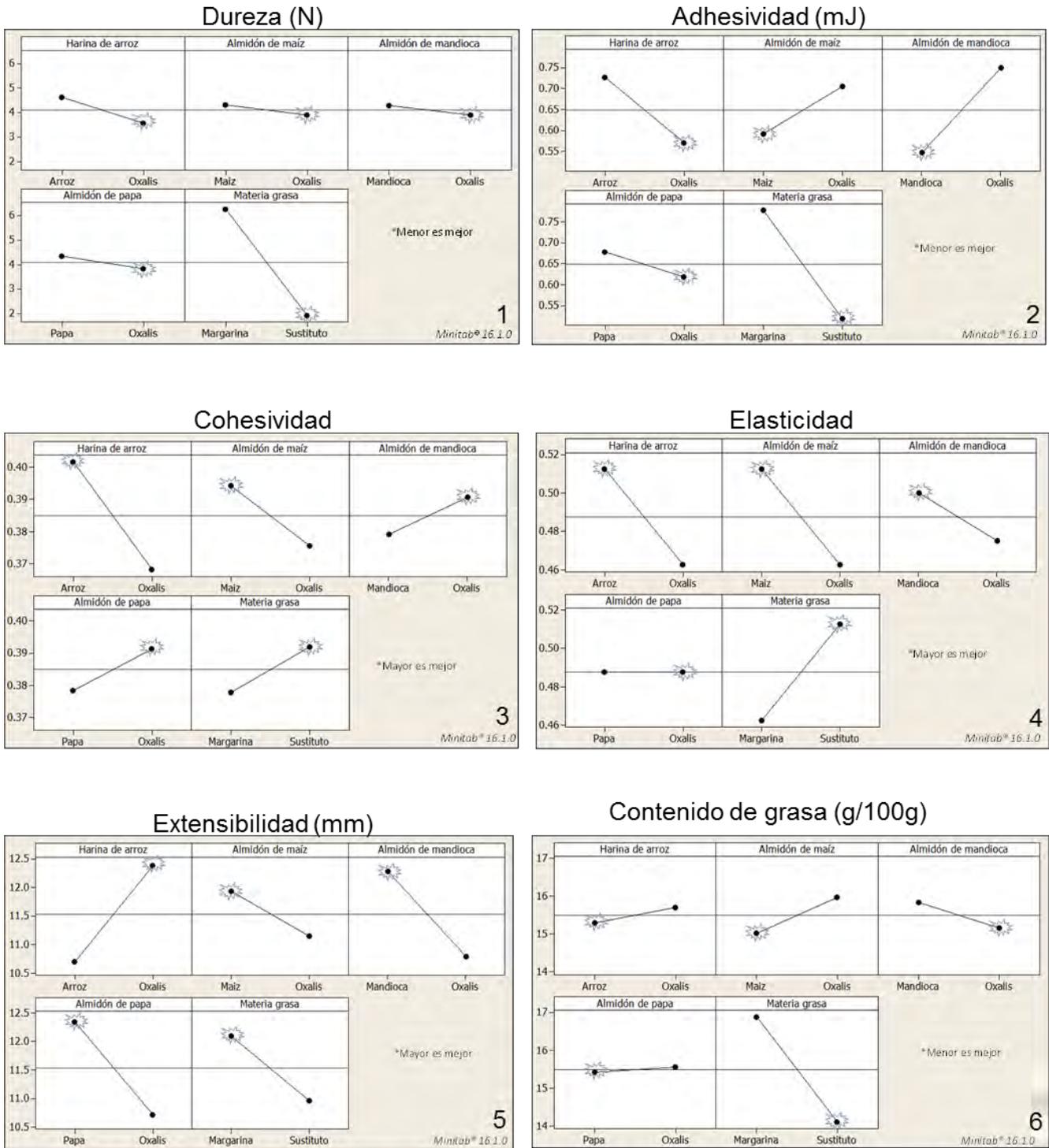


Figura 10. Gráficos de las variables de respuesta de los factores del diseño ortogonal de Taguchi L16 (2x5). 1) Dureza (N), 2) Adhesividad (mJ), 3) Cohesividad, 4) Elasticidad, 5) Extensibilidad (mm) y 6) Contenido de grasa (g/100g)

Tabla 17. Formulaciones óptimas de la harina compuesta libre de gluten en base al diseño ortogonal de Taguchi L₁₆ (2X5)

Ingrediente	OP1 (%)	OP2 (%)
Harina de Arroz	32	---
Harina de papa roja (<i>Oxalis tuberosa</i>)	37.5	49
Almidón de maíz	27	27
Almidón de mandioca	---	20.5
Hidroxipropilmetilcelulosa*	3.5	3.5

*(Wellence Gluten Free, DOW Chemical Pharma & Food Solutions, Alemania)
OP1: óptimo 1. OP2: óptimo 2.

6.9.3 Predicción y comprobación de resultados

La Tabla 18 muestra la predicción de los resultados derivados del diseño experimental y su comprobación por medio del APT y extensibilidad en masas y contenido de grasa en pan de las formulaciones óptimas.

La dureza de las masas de los tratamientos OP1 y OP2 fueron menores con diferencias significativas ($p < 0.05$) con los testigos. Esta disminución de dureza, en el caso de las masas libres de gluten (GFSG, OP1 y OP2), puede deberse al tipo de materia grasa con la que se elaboraron.

En el caso del TTR, el uso de margarina, por su contenido de grasa saturada, tiene un comportamiento de fluido plástico, lo que otorga más dureza al producto comparada con las que tienen sustituto de grasa.

Renzetti *et al.* (2016), mostraron que, en la elaboración de masas laminadas, las que contenían un contenido de grasas saturadas mayor al 46% del contenido de grasa total, presentaron una mejor respuesta al proceso de laminado y una estructura más estable en la miga. Se expuso además que existe una correlación

entre una correcta distinción de las capas de grasa y masa, con la expansión del producto final y la estructura de la miga. La adhesividad, mostró que los tratamientos OP1 y OP2 son diferentes significativamente ($p < 0.05$) en comparación con los testigos y puede deberse al uso de harina de papa roja y el hidrocoloide.

Mir *et al.*, 2016, observaron que el uso de hidroxipropilmetilcelulosa en la elaboración de pan libre de gluten que utiliza harina de arroz como materia prima principal, incrementó la elasticidad y viscosidad de la masa, donde, los puentes de hidrógeno interactúan con los hidrocoloides delimitando así sus características.

Un exceso de adhesividad sería contraproducente en el momento del laminado, lo que provocaría una fusión de las capas y degradaría la estructura del producto final. La cohesividad, elasticidad y extensibilidad comparadas con el TTR fueron menores en los tratamientos OP1 Y OP2. Estas características viscoelásticas que el gluten otorga a las masas elaboradas con harina de trigo se ven reflejadas en el procesamiento hasta la obtención de producto terminado (Dobraszczyk *et al.*, 2008).

La cohesividad, elasticidad y extensibilidad fueron mayores en el tratamiento OP2, esto puede ser causado por el mayor contenido proteico que otorga la harina de papa roja, lo que provoca que se formen enlaces entre péptidos y proteínas que confieran ciertas propiedades viscoelásticas a las masas.

Además, estudios han mostrado que el uso de hidrocoloides influye en este tipo de propiedades, donde, entre otros parámetros mejora la cohesividad, aumenta la elasticidad y es capaz de integrar la masa al absorber agua a bajas temperaturas (Lazaridou *et al.*, 2007, Demirkesen *et al.*, 2010).

La extensibilidad está relacionada con la calidad del gluten (en masas de trigo) y con la expansión del producto final (volumen). La extensibilidad da una visión de la capacidad que tiene la masa de retener aire, que formará la estructura durante el amasado, la fermentación y el horneado. En el caso de las masas laminadas permite obtener capas uniformes y definidas (Dobraszczyk *et al.*, 2008).

En masas libres de gluten, puede observarse que los valores alcanzados no pasan el 50%, por lo que puede proyectarse que las formulaciones (mezcla de harinas, almidones e hidrocoloides) no logran mimetizar por completo las propiedades viscoelásticas del gluten. Otro elemento que ve mermada la extensibilidad de las masas es la materia grasa, Silow *et al.* (2016), realizaron estudios sobre masas laminadas y observaron que el contenido de tipo de materia grasa y cantidad de sal influyen en la resistencia a la ruptura de la masa.

Por último, se muestran los resultados obtenidos en la cuantificación de la grasa de los tratamientos, donde el OP1 tuvo el menor contenido de grasa (10.2 g/100g) seguido del OP2 (13.6 %). Ambos tratamientos se elaboraron con sustituto de grasa, lo que le confiere una menor cantidad de grasas saturadas.

Tabla 18. Predicción y comprobación de resultados de las formulaciones óptimas del diseño ortogonal de Taguchi L₁₆ (2X5)

	Dureza (N)	Adhesividad (mJ)	Cohesividad	Elasticidad	Extensibilidad (mm)	Contenido de grasa (g/100g)
TTR	5.17±0.13 ^b	2.09±0.09 ^a	0.784±0.01 ^a	0.8±0.00 ^a	32.92±0.24 ^a	17.1±0.13 ^a
GFSG	9.25±0.10 ^a	1.73±0.08 ^b	0.346±0.02 ^c	0.5±0.00 ^c	10.15±0.05 ^d	13.7±0.13 ^b
OP1 (Pred.)	2.21	0.61	0.430	0.5	8.95	13.1
OP2 (Pred.)	1.54	0.25	0.385	0.5	12.14	14.2
OP1	1.39±0.08 ^d	0.16±0.03 ^c	0.333±0.01 ^c	0.4±0.00 ^d	12.24±0.35 ^c	10.2±0.09 ^c
OP2	2.02±0.04 ^c	0.31±0.14 ^c	0.448±0.01 ^b	0.6±0.00 ^b	14.84±0.91 ^b	13.6±0.03 ^b

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba *Tukey*. TTR: Trigo con harina de trigo. GFSG: testigo libre de gluten. OP1: formulación óptima 1. OP2: formulación óptima 2. Pred: resultados predichos del diseño ortogonal de Taguchi.

6.10 Análisis de calidad del pan

Los resultados del análisis de calidad del pan son mostrados en la Tabla 19. En el análisis de perfil de textura del pan, la relación entre la forma del producto, la estructura y la técnica de procesamiento influyeron directamente en la dureza, debido a que la composición y distribución de la estructura se oponen a la deformación del producto (Schober *et al.*, 2008).

El uso de hidrocoloides aumentó la cohesividad del pan libre de gluten interactuando con el agua en la masa y formando enlaces por puentes de hidrógeno. Además, la formación de un gel debido a la presencia de almidón produce una propiedad "gomosa", que es causada por la gelatinización del almidón en la cocción (Matos & Rosell, 2012).

La elasticidad fue mayor, con diferencias significativas ($p < 0.05$), en el pan libre de gluten en comparación con el control (TTR). Este parámetro está relacionado directamente con la cohesividad, al mantener su estructura más estable después de retirar la fuerza de deformación. La calidad del pan está asociada con el volumen y la estructura de la miga, que dependen a su vez del contenido de gluten. Para mediciones de volumen y pérdida de peso por horneado, se utilizaron 100 g de masa. Entre los tratamientos, el volumen específico disminuyó y la pérdida de peso por horneado aumentó ($r=0.98$). El contenido de agua y la formación de la estructura de la miga durante la cocción dieron volumen al producto a través de la generación de CO_2 y vapor. Sin embargo, en el pan libre de gluten, la formación de un gel, que es sólo termoestable durante corto tiempo, no permite la retención de agua en la estructura final, lo que resulta en un producto más seco con menos volumen (Onyango *et al.*, 2011).

El color es un factor importante para la aceptación del producto por parte del consumidor. El color de la corteza, L^* (luminosidad) es afectada por la composición y el color de la materia prima. Los valores de b^* ($+b$ =amarillo, $-b$ =azul) define el característico color dorado de la corteza pan (Cappa *et al.*, 2013). Valores altos del parámetro b^* se observaron en TTR y GFSG, que presentaron una corteza dorada, mientras que en OP1 y OP2, la adición de harina de papa roja disminuyó los valores de este parámetro.

Tabla 19. Evaluación de textura, física y estructura de pan tipo danés (croissant) libre de gluten.

	TTR	GFSG	OP1	OP2
Análisis de perfil de textura				
Dureza (N)	8.78±0.09 ^b	4.77±0.10 ^a	4.30±0.72 ^c	5.02±0.27 ^c
Adhesividad (mJ)	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a
Cohesividad	0.408±0.01 ^d	0.508±0.02 ^c	0.883±0.01 ^a	0.732±0.05 ^b
Elasticidad	0.7±0.00 ^b	0.8±0.00 ^a	0.8±0.00 ^a	0.8±0.00 ^a
Volumen específico (cm ³ /g)	5.58±0.02 ^a	3.02±0.01 ^d	3.56±0.02 ^c	4.11±0.05 ^b
Pérdida de peso por horneado (%)	10.8±0.17 ^c	17.6±0.32 ^a	15.9±0.45 ^b	14.5±0.99 ^b
Color de la corteza				
L*	70.23±0.50 ^b	85.03±0.36 ^a	62.64±0.32 ^c	53.51±0.36 ^d
a*	14.50±0.18 ^b	-1.35±0.06 ^d	8.31±0.02 ^c	16.08±0.12 ^a
b*	47.20±0.11 ^a	41.72±0.02 ^b	37.83±0.11 ^c	37.12±0.36 ^d
Color de la miga				
L*	94.25±0.12 ^a	92.52±0.31 ^b	61.98±0.18 ^d	70.27±0.06 ^c
a*	-3.80±0.13 ^c	-4.15±0.07 ^d	7.17±0.08 ^a	2.26±0.14 ^b
b*	15.37±0.40 ^d	23.16±0.17 ^c	31.62±0.05 ^a	27.84±0.20 ^b

Estructura de la miga

Área de la celda (mm ²)	162.12±11.86 ^b	100.94±20.18 ^c	192.91±8.89 ^a	204.87±14.82 ^a
Área promedio de la celda (mm ²)	2.69±0.43 ^a	1.40±0.20 ^b	1.51±0.12 ^b	2.54±0.16 ^a
Densidad de las celdas por cm ²	15.33±2.35 ^c	18.04±2.30 ^{bc}	32.04±1.78 ^a	19.79±1.04 ^b
% Fase dispersa (aire)	40.8±3.04 ^b	25.3±5.03 ^c	19.79±1.04 ^b	50.5±3.04 ^a

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de *Tukey*. TTR: testigo con harina de trigo. GFSG: testigo libre de gluten. OP1: formulación óptima 1. OP2: formulación óptima 2. Área total: 4 cm²

La harina de papa roja tenía inicialmente coloración violeta, esto influyó directamente en el color de la miga y la corteza del pan. El color rojizo del tubérculo es debido al contenido de antocianinas inmersas en el pericarpio y el mesocarpio, que, junto con otros compuestos fenólicos, han demostrado tener capacidad antioxidante (Chirinos *et al.*, 2009, Alcalde-Eon *et al.*, 2004).

El color de la miga fue similar al de la corteza, con la luminosidad (L^*) afectada por el tipo de materia prima. Además, los parámetros a^* y b^* presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

En la evaluación de la estructura de la miga, se observó un índice de correlación $r=0.99$ entre el área de las celdas y la fase dispersa, a la vez, hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). La fase dispersa indica la cantidad de aire que formó la estructura de la miga (Farrera-Rebollo *et al.*, 2012) y la fase sólida de la masa danesa se forma alternando capas de masa (fermentada) y

grasa que dan como resultado una estructura de celdas alargadas, una miga abierta y no uniforme (Renzetti *et al.*, 2016).

TTR tenía la estructura característica del pan danés (Fig. 11a) con un porcentaje de fase dispersa de 40.8%, relacionado directamente con el volumen específico. GFSG tuvo el porcentaje más bajo de fase dispersa (25.29%), que representa una estructura compacta, relacionándolo directamente con la dureza del pan (Fig. 11b). OP1 y OP2 (Fig. 11c y 11d) mostraron un porcentaje de fase dispersa de 48.66% y 50.56% respectivamente, sin embargo, la ausencia de gluten no permitió la formación de una estructura definida y estable, dando como resultado una estructura similar a panque (Farrera-Rebollo *et al.*, 2012).

La relación entre el área promedio de las celdas, las celdas por cm^2 y el porcentaje de fase dispersa (Fig. 11e-11h), finalmente definen la estructura del producto, que a su vez se deriva de la composición de las materias primas y el procesamiento. Ninguno de los tratamientos libres de gluten mantuvo la estructura característica del pan danés.

Hager *et al.* (2012) realizaron una comparación de la estructura de pan libre de gluten de diferentes fuentes y la compararon con productos similares con trigo, encontrando que el pan hecho con avena era el único que presentaba una estructura similar al trigo; sin embargo, estos panes se elaboraron con una pasta (batido) y no con masa (fermentado), lo que cambia las propiedades del producto. Se demostró que el tamaño de celda promedio tenía un índice de correlación ($r=0.88$) con respecto al volumen específico, donde un tamaño de celda mayor reflejaba un aumento de volumen en el producto.

El tamaño medio de las celdas es afectado por los enlaces internos de la masa y su límite de expansión producido por el vapor y el CO_2 de la fermentación. La inestabilidad y bajo límite de expansión de la masa pueden generar fracturas en pan libre de gluten (miga y corteza), lo que afecta la calidad del producto. Demostrándose que el uso de hidrocoloides puede evitar fracturas en el producto y retrasar la retrogradación (Demirkesen *et al.*, 2014, Mohammadi *et al.*, 2014).

La Fig. 12 muestra los valores de la dimensión fractal de la textura de la corteza (FD_{SDBC}) y una visualización tridimensional de la topografía de la corteza. En términos de rugosidad, según Pérez-Nieto *et al.* (2010), los valores cercanos a 2 son asociados con superficies lisas y valores cercanos a 3 con superficies rugosas. También se observa que TTR (Fig. 12b) tuvo una superficie más estable y sin fracturas, mientras que GFSG, OP1 y OP2 (Fig. 12c y 12e) presentaban fracturas en la corteza.

Estas fracturas son asociadas directamente con el volumen de pan, donde se observó un índice de correlación de $r=0.92$ entre los valores de FD_{SDBC} y el volumen específico. Los bajos valores de volumen específico se correlacionaron con valores más bajos de FD_{SDBC} , lo que indica que una estructura más estable sin rupturas en la superficie tiende a dar como resultado un producto con mayor volumen.

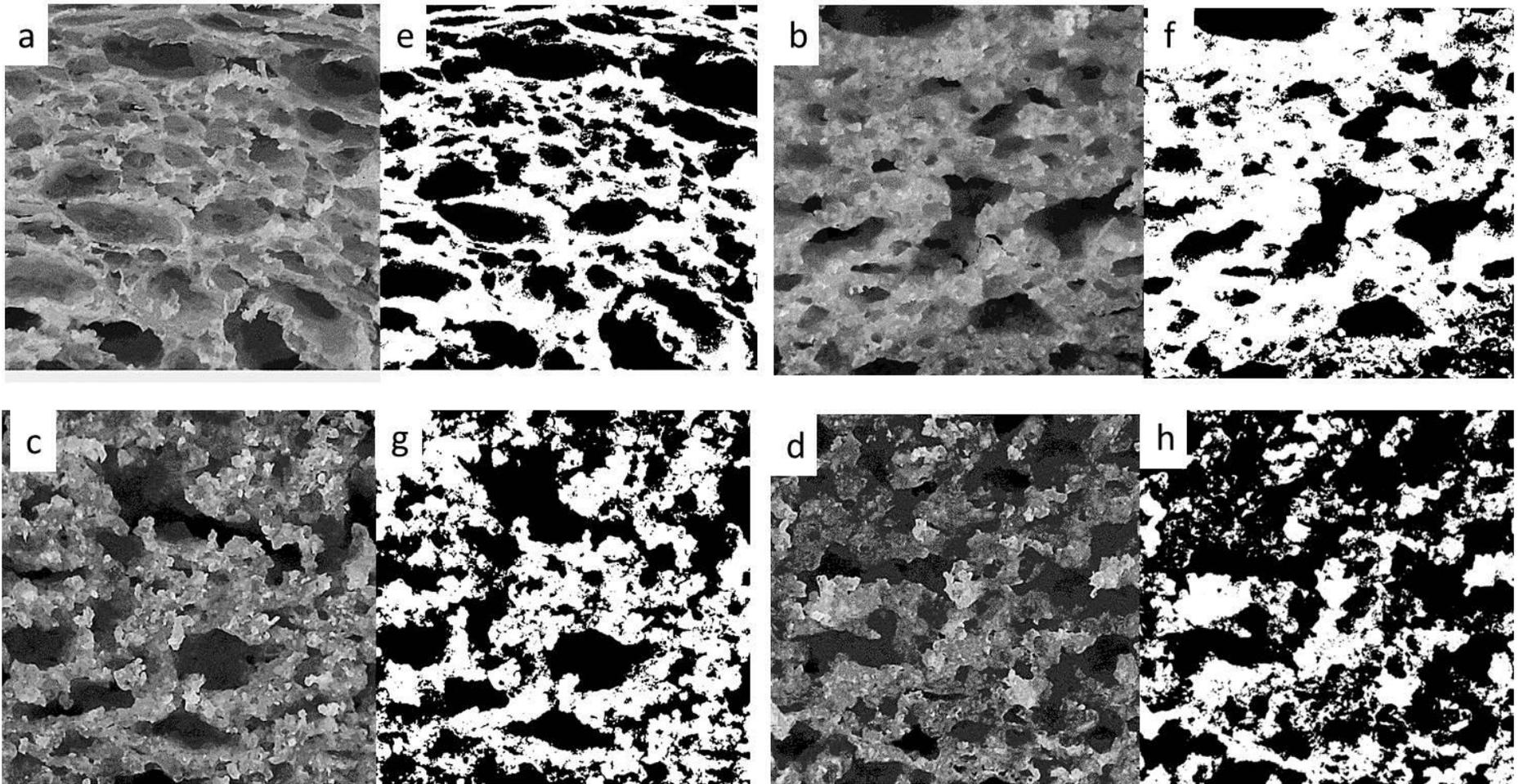


Figura 11. Imágenes en escala de grises 40X40 mm de la estructura de los tratamientos: (a) TTR, (b) GFSG, (c) OP1 y (d) OP2. (e-h) Visualización con el algoritmo de Otsu de los tratamientos. La imagen muestra la estructura de la miga del control (e) con alveolos alargados y ordenados. (b) Muestra el control GF donde la miga resulta compacta sin un alveolado uniforme y finalmente los tratamientos libres de gluten adicionados con harina de papa roja (g-h) donde la miga es más abierta comparada con el control sin gluten, mostrando una estructura más uniforme.

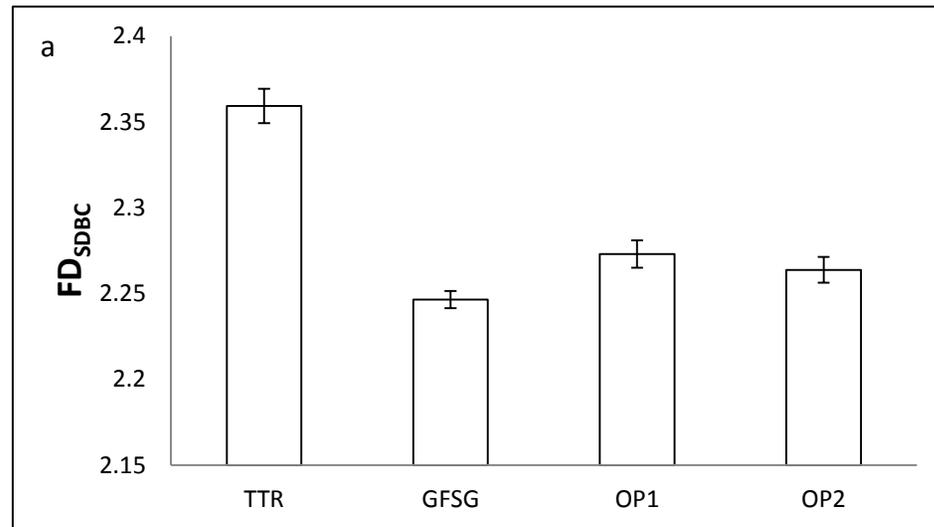
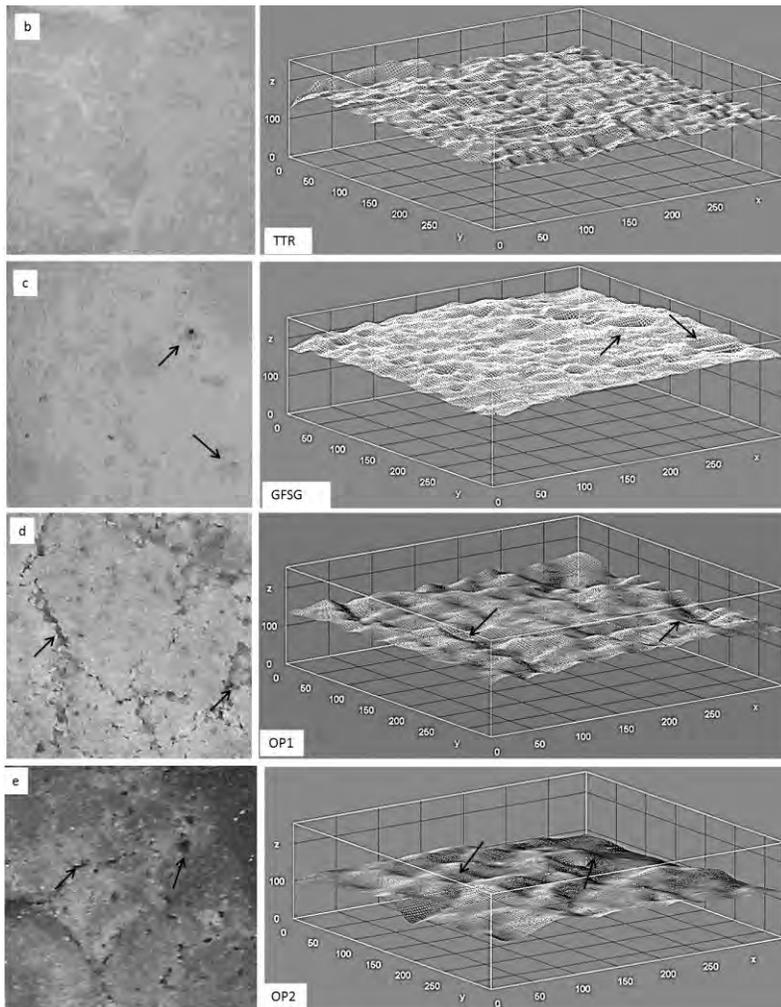


Figura 12. Dimensión fractal de la textura de la corteza. (a) FD_{SDBS} : dimensión fractal obtenida por el método “shifting differential box counting”, diferentes letras en la gráfica significan diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de *Tukey*. (b-e) Imágenes de la corteza que corresponden a la rugosidad de la superficie. Las flechas muestran las fracturas en la corteza de los tratamientos.

6.11 Características nutricionales y actividad antioxidante del pan

La composición nutricional, la digestibilidad *in vitro* y la actividad antioxidante de los panes son mostrados en la Tabla 20. Para la composición química proximal, los resultados mostraron que la proteína es más alta en TTR, debido al contenido de gluten, en comparación con los panes libres de gluten. GFSG mostró el valor más bajo, como consecuencia de la ausencia de gluten. En OP1 y OP2, la adición de harina de papa roja aumentó el contenido de proteína.

La ceniza fue más alta en OP1 y OP2, lo que significa un mayor contenido de micronutrientes. León *et al.* (2011) identificaron varios minerales en papa roja, incluyendo hierro, fósforo, calcio y zinc. Estos micronutrientes pueden aumentar el valor nutricional del producto.

Para el contenido de grasa, que influye directamente en el contenido energético, TTR tuvo el mayor (367.99 kcal). En GFSG, OP1 y OP2, una reducción del contenido de grasa puede haber sido causada por el uso de harinas ricas en almidón. Los carbohidratos fueron más altos en GFB, donde la fibra fue mayor en OP1 y OP2. Los carbohidratos asimilables fueron 44.59% en TTR y 55.23% en OP1, y esto fue reflejado en la digestibilidad del almidón.

En el pan, el componente principal es el almidón, que es digerido casi en su totalidad y absorbido en el intestino delgado, ya que la mayor parte del almidón es gelatinizado en el proceso (de la Hera *et al.*, 2014).

Se observó que el contenido de almidón de rápida digestión en los panes es superior al 33%, lo que conduce a una digestión rápida del pan y un aumento en la glucosa en sangre. Mientras que, el almidón de lenta digestión está presente principalmente en OP1 y OP2 debido a la adición de harina de papa roja. El almidón de lenta digestión es digerido lentamente en el intestino delgado y se correlaciona directamente con una reducción de la respuesta glucémica postprandial.

El mayor contenido de almidón de lenta digestión en OP1 y OP2 puede generarse por la gelatinización parcial del almidón nativo. El almidón nativo es hidrolizado lentamente en comparación con el almidón gelatinizado, en el que la cristalinidad y

el orden molecular se han perdido y la accesibilidad del sustrato a las amilasas es mayor (Ng et al., 2017).

El almidón resistente es una forma particular de almidón capaz de llegar al intestino grueso sin ser digerido, además, puede formar parte de la microbiota intestinal, aumentando el beneficio de la fibra dietética (probiótico). Se ha observado que en pan libre de gluten, el contenido de almidón resistente es mayor. Esto podría deberse a que la retrogradación del almidón después de la cocción aumenta (almidón resistente tipo III), lo que es correlacionado con la pérdida de peso por horneado, debido a la retención ineficaz de agua causada por la ausencia de gluten (Giuberti et al., 2017).

Los resultados mostraron que el contenido de fenoles totales fue un 300% mayor para OP1 y OP2 en comparación con TTR. Esto podría deberse a la adición de harina de papa roja. Chirinos et al. (2009) identificaron compuestos fenólicos en papa roja (antocianinas, flavonoles, ácidos cinámico y benzoico) y demostraron que los compuestos bioactivos presentes en papa roja tienen capacidad antioxidante. Asimismo, reportaron una inhibición del radical ABTS del 72% a 80%. En esta investigación, la capacidad antioxidante se evaluó mediante un ensayo de inhibición del radical DPPH, donde OP2 (26.96%) mostró que el mayor porcentaje de inhibición, seguido de OP1 (17.89%). Los compuestos antioxidantes en la harina de papa roja aumentaron la capacidad antioxidante del pan libre de gluten. Además, varios estudios han encontrado que algunos ingredientes aumentan el contenido de fenoles totales en el pan. Rózylo et al. (2016) estudiaron el efecto de pan libre de gluten con algas pardas añadidas y encontraron una mayor actividad antioxidante en los panes con un 6% de algas pardas.

Sakac et al. (2011), estudiaron pan libre de gluten a base de harina de arroz y alforfón y evaluaron la capacidad antioxidante. Descubrieron que a medida que aumentaba la proporción de harina de alforfón, el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante eran mayores. Esto demuestra que el enriquecimiento de las harinas libres de gluten con fuentes ricas en compuestos antioxidantes puede aumentar la calidad nutricional de los alimentos para celíacos.

Tabla 20. Valor nutricional y actividad antioxidante de pan tipo danés (croissant) libre de gluten.

		TTR	GFSG	OP1	OP2
Composición proximal	(g/100 g bs)				
	Ceniza	0.99±0.02 ^d	1.05±0.03 ^c	1.74±0.01 ^b	1.86±0.02 ^a
	Proteína	8.84±0.04 ^a	4.88±0.08 ^c	5.53±0.02 ^b	5.65±0.02 ^b
	Lípidos	17.14±0.13 ^a	13.75±0.13 ^b	10.26±0.09 ^c	13.65±0.03 ^b
	Fibra dietaria	0.16±0.02 ^c	0.15±0.02 ^c	0.47±0.04 ^b	0.64±0.01 ^a
	Carbohidratos (por diferencia)	44.59±0.13 ^d	52.69±0.16 ^b	55.23±0.08 ^a	51.85±0.11 ^c
	Contenido energético (kcal)	367.99±0.40 ^a	354.04±1.33 ^b	335.44±0.63 ^c	352.84±0.33 ^b
Digestibilidad del almidón <i>in vitro</i>	(g/100 g bs)				
	Almidón de rápida digestión	36.84±0.04 ^b	40.04±0.08 ^a	35.11±0.08 ^c	33.69±0.15 ^d
	Almidón de lenta digestión	4.55±0.03 ^d	9.13±0.04 ^c	16.45±0.05 ^a	13.48±0.06 ^b
	Almidón resistente	1.25±0.03 ^c	1.49±0.02 ^b	1.60±0.02 ^a	1.59±0.03 ^a
Contenido de fenoles totales	(equivalente de ácido gálico µg/g)	267.29±7.64 ^b	178.89±6.01 ^c	790.64±7.35 ^a	797.45±4.99 ^a
Porcentaje de inhibición del radical DDPH (%)		3.72	2.90	17.89	26.96

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de Tukey. TTR: testigo con harina de trigo. GFSG: testigo libre de gluten. OP1: formulación óptima 1. OP2: formulación óptima 2. bs: base seca

6.12 Evaluación sensorial

Los puntajes de la evaluación sensorial se muestran en la Fig. 13. TTR tuvo la puntuación más alta para los atributos de textura y masticabilidad, además los panelistas mencionaron que el control del pan de trigo (TTR) era más suave y la masticabilidad era mejor. GFSG tenía los valores más bajos para varios atributos; los panelistas lo categorizaron como pan simple porque era insípido, con aroma deficiente y también una dureza elevada.

Sin embargo, OP2 tuvo el puntaje más alto en los parámetros de color, aroma, sabor y aceptación general. Los panelistas argumentaron que este pan tenía mejores características. El sabor y el aroma pueden deberse a la dulzura que aporta la harina de papa roja que podría haber contribuido a sus puntajes más altos para estos atributos sensoriales.

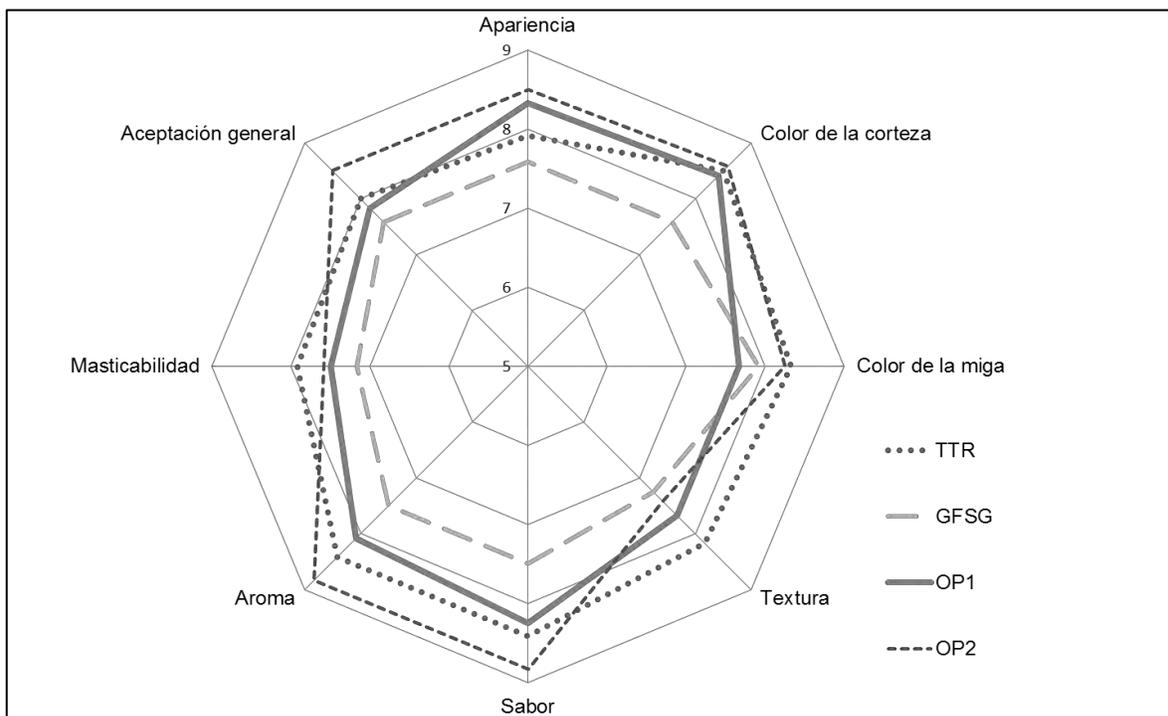


Figura 13. Evaluación sensorial del pan (Valor 1= me disgusta mucho; valor 9= me gusta mucho). TTR: testigo con harina de trigo. GFSG: testigo libre de gluten. OP1: formulación óptima 1. OP2: formulación óptima 2.

6.13 Respuesta glucémica

Los valores obtenidos de la respuesta glucémica se muestran en la Fig. 14. Es presentada la curva del alimento control (glucosa). Puede observarse un incremento máximo a los 30 min y posteriormente una disminución próxima a la glucosa basal que indica una correcta digestión y absorción de la glucosa. Para los tratamientos, existe un comportamiento similar en TTR (9.01 ± 0.50 mmol/L) y GFSG (8.99 ± 0.40 mmol/L), donde muestran un pico máximo de glucosa que los relaciona con un contenido mayor de carbohidratos de rápida digestión.

En el tratamiento OP1 (7.49 ± 0.20 mmol/L) la respuesta glucémica mostró un valor más bajo y un decremento constante a partir de los 30 min hasta los 120 min, que lo relaciona con un contenido adecuado de carbohidratos de lenta digestión. Por último, el tratamiento OP1 sigue un comportamiento similar de OP2 sin embargo, a los 45 min existió un ligero incremento de glucosa, seguido de una liberación paulatina hasta los 120 min.

Se calculó el índice glucémico (IG) de los tratamientos y la carga glucémica (CG) (Tabla 21), donde se muestra que de acuerdo con el alimento control (glucosa IG=100), el tratamiento TTR tiene un IG= 90.93 ± 8.5 , seguido de GFSG con un IG= 89.62 ± 7.0 y por último OP1 con el IG más bajo (IG= 85.02 ± 5.0). Estos resultados catalogan a todos los tratamientos con un IG alto al tener un IG ≥ 70 . De acuerdo con los resultados obtenidos del IG, se calculó la carga glucémica, que refiere a la cantidad de glucosa en sangre que será liberada por la ingesta de una porción de 100 g de alimento. El tratamiento con la mayor CG es el OP1 con un CG=47.0 y el TTR con la menor CG=40.0. De acuerdo con estos resultados, los tratamientos muestran una CG alta al tener un CG ≥ 20 .

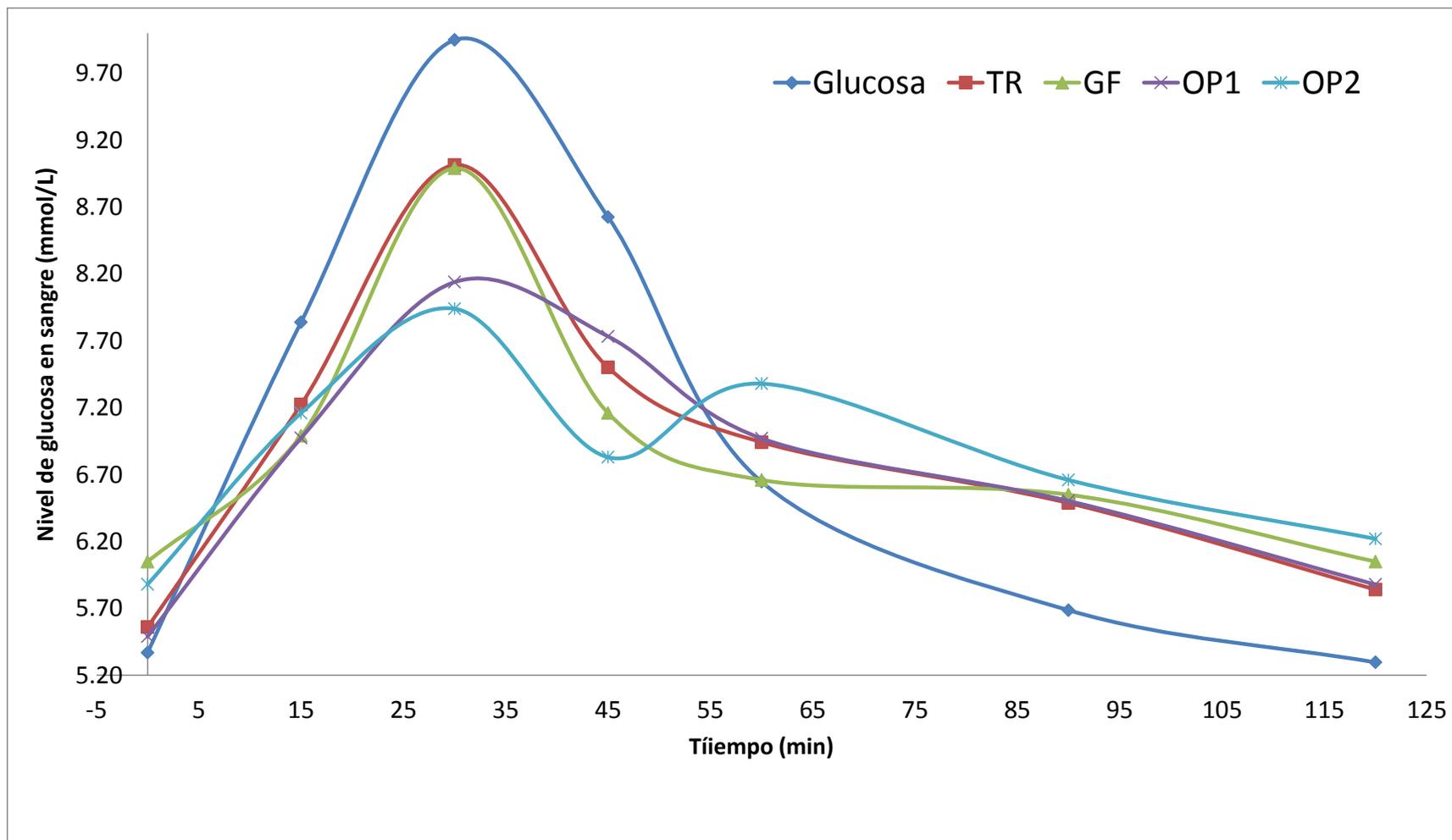


Figura. 14 Curva de la respuesta glucémica del ensayo *in vivo*. TTR: Testigo de trigo con grasa convencional GFSG: Pan libre de gluten sin harina de papa roja; OP1: Pan libre de gluten con 37.5% de harina de papa roja; OP2: pan libre de gluten con 49% de harina de papa roja.

En ambos tratamientos adicionados con harina de papa roja se observó que existe una mejor respuesta glucémica al tener una liberación más estable de glucosa, además de tener un IG menor. Esto puede se debe a que la harina de papa roja provee al pan una mayor cantidad de carbohidratos de lenta digestión como almidón nativo o almidón retrogradado generado por el tratamiento térmico y el almacenamiento.

Tabla 21. Índice glucémico y carga glucémica de los tratamientos

	Índice glucémico	Carga glucémica (g glucosa/100 g alimento)
TTR	90.93±8.5	40.0
GFSG	89.62±7.2	46.0
OP1	85.02±5.4	47.0
OP2	86.99±4.6	45.0

TTR: Testigo de trigo con grasa convencional GFSG: Pan libre de gluten sin harina de papa roja; OP1: Pan libre de gluten con 37.5% de harina de papa roja; OP2: pan libre de gluten con 49% de harina de papa roja.

El índice glucémico (IG) se desarrolló sistemáticamente para clasificar los alimentos según su capacidad de la glicemia postprandial y es un método eficaz en el control de dietas para pacientes con diabetes *mellitus* tipo 2 (Vici *et al.*, 2015).

Packer *et al.* (2000) estudiaron la respuesta glicémica de diversos productos libres de gluten en pacientes celíacos y diabéticos, llegando a la conclusión que el consumo de alimentos libres de gluten no compromete la glicemia. De acuerdo con los resultados obtenidos, es apreciable que la respuesta glucémica se ve afectada por la formulación y composición de los panes.

Los tratamientos OP1 y OP2, que se adicionaron con harina de papa roja, mostraron una menor respuesta glucémica a contraparte del tratamiento control. De acuerdo con diversos estudios, el IG de un alimento puede estar condicionado directamente a la composición de la formulación y el proceso de elaboración. A la fecha, han sido realizados diversos trabajos en los que se estudia la respuesta glucémica de productos libres de gluten (Scazzina *et al.*, 2015).

Berti *et al.* (2004) estudiaron panes y pastas libres de gluten de marca comercial y encontraron que los productos con mayor contenido proteico tienden a reducir el IG. Además, mostraron que alimentos con carbohidratos complejos, como las pastas, tienen una respuesta glucémica más estable y un IG más bajo que los panes libres de gluten.

Fratelli *et al.* (2018) elaboraron pan libre de gluten adicionado con semillas de psyllium (*Plantago ovata*), estudiaron la respuesta glicémica *in vivo* y encontraron que la adición del 17% de psyllium mostró una respuesta glucémica menor, un IG bajo (IG=50) y también una carga glucémica baja (CG=9), por lo que concluyen que la adición de ingredientes ricos en fibra dietaría tienen un efecto positivo en la respuesta glucémica.

Además del tipo de ingredientes utilizados en la formulación, el proceso tiene un efecto en la glicemia del alimento. Lau *et al.* (2015) mostraron que el tipo de cocción y el tipo de formulación afectan directamente la respuesta glucémica, donde los panes elaborados con cocción al vapor tuvieron un IG menor que los panes horneados, esto debido a que el contenido de almidón de lenta digestión es mayor en los panes cocidos al vapor y afecta directamente la glicemia postprandial del alimento.

6.14 Perfil de ácidos grasos

De acuerdo con el perfil de ácidos grasos (Tabla 22), los de mayor presencia con los ácidos grasos saturados. Ácidos grasos saturados como ácido caproico (C6:0), caprílico (C8:0) y margárico (C17:0) se encontraron en pequeñas cantidades en todos los tratamientos. Estos tipos de ácidos grasos hallados en grasas de origen animal, tomando como referencia la leche entera utilizada en la elaboración del pan. Los ácidos grasos saturados de mayor contenido fueron el ácido palmítico (C16:0) y el ácido araquídico (C20:0), en concentraciones mayores a 100 mg/100g de muestra. Encontrándose en GFSG, 308.77 ± 8.24 y 356.31 ± 3.41 mg/100g el mayor contenido de estos ácidos grasos. Y en el OP1 con 122.44 ± 2.49 y 176.89 ± 3.43 mg/100g el menor contenido de estos ácidos grasos respectivamente. Los ácidos grasos insaturados identificados en las muestras

fueron miristoleico (C14:1), oleico (C18:1n-9), linoleico (C18:2n-6) y linolénico (C18:3n-3). El ácido linoleico (C18:2n-6) se encontró en mayor cantidad en las muestras, donde el tratamiento GFSG tuvo el mayor contenido (275.30 ± 2.65 mg/100 g), seguido de TTR (186.55 ± 3.60 mg/100 g) y finalmente GF2 (111.28 ± 1.22 mg/100 g).

De acuerdo con contenido total de ácidos grasos saturados, existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos, donde la formulación GFSG que es elaborada sin harina de papa roja, tuvo el mayor contenido de ácidos grasos saturados (711.28 ± 3.32 mg/100 g), en segundo lugar el control TTR (515.61 ± 5.01 mg/100 g) y por último los tratamientos OP1 (331.13 ± 2.62 mg/100 g) y GF3 (455.59 ± 5.01 mg/100 g) adicionados con harina de papa roja, mostraron una disminución en el contenido de ácidos grasos saturados.

El contenido de los ácidos grasos insaturados tuvo un comportamiento similar a lo antes expuesto de acuerdo a los tratamientos. Donde puede observarse una relación entre el contenido de ácidos grasos insaturados y los saturados de 0.63 para TTR, 0.65 para GFSG y 0.58 para OP1 y OP2.

Esto refiere que el contenido de ácidos grasos insaturados está disminuido casi en un 50% en relación con los saturados. Finalmente, se muestra la relación de ácidos grasos omega-6 y ácidos grasos omega-3 ($n6/n3$), donde existe una disminución respecto a los tratamientos comparados con TR (6.32), hasta GF3 (3.26). Este indicador importante en el contenido de ácidos grasos insaturados, debido a que muestra el balance que contiene, y a su vez tendrá un mejor efecto benéfico en el organismo.

Además del impacto en la calidad nutricional de los alimentos y su contenido calórico, los lípidos han mostrado estar relacionadas con enfermedades cardiovasculares. Por lo que el tipo de ácidos grasos presentes en los alimentos no tiene que limitarse sólo a la cantidad que se posean, sino al tipo y relación en proporción al ser consumidos (Hoenselaar, 2012).

Tabla 22. Perfil de ácidos grasos (mg/100 g) de los tratamientos.

Ácidos grasos	TTR	GFSG	OP1	OP2
Ácidos grasos saturados				
Caproico (C6:0)	12.99±0.03 ^a	9.87±0.11 ^b	6.46±0.16 ^d	7.18±0.04 ^c
Caprílico (C8:0)	12.45±0.25 ^a	11.28±0.29 ^b	6.84±0.12 ^d	8.23±0.09 ^c
Palmítico (C16:0)	265.80±1.98 ^b	308.77±8.24 ^a	122.44±2.49 ^d	161.24±0.03 ^c
Margárico (C17:0)	12.88±0.14 ^b	16.92±1.03 ^a	11.13±1.22 ^b	13.62±0.44 ^{ab}
Estearico (C18:0)	6.17±0.26 ^a	8.14±0.28 ^a	7.38±1.43 ^a	8.09±0.56 ^a
Araquídico (C20:0)	205.31±3.27 ^c	356.31±3.41 ^a	176.89±3.43 ^d	257.22±1.47 ^b
Ácidos grasos insaturados				
Ácidos grasos monoinsaturados				
Miristoleico (C14:1)	25.37±0.83 ^a	16.48±1.12 ^b	10.06±0.25 ^c	12.20±0.03 ^c
Oleico (C18:1n-9)	83.13±1.62 ^b	116.25±1.56 ^a	41.10±2.24 ^d	53.96±0.10 ^c
Ácidos grasos poliinsaturados				
Linoleico (C18:2n-6)	186.55±3.60 ^b	275.30±2.65 ^a	111.28±1.22 ^d	152.14±0.52 ^c
Linolénico (C18:3n-3)	29.52±0.64 ^b	54.10±2.84 ^a	29.72±3.57 ^b	46.73±0.68 ^a
Σ Ácidos grasos saturados	515.61±5.01 ^b	711.28±3.32 ^a	331.13±2.62 ^d	455.59±5.01 ^c
Σ Ácidos grasos insaturados	324.56±4.01 ^b	462.13±2.51 ^a	192.16±2.50 ^d	265.04±2.06 ^c
Relación de ácidos grasos insaturados/ ácidos grasos saturados	0.63	0.65	0.58	0.58
Relación n-6/n-3	6.32	5.10	3.74	3.26

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba *Tukey*. TTR: Testigo de trigo con grasa convencional GFSG: Pan libre de gluten sin harina de papa roja; OP1: Pan libre de gluten con 37.5% de harina de papa roja; OP2: pan libre de gluten con 49% de harina de papa roja.

De acuerdo con Constantini *et al.*, (2014), la adición de ingredientes, como semillas, tienen la finalidad no sólo de nutrir, sino de actuar como compuestos bioactivos que impacten en la salud humana, como el caso del ácido graso omega 3, que ha demostrado tener beneficios en su consumo, especialmente aquellos

relacionados con enfermedades cardiovasculares, inflamación, hiperlipidemia y cáncer, por lo que deben consumirse en la dieta al no ser sintetizados por el organismo. Diversos estudios han mostrado el uso de diversas fuentes para incrementar el contenido de ácidos grasos insaturados en la elaboración de productos de panificación. Giaretta *et al.* (2017) y Constantini *et al.* (2014) estudiaron panes adicionados con semillas de chía (*Salvia hispánica*) y encontraron un incremento en el contenido de ácidos grasos polinsaturados conforme se incrementaba el uso de éstas, que mejoraba la proporción respecto a los ácidos grasos saturados. También la relación de n6/n3 se mejoró al encontrar proporciones de 6:1 y 4:1 (datos similares al presente estudio).

El balance de n6/n3 en un intervalo no mayor a 9:1 y no menor a 3:1 representan un efecto sinérgico en la salud humana, donde el ácido linoleico (omega-6) tiene efecto sobre las dislipidemias y control sobre el contenido de colesterol LDL; mientras que el ácido linolénico muestra efecto en el buen funcionamiento cardiovascular, además de tener propiedades antiarrítmicas, antiinflamatorias y antitrombóticas (Wijendran & Hayes, 2004).

Otras fuentes vegetales para la mejora del perfil lipídico de productos de panificación lo reportan Alvarez-Jubete *et al.* (2009), quienes elaboraron pan libre de gluten a base de pseudocereales (amaranto (*Amarantus caudatus*), quínoa (*Chenopodium quinoa*) y alforfón (*Fagopyrum esculentum*)) y aceite de linaza (*Linum usitatissimum*). Mostraron que comparados contra el control incrementó el contenido de ácidos grasos insaturados en un 200%, atribuyéndose este incremento en mayor parte al aceite de linaza.

El incremento del valor nutricional de productos libres de gluten es importante, ya que la mayor parte de estos productos encontrados en el mercado son deficientes en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (Alvarez-Jubete *et al.*, 2009).

Además de las fuentes de origen vegetal, se han estudiado algunas fuentes de origen animal para la mejora nutricional de los alimentos. Osimani *et al.* (2018) evaluaron la calidad nutricional de pan elaborado con harina de grillos (*Acheta*

domesticus), encontrando una mejora en el valor nutricional del producto al incrementar el contenido de proteínas y aminoácidos esenciales, sin embargo, el perfil de ácidos grasos no mostró diferencias significativas respecto al control, al no existir un incremento en los ácidos grasos insaturados, pero si en los ácidos grasos saturados.

Por otra parte, respecto al tipo de producto elaborado, Osuna *et al.* (2014) elaboraron panes con grasa bovina, los cuales se suplementaron con linaza, soya y salvado de trigo, encontrando que el uso de grasa animal en la elaboración de pan incrementa el contenido de ácidos grasos saturados (C:16 y C:18), a la vez que el incremento de linaza y soya en la elaboración de pan disminuye este contenido y regula el balance de ácidos grasos saturados e insaturados (1.4 en la linaza y 0.9 en la soya) respecto al control (0.39).

Otras estrategias han sido propuestas para la reducción de ácidos grasos saturados. Santos & Salas-Mellado (2017) utilizaron mucilago deshidratado de semilla de chía como sustituto de grasa en la elaboración de panque, encontrando que el mucilago provee características similares a la grasa en el producto final y reduciendo el contenido graso hasta un 57%.

En el caso de esta investigación, fue evaluado el uso de un sustituto de grasa comercial en la elaboración de pan tipo danés, en los distintos tratamientos con el objetivo de reducir el contenido de grasa y de ácidos grasos saturados, mostrando un balance de ácidos grasos insaturados/ ácidos grasos saturados de 0.58 para OP1 y OP2. También se encontró que la relación de n6/n3 de estos tratamientos fue de 3.74 y 3.26 respectivamente. Datos comparables con el balance propuesto por Wijendran & Hayes, 2004 cuyo consumo en la dieta puede tener efectos benéficos en la salud.

VII. Conclusiones

Conclusiones

La materia prima evaluada mostró que de ser usada de forma independiente se tendrían algunas deficiencias en la elaboración de la masa, por lo que es recomendable realizar una mezcla de harinas y féculas para elaborar productos libres de gluten. Las harinas mostraron mayor cohesividad, mientras que las féculas mayor extensibilidad.

El uso de harinas libres de gluten y sustituto de grasa tiene impacto en el volumen específico del producto y la formación de la estructura de la miga, donde el volumen disminuye y la miga no conserva la estructura aireada y ordenada.

El diseño ortogonal de Taguchi fue eficiente para obtener las formulaciones óptimas de masas libres de gluten. En cuanto a la calidad del pan, la adición de harina de papa roja mejoró la textura y el volumen del pan danés libre de gluten, incrementando su calidad.

El valor nutricional del pan desarrollado fue mayor, debido al aumento en la cantidad de almidón de lenta digestión y el almidón resistente, además de incrementar la capacidad antioxidante del pan danés libre de gluten.

En la evaluación sensorial, los atributos de aroma y sabor obtuvieron puntajes más altos, conforme existía una mayor adición de harina de papa roja, mostrando una mayor aceptación por parte de los panelistas, aunque el uso de hidrocoloides (HPMC) les confirió una sensación gomosa.

Este trabajo demostró que el contenido de almidón de lenta digestión se digiere y se absorbe más lentamente en el intestino delgado y se relaciona directamente con la reducción de la respuesta glucémica postprandial, por lo que se mejoró su calidad nutricional.

Por otra parte, el uso de un sustituto de grasa redujo el contenido de ácidos grasos saturados y a la vez mejora el balance de ácidos grasos poliinsaturados (n6/n3) del pan.

VIII. Referencias

- AACC. (2000). Approved methods of the AACC. 10th ed. American Association of Cereal Chemist. St. Paul MN, USA.
- Abboud Al-Saleh & Charles S. Brennan. (2012). Bread wheat quality: some physical, chemical and rheological characteristics of Syrian and English bread wheat samples. *Foods*. 1:03-17.
- Aguilar N. (2011). Prevalencia de la enfermedad celiaca en un hospital de tercer nivel de México. *Revista de Gastroenterología de México*. 76:94-95.
- Alcalde-Eon C., Saavedra G., de Pascual-Teresa S., Rivas-Gonzalo J. (2004). Liquid chromatography-mass spectrometry identification of anthocyanins of isla Oca (*Oxalis tuberosa*, Mol.) tubers. *Journal of Chromatography*. 1054:211-215.
- Alvarez-Jubete L., Arendt E. & Gallagher E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten free ingredients. *Trends in Food Science and Technology*. 21:106-113.
- Alvarez-Jubete L., Arendt E. & Gallagher E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten free ingredients. *Trends in Food Science and Technology*. 21:106-113.
- Añorve-Morga J., Castañeda-Ovando A., Cepeda-Saez A., Durant A., Jaimez-Ordaz J., Contreras-López E., González-Olivares L., Rodríguez-Rodríguez J. (2015). Microextraction method of medium and long chain fatty acids from milk. *Food Chemistry*. 172:456-461.
- Aprodu I. and Banu I. (2015). Influence of dietary fiber, water, and glucose oxidase on rheological and baking properties of maize based gluten-free bread. *Food Science and Biotechnology*. 24:1301-1307.
- Arteaga L. (2006), El Índice glicémico. Una controversia actual. *Nutrición Hospitalaria*. 21:55-60.
- Astawan M. and Widowati S. (2011). Evaluation of nutrition and glycemic index of sweet potatoes and its appropriate processing to hypoglycemic foods. *Indonesian Journal of Agricultural Science*. 12:40-46.
- Atkinson F., Foster-Powell K., Brand-Miller J. (2008). International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008. *Diabetes care*. Vol:14.
- Baardseth P., Naes T., Vogt G. (1995). Roll-in shortenings effects on danish pastries sensory properties studied by principal component analysis. *Food Science & Technology*. 28:72-77.

- Balki M., Sayin C., Sarikaya M. (2016). Optimization of the operating parameters based on Taguchi method in an SI engine used pure gasoline, ethanol and methanol. *Fuel*. 180: 630-637.
- Barbosa-Ríos J., Castellón-Jardóna J., Guadarrama-Lezama A., Alvarez-Ramirez J., Meraz A., Carrillo-Navas H. (2018). Effect of new generation enzymes addition on the physical, viscoelastic and textural properties of traditional Mexican sweet bread. *Journal of Cereal Science*. 79:160-167.
- Barrera, V., Monteros, A., Tapia, C. (2004). Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador.
- Barrera, V., Monteros, A., Tapia, C. (2004). Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador.
- Bernardino-Nicanor, A., Montañéz-Soto, J., Vivar-Vera, M., Juárez-Goiz, J., Acosta-García, G., and González-Cruz, L. (2016). Effect of drying on the antioxidant capacity and concentration of phenolic compounds in different parts of the *Erythrina Americana* tree. *BioResources*. 11:9741-9755.
- Berti C., Riso P., D.Monti L., Porrini M. (2000). In vitro starch digestibility and in vivo glucose response of gluten-free foods and their gluten counterparts. *European Journal of Nutrition*. 43:198-204.
- Bourne M. (2002). Food Texture and Viscosity. *Food Science and Technology*. Chapter 1 – Texture, Viscosity, and Food. 1-32.
- Brites C., Trigo M., Santos C., Collar C., Rosell C. (2010). Maize-based gluten-free bread: influence of processing parameters on sensory and instrumental quality. *Food Bioprocess Technology*. 3:707-175.
- Bukasov, S. (1963). Las plantas cultivadas de México, Guatemala y Colombia. Perú: s.n.
- Buresova I., Krácmár S., Dvoráková P., Streda T. (2014). The relationship between rheological characteristics of gluten-free dough and the quality of biologically leavened bread. *Journal of Cereal Science*. 60: 271-275.
- Buresova I., Masariková L., Hrivna L., Kulhanová S., Bures D. (2016). The comparison of the effect of sodium caseinate, calcium caseinate, carboxymethyl cellulose and xanthan gum on rice-buckwheat dough rheological characteristics and textural and sensory quality of bread. *LWT-Food Science and Technology*. 68:659-666.
- Camelo-Méndez G., Agama-Acevedo E., Sanchez-Rivera M., Bello-Pérez L. (2016). Effect on in vitro starch digestibility of Mexican blue maize anthocyanins. *Food Chemistry*. 211:281-284.

- CANAINPA. (2014). Cámara Nacional de la Industria Panificadora. México. .
- Cappa C., Lucisano M., Mariotti M. (2013). Influence of Psyllium, sugar beet fiber and water on gluten-free dough properties and bread quality. *Carbohydrate Polymers*. 98:1657-1666.
- Catassi, C., Gatti S., Fasano A. (2014). The New Epidemiology of Celiac Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 59.
- Chirinos R., Betalleluz-Pallardel I., Huamán A., Arbizu C., Pedreschi R., Campos D. (2009). HPLC-DAD characterization of phenolic compounds from Andean oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) tubers and their contribution to the antioxidant capacity. *Food Chemistry*. 113:1243-1251.
- Codex Alimentarius. (2016). CODEX STAN 118-1981. World Health Organization. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Costantini L., Lukšić L., Molinari R., Kreft I., Bonafaccia G., Manzi L., Merendino N. (2014). Development of gluten-free bread using tartary buckwheat and chia flour rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. *Food Chemistry*. 165:232-240.
- de la Hera, E., Rosell, C., Gomez, M. (2014). Effect of water content and flour particle size on gluten-free bread quality and digestibility. *Food Chemistry*. 151:526-531.
- Deligny, C. & Lucas, T. (2015). Effect of the number of fat layers on expansion of Danish pastry during proving and baking. *Journal of Food Engineering*. 158:113-120.
- Demirkesen I., Kelkar S., Campanella O., Sumnu G., Sahin S., Okos M. (2014). Characterization of structure of gluten-free breads using X-ray microtomography. *Food Hydrocolloids*. 36:37-44.
- Demirkesen I., Mert B., Summu G., Sahin S. (2010). Utilization of chestnut flour in gluten-free bread formulations. *Journal of Food Engineering*. 101:329-336.
- Demirkesen I., Mert B., Summu G., Sahin S. (2010). Utilization of chestnut flour in gluten-free bread formulations. *Journal of Food Engineering*. 101:329-336.
- .
- Díaz M. (2001). Tradición, etnografía de la escuela rural mexicana y su contexto familiar y comunitario. Ed. Plaza y Valdez. México.
- Dobraszczyk D. & Salmanowicz B. (2008). Comparison of prediction of baking volume using large deformation rheological properties. *Journal of Cereal Science*. 47: 292-301.
- FAO/WHO. (1998). The role of the glycemic index in food choice. *Carbohydrates in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation Rome*.

- Farrera-Rebollo R., Salgado-Cruz M., Chanona-Pérez J., Gutiérrez-López G., Alamilla-Beltrán L., Calderón-Dominguez G. (2012). Evaluation of image analysis tools for characterization of sweet bread crumb structure. *Food Bioprocess Technology*. 5: 474-484.
- Fernandez-Feo M., Wei G., Blumenkranz G., Dewhirst F., Schuppan D., Oppenhei F. & Helmerhorst E. (2013). The cultivable human oral gluten-degrading microbiome and its potential implications in coeliac disease and gluten sensitivity. *Clinical Microbiology and Infection*.19:386-394.
- Flores T., Alape-Girón A., Flores-Díaz M., Flores H. (2002). Ocatin. A novel tuber storage protein from the Andean tuber crop Oca with antibacterial and antifungal activities. *Plant Physiology*. 12:1291-1301.
- Fratelli C., Muniz D., Santos F., Capriles V. (2018). Modelling the effects of psyllium and water in gluten-free bread: An approach to improve the bread quality and glycemic response. *Journal of Functional Foods*. 42:339-345.
- Giaretta D., Lima V., Carpes S. (2017). Improvement of fatty acid profile in breads supplemented with kinako flour and chia seed. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.
- Giuberti, G., Marti, A., Fortunati, P., Gallo, A., (2017). Gluten free rice cookies with resistant starch ingredients from modified waxy rice starches: Nutritional aspects and textural. *Journal of Cereal Science*. 76:268-275.
- Goñi I., Valentín-Gamazo C. (2003). Chickpea flour ingredient slows glycemic response to pasta in healthy volunteers. *Food Chemistry*. 81:511-515.
- Gularte, M. A. & Rosell, C. M. (2011). Physicochemical properties and enzymatic hydrolysis of different starches in the presence of hydrocolloids. *Carbohydrate Polymers*. 85:237-244.
- Hae, J., Chul, D., Eun, S., Woung, O., Kim, H., Taik, S., Sook, S. (2014). Effects of rice flour size fractions on gluten free rice bread. *Food Science and Biotechnology*. 23:1875-1883.
- Hager A., Wolter A., Czerny M., Jürgen, Zannini E., Arendt E., Czerny M. (2012). Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. *European Food Research Technology*. 235:333-344.
- Hathorn C., Biswas M., Gichuhi P., Bovell-Benjamin A. (2008). Comparison of chemical, physical, micro-structural, and microbial properties of bread supplemented with

- sweet potato flour and high-gluten enhancers. *LWT- Food Science and Technology*. 41:803-815.
- Hoenselaar R. (2012). Saturated fat and cardiovascular disease: The discrepancy between the scientific literature and dietary advice. *Nutrition*. 28:118-123.
- International Potato Center (Centro Internacional de la Papa) (2017). Perú.
- Jan, R., Saxena, D. C., Singh, S. (2016). Physico-chemical, textural, sensory and antioxidant characteristics of gluten-free cookies made from raw and germinated *Chenopodium* (*Chenopodium album*) flour. *LWT-Food Science and Technology*. 71:281-287.
- Kumar R., Sureshkumar K., Veiraj R., (2015). Optimization of biodiesel production from Manilkara zapota (L.) seed oil using Taguchi method. *Fuel*. 40: 90-96.
- Lau E., Yean Y., Zhou W., Henry J. (2015). Can bread processing conditions alter glycaemic response?. *Food Chemistry*. 173:250-256.
- Lazaridou A., Duta D., Papageorgiou M., Belc N., Biliaderis C. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*. 79:1033-1047.
- León, M., Villacorta, M., Pagador, S. (2011). Chemical composition of “Oca” (*Oxalis tuberosa*), “Arracacha” (*Arracaccia xanthorrhiza*) and “Tarwi” (*Lupinus mutabilis*). Formulation of a base mixture for food. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2:239-252.
- Macagnan F., da Silva L., Hecktheuer L. (2016). Dietary fiber: the scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as a carrier of bioactive compounds. *Food Research International*. 85: 144-154.
- Marchetti L., Cardós M., Campaña L., Ferrero C. (2012). Effect of glens of different quality on dough characteristics and breadmaking performance. *LWT-Food Science and Technology*. 46:224-231.
- Mariotti M., Pagani M., Lucisano M. (2013). The role of buckwheat and HPMC on the breadmaking properties of some commercial gluten-free bread mixtures. *Food Hydrocolloids*. 30:393-400.
- Matos M. & Rosell C. (2011). Chemical composition and starch digestibility of different gluten free breads. *Plant Foods for Human Nutrition*. 66.
- Matos M. & Rosell C. (2013). Quality indicators of rice-based gluten-free bread-like products: relationships between dough rheology and quality characteristics. *Food Bioprocess Technology*. 6:2331-22341.

- Matos, M. & Rosell, C. (2012). Relationship between instrumental parameters and sensory characteristics in gluten free breads. *European Food Research Technology*. 235:107-117.
- Mir S., Shah M., Naik H., Zargar I. (2016). Influence of hydrocolloids on dough handling and technological properties of gluten- free breads. *Trends in Food Science & Technology*. 51:49-57.
- Mohammadi M., Sadeghnia N., Azizi M., Neyestani T., Mortazavian A. (2014). Development of gluten-free flat bread using hydrocolloids: Xanthan and CMC. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 20:1812-1818.
- Moroni A., Dal Bello F., Arendt E. (2009). Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue?. *Food Microbiology*. 26:676-684.
- Moscoso J., Quera P. (2015). Celiac disease. A review. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 26: 613-627.
- Neuhouser M., Tinker L., Thomson C., Caan B., Horn L., Snetselaar L., Parker L., Patterson R., Robinson-O'Brien R., Beresford S., Shikany J. (2006), Development of a Glycemic Index Database for Food Frequency Questionnaires Used in Epidemiologic Studies. *The Journal of Nutrition*. 136:1604-1609.
- Ng, S., Robert, S., Ahmad, W., Ishak, W. (2017). Incorporation of dietary fibre-rich oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) powder improves postprandial glycaemic response by interfering with starch granule structure and starch digestibility of biscuit. *Food Chemistry*. 227:358-368.
- Olvera-Obregón K., Zepeda-Gómez S., Lome-Maldonado C., Córdova-Ramón J. (2012). Endoscopic findings in refractory celiac disease by double-balloon enteroscopy. *Endoscopia*. 24:106-109.
- OMS. (2015). Alimentación Sana. Nota descriptiva N° 394. Organización Mundial de la Salud.
- Onyango C., Mutungi C., Unbehend G., Lindhauer M. (2011). Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice. *LWT-Food Science and Technology*. 44:681-686.
- Onyango C., Mutungi C., Unbehend G., Lindhauer M. (2011). Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice. *LWT-Food Science and Technology*. 44:681-686.
- Osimani A., Milanović V., Cardinali F., Roncolini A., Garofalo C., Clementi F., Pasquini M., Mozzon M., Foligni R., Raffaelli N., Zamporlini F., Aquilanti L. (2017). Bread

- enriched with cricket powder (*Acheta domesticus*): A technological, microbiological and nutritional evaluation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.
- Osuna M., Judis M., Romero A., Avallone C., Bertola N. (2014). Improvement of Fatty Acid Profile and Study of Rheological and Technological Characteristics in Breads Supplemented with Flaxseed, Soybean, and Wheat Bran Flours. *The Scientific World Journal*. 2014:1-10.
- Packer S., Dornhorst A., Frost G. (2000). The glycemic index of a range of gluten-free foods. *Diabetic Medicine*. 17: 657-660.
- Parada A., Araya M. (2010). The gluten. Its history and effects in celiac disease. *Medical Research*. 138:1319-1325.
- Pazmiño V. & Lourdes M. (2007). Estudio de la Oca (*Oxalis tuberosa*) y propuesta gastronómica. Quito, Ecuador:s.n.
- Pérez-Nieto, A., Chanona-Pérez, J., Farrera-Rebollo, R., Gutiérrez-López, G., Alamilla-Beltrán, L., Calderón-Domínguez, G. (2010). Image analysis of structural changes in dough during baking. *LWT-Food Science and Technology*. 43:535-543.
- Pineda C. (2008). Síndrome Metabólico, definición, historia, criterios. *Colombia Médica*. 39:96-106.
- Poutanen K., Flander L., Katina K. (2009). Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiology*. 26:693-699.
- Reilly N. (2016). The gluten-free diet: recognizing fact, fiction and fad. *The Journal of Pediatrics*. 175:206-210.
- Renzetti S., de Harder R., Jurgens A. (2016). Puff pastry with low saturated fat contents: The role of fat and dough physical interactions in the development of a layered structure. *Journal of Food Engineering*. 170: 24-32.
- Rios, R., Pessanha, M., Almeida, P., Viana, C., Lannes, S. (2014). Application of fats in some food products. *Food Science and Technology*. 34:3–15.
- Rodríguez L. (2010). Enfermedad celiaca. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*. 34:49-59.
- Rózyło, R., Hameed-Hassoon, W., Gawlik-Dziki, U., Siastala, M. and Dziki D. (2016). Study on the physical and antioxidant properties of gluten-free bread with brown algae. *CYTA-Journal of Food*. 15:1-8.
- Sakac, M., Torbica, A., Sedej, I., Hadnadev, M. (2011). Influence of Breadmaking on antioxidant capacity of gluten free breads based on rice and buckwheat flours. *Food Research International*, 44:2806-2813.

- Sánchez-Pardo M., Ortiz-Moreno A., García-Zaragoza F., Necochea-Mondragón H., Chanona-Pérez J. (2012). Comparison of pound cake baked in a two cycle microwave-toaster oven and in conventional oven. *LWT-Food Science and Technology*. 46: 356-362.
- Sangketkit C., Savage G., Martin R., Mason S. (2001). Oxalate content of raw and cooked Oca (*Oxalis tuberosa*). *Journal of food Composition and Analysis*. 14:389-397.
- Santos S. & Salas-Mellado M., (2017). Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. *Food Chemistry*. 227:237–244.
- Scazzina F., Dall'Asta M., Casiraghi M., Sieri S., Del Rio D., Pellegrini N., Brighenti. (2016). Glycemic index and glycemic load of commercial Italian foods. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 26:419-429.
- Schober T., Bean S., Boyle D., Park S. (2008). Improved viscoelastic zein-starch doughs for leavened gluten-free breads: their rheology and microstructure. *Journal of Cereal Science*. 48:755-767.
- Silow C., Zannini E., Axel C., Lynch K., Arendt E. (2016). Effect of salt reduction on wheat-dough properties and quality characteristics of puff pastry with full and reduced fat content *Food Research International*. *In press*.
- Spahillari A., Mukamal K., DeFilippi C., Kizer J., Gottdiener J., Djoussé L., Lyles M., Bartz T., Murthy V., Shah R. (2016). The association of lean and fat mass with all-cause mortality in older adults: The cardiovascular health study. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 20:1-9.
- Velez, N., Gómez-Sanchis, J., Chanonna-Pérez, J., Carrasco, J., Millán-Giraldo, M., Lorente, D., Cubero, S., Blasco, J. (2014). Early detection of mechanical damage in mango using NIR hyperspectral images and machine learning. *Biosystems Engineering*, 122, 91-98.
- Vici G., Belli L., Biondi M., Polzonetti V. (2016). Gluten-free diet and nutrient deficiencies: a review. *Clinical Nutrition*. 30:1-6.
- Vives L. (2012). El croissant, un manjar muy calórico y poco saludable. *WEBRUN SPORT*.
- Wagner G., Zeiler M., Grylli V., Berger G., Huber W., Woeber C., Rhind C., Karwautz A. (2016). Coeliac disease in adolescence: coping strategies and personality factors affecting compliance with gluten-free diet. *Appetite*. 101:55-61.
- Wagner, G., Zeiler, M., Grylli, V., Berger, G., Huber, W., Woeber, C., Rhind, C., Karwautz, A. (2016). Coeliac disease in adolescence: coping strategies and personality factors affecting compliance with gluten-free diet. *Appetite*. 101:55-61.

- WGO (2012) World gastroenterology organization global guidelines: celiac disease.
- Wijendran V. and Hayes K. (2004). Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. *Annu. Rev. Nutr.* 24:597-615.
- Wolever T. (2004). Effect of blood sampling schedule and method of calculating the area under the curve on validity and precision of glycaemic index values. *British Journal of Nutrition.* 91:295–300.
- Wolever T. *et al.* (2008). Measuring the glycemic index of foods: interlaboratory study. *American Journal of Clinical Nutrition.* 87: 247-257.
- Wordu G. & Banigo E. (2013). Evaluation of the glycemic index of some cooked variety of rice products in Nigeria. *Net Journal of Agricultural Science.* 1:38-41.
- Ziobro, R., Witczak, T., Juszcak, L., Korus, J. (2013). Supplementation of gluten-free bread with non-gluten proteins. Effect on dough rheological properties and bread characteristic. *Food Hydrocolloids.* 32:213-220.

ANEXOS

Original paper

Quality Evaluation of Gluten-free Danish Bread Employing Different Flours and Starches

Espino-Manzano SALVADOR¹, Güemes-Vera NORMA^{1*}, Chanona-Pérez JOSÉ JORGE², Bernardino-Nicanor AUREA³, Hernández-Uribe JUAN PABLO¹, Castañeda-Ovando ARACELI⁴, Piloni-Martini JAVIER¹ and Alanís-García ERNESTO⁵

¹*Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH). Av. Universidad km 1, Rancho Universitario ex-Hacienda de Aquetzalapa, CP 43600, Tulancingo Hgo., México.*

²*Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional (IPN), Av Wilfrido M. Gustavo A. Madero. CP 07738 CDMX, México.*

³*Instituto Tecnológico de Celaya, Antonio García Cubas No. 600, Fovissste, Celaya Gto., México.*

⁴*Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería – UAEH. Carretera Pachuca-Tulancingo km. 4.5. CP 42074, Mineral de la Reforma Hgo., México*

⁵*Instituto de Ciencias de la Salud – UAEH. Circuito Ex Hacienda La Concepción s/n Carretera Pachuca-Actopan CP 42160 San Agustín Tlaxiaca, Hgo., México*

Received January 26, 2018 ; Accepted May 20, 2018

Coeliac disease has recently attracted interest in food science research. In search of gluten-free (GF) bread with good quality and nutritional value, several sources have been used in the formulation of GF composite flours. The goal of the present work was to study the textural and physical properties as well as the nutritional and sensory characteristics of GF Danish bread made with composite flour based on a mixture of flours and starches. First, we identified the optimal GF formulation by experimental orthogonal design. Regarding bread quality, optimisation of the doughs positively affected the textural and physical parameters of the bread. Moreover, some nutritional values were improved by increasing the ash and slowly digestible starch, and these breads had higher total phenol content and antioxidant capacity. In sensory analysis, the optimized breads received higher scores for flavour, aroma and overall acceptance attributes from the panellists.

Keywords: gluten-free, Danish bread, orthogonal design, bread quality, nutrients, sensory analysis

Introduction

Coeliac disease currently affects 150 million people (approximately 2% of the world's population). This disease is caused by the ingestion of foods containing wheat gluten or related barley, rye and oat proteins that result in an

inflammatory injury to the mucosa of the small intestine, which interferes with the absorption of other nutrients as well. Thus, the only treatment is a gluten-free (GF) diet for life (Wagner *et al.*, 2016). For that reason, coeliac sufferers require alternatives to wheat-based products such as pastas, cookies, cakes and

Abbreviations: CVS: Computer vision system; GF: Gluten-free; GFB: Gluten-free bread; GFSG: gluten-free bread control; OP1: Optimal treatment 1; OP2: Optimal treatment 2; RDS: Rapidly digestible starch; RP: Red potato; RPF: Red potato flour; RS: Resistant starch; SDS: Slowly digestible starch; TPA: Texture profile analysis; TPC: Total phenol content; WBC: Wheat bread control

*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: njgv2002@yahoo.com.mx

breads, such as croissants. The croissant is a bread made with Danish pastry and is commonly eaten at breakfast or dinner (Deligny and Lucas, 2015). Among the foods that coeliac patients can eat, bread is of special importance regarding quality and nutritional value (Matos and Rosell, 2011). The main challenge in the production of gluten-free bread (GFB) is to mimic the physicochemical properties that the gluten network imparts to the wheat dough in forming the crumb, which allows extensibility, elasticity and retention of CO₂ generated during fermentation and confers sensory characteristics such as softness, flavour and aroma (Therdthai and Zhou, 2003; Poutanen *et al.*, 2009). In recent studies, the nutritional deficiencies of GF products have been investigated, which include low dietary fibre, minerals (calcium, magnesium and iron), vitamins (B12, D and folate) and protein, as well as an excess of saturated fat and a high glycaemic index (GI \geq 70; Vici *et al.*, 2016). GF products are made with flours and/or starches of different crops (tubers, cereals, seeds, and legumes), as well as some additives (hydrocolloids, protein isolates and/or enzymes), whose main function is to mimic the physicochemical properties of gluten (Ziobro *et al.*, 2013; Demirkesen *et al.*, 2014; Hae *et al.*, 2014; Mohammadi *et al.*, 2014; Aprodu *et al.*, 2015; Mir *et al.*, 2016). Tubers such as red potato (RP; *Oxalis tuberosa*) can be used for GFB. RP is an endemic crop of the Andes cultivated in highlands of Ecuador, Peru and Bolivia and other countries of South America. It can also be found in New Zealand, Australia and Mexico (Flores *et al.*, 2002). RP is used in soups, stews, boiled, mashed, baked like potatoes, and served as a sweet (Sanketkit *et al.*, 2001). However, it is also a low-calorie food that provides 30 kcal per 100 g. Studies by Chirinos *et al.*, (2009) found phenolic compounds in RP, so if it is used in GFB, it might provide some antioxidant capacity. The aim of this study was to evaluate the effect of red potato flour (RPF) in combination with other raw materials (rice, maize, potato and cassava) in GF Danish bread through bread quality tests (texture, volume, colour and image analysis), nutritional value (proximate composition, *in vitro* starch digestibility), antioxidant capacity and sensory analysis.

Materials and Methods

Materials and bread formulation As a control, Danish pastry was formulated with wheat flour (42%; San Antonio Tres Estrellas, Grupo La Moderna, Mexico), salt (0.4%; La Fina, Sales del Itsmo, Mexico), sucrose (4.2%; Zulka, Zucarmex, Mexico), dry yeast (1.3%; Azteca, Levadura Azteca S.A. de C.V., Mexico), dry egg (2%; Ovopol, Ovoplus del Centro S.A. de C.V., Mexico), milk (8.4%; Alpura, Grupo Alpura, Mexico), water (25%) and fat (16.7%; Flex Azul, Unilever, Mexico). For GF treatments, the wheat flour was substituted by GF flour based on rice flour (13.5%; Tres estrellas, Grupo La Moderna, Mexico), cassava starch (8.6%; Fabsa de Oriente S.A. de C. V., Mexico), potato starch (7.1%; Fabsa de Oriente S.A. de C. V.,

Table 1. Bread formulations for flours of controls and treatments

	TTR	GFSG	OP1	OP2
Wheat flour (g)	100	-	-	-
Gluten-free flour (g)				
Rice flour	-	32	32	-
Corn starch	-	27	27	27
Cassava starch	-	20.5	-	20.5
Potato starch	-	17	-	-
Red potato flour	-	-	37.5	49
Hydrocolloid *	-	3.5	3.5	3.5

TTR: wheat bread control, GFSG: gluten free bread control, OP1: Optimal treatment 1, OP2: Optimal treatment 2.
*Wellence Gluten Free, DOW chemical Pharma & Food Solutions, Germany

Mexico), corn starch (11.3%; Maizena, Unilever, Mexico) and hydrocolloid (1.5%; Wellence Gluten Free, DOW chemical Pharma & Food Solutions, Germany) (Table 1). RPs were purchased from the local market in Singuilucan, Hgo., México, from the 2015 winter harvest at a state of physiological maturity. It was used in the experimental design in place of flour and starches. RPF was obtained according to the methods of Hathorn *et al.* (2008), with some modifications. Briefly, the tubers were selected, washed, peeled and cut into 2 mm slices, which were placed on trays and dried in a conventional oven (Kitchen Aid, KOSE500EBS, USA) at 40 °C for 24 h. The dried sample was ground using a blade grinder (IKA, MF 10.1, USA) and passed through a No. 35 sieve.

Bread making procedure Danish pastry was made from dough fermented with all the ingredients except the fat. The ingredients were combined in a mixer (Kitchen Aid, Professional 600, USA) for 5 min at medium speed. Subsequently, the dough was extended and rolled, incorporating the fat. Rolling consisted of extending the dough up to a 6-mm thickness, making a fold and joining the ends of the dough in the centre. This process was repeated three times. After obtaining the layered dough, it was fermented for 120 min at 30 °C. The dough was rolled again and cut into triangles, each with base of 10 cm and corresponding height of 10 cm. Each triangle was rolled, starting from the base, to form the croissant. It was fermented for a further 30 min and finally baked at 180 °C for 20 min (Deligny and Lucas, 2015).

Texture profile analysis of dough and bread The texture profile analysis (TPA) of the dough and bread was determined in a texturometer (Brookfield, CT3 Texture Analyzer, USA), following the methodology of Bourne (2002). Hardness (N), adhesiveness (mJ), cohesiveness and springiness (dimensionless) were determined.

Dough extensibility Uniaxial elongation properties of doughs were analysed using the Kieffer Dough and Gluten Extensibility Rig for the texturometer (Brookfield, CT3 Texture Analyzer, USA). The dough extensibility (mm) was measured by the distance at which sample rupture occurred, according to

the method AACC 54-10 (2000).

Bread analysis

Specific volume and bake weight loss Bread volume was determined by seed displacement (AACC 10-05 method, 2000). Based on the weight of the product, the specific volume in cm³/g was calculated. The bake weight loss was calculated by Eq. 1 (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

$$\text{Bake weight loss \%} = \frac{(\text{dough weight} - \text{cooled bread weight})}{(\text{dough weight})} \times 100 \dots \text{Eq. 1}$$

Colour of crust and crumb To determine the instrumental colour parameters (L^* , a^* and b^*) digital photos were taken of the bread crumb and crust as described by Velez *et al.* (2014) using a computer vision system (CVS), which consisted of a hemispherical diffuser dome that contained the inspection zone, a lighting system and a capture system (Canon, Power shot SX110 IS camera, Japan) connected to a PC. The digital images of the samples were processed using ImageJ 1.49v software (National Institutes of Health, USA), selecting 12 regions of 350x350 pixels. The images were converted into RGB values with the colour space converter plug-in, which interpolated the RGB values to the values L^* (luminosity), a^* (red-green component) and b^* (yellow-blue component).

Crumb structure The crumb structure of the treatments was analysed by image analysis (modified by Sanchez-Pardo *et al.*, 2012), wherein six samples of bread were cut in half with a serrated knife to obtain 12 halves. Image capture was performed by the CVS described above. The image was trimmed in the centre with a size of 720x720 pixels (4.0 cm², 1 pixel = 0.0278 mm) and saved in TIFF format. Afterward, each image was converted to 8-bit format (grayscale) and segmented using the Otsu algorithm, which generates highly uniform binary images for analysis. ImageJ 1.49v software (National Institutes of Health, USA) was used. The following parameters were measured: 1) area of the cells, 2) average area of the cells, 3) cell density per cm² and 4) percentage of dispersed phase (defined as the percentage of air trapped in the crumb per unit area).

Fractal dimension of the crust texture For crust images, the fractal dimension of the crust texture was evaluated by power-law scaling using the shifting differential counting method (FD_{SDBS}). FD_{SDBS} was calculated using the SDBC plug-in of ImageJ 1.49v software (National Institutes of Health, USA). FD_{SDBS} was estimated from the slope in the log (box count) vs log (box size) plot and by Eq. 2, where “ N ” is the number of boxes and “ r ” is the length of the box side

$$FD_{SDBC} = \log(N) / \log\left(\frac{1}{r}\right) \dots \text{Eq. 2}$$

The results of FD_{SDBS} show the roughness of the surface with a possible range of values from 2 to 3. Values near 2 are associated with smooth surfaces and values close to 3 with rough surfaces (Pérez-Nieto *et al.*, 2010). Finally, images of the crust texture were obtained with the Interactive 3D Surface Plot plug-in.

Nutritional characteristics

Proximate composition Proteins (46-12.01), lipids (30-10.01), moisture (44-19.01), ash (08-01.01) and dietary fibre (32-05.01) contents of the breads were determined according to AACC methods. Carbohydrates were calculated by difference between these components and total weight.

Total starch and in vitro starch digestibility Total starch of samples was determined by assay kit (Megazyme, K_TSA 07/11, Ireland). For starch digestibility, enzymatic hydrolysis of samples was determined following the method reported by Gularte and Rosell (2011), using 100 mg of powdered bread. According to the hydrolysis rate of starch, three different fractions were quantified. Rapidly digestible starch (RDS) referred to the percentage of total starch that was hydrolysed within 30 min; slowly digestible starch (SDS) was the percentage of total starch hydrolysed within 30 and 120 min and resistant starch (RS) was the remaining starch after 16 h of incubation.

Total phenol content (TPC) and determination of antioxidant capacity (DPPH assay)

The TPC was determined according the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method. The phenolic compound fraction was obtained by aqueous extract. The extract was centrifuged at 4,000 rpm for 20 min. A 1580 µL volume of the extract and 100 µL Folin-Ciocalteu reagent were mixed. The mixture was allowed to react for 8 min with 300 µL sodium carbonate (20 % w/v). After this incubation, the mixture was reacted for 15 min at 50 °C. The absorbance at 765 nm was then determined. The results were expressed as gallic acid equivalents (GAE) in µg/g, using a gallic acid (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) standard curve. The DPPH radical scavenging capacity assay was used for the determination of antioxidant capacity, using the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). In brief, 0.1 mL of aqueous phenolic extract was mixed with 3.9 mL of DPPH in methanol (6x10⁻⁵M). The reduction of absorbance was read at 516 nm for 60 min as outlined by Bernardino-Nicanor (2016). The percentage of scavenging effect was calculated using Eq. 3.

$$I \% = (A_0 - A_s / A_0) \times 100 \dots \text{Eq. 3}$$

Where I % is the percentage of scavenging, A_0 is the absorbance of the control, and A_s is the absorbance of the test sample.

Sensory evaluation A semi-trained panel of twelve members evaluated the sensory properties of the breads. The samples were coded with specific numbers to eliminate bias. Panellists were instructed to evaluate the appearance, crust colour, crumb colour, texture (softness, firmness), flavour, chewiness (ability to chew and swallow the bread), aroma and overall acceptance. A nine-point hedonic scale with 1, dislike extremely; 5, neither like nor dislike and 9, like extremely was used (Jan *et al.*, 2016).

Statistical analysis In this research, an orthogonal design

Table 2. TPA and extensibility of optimal formulations according to the criteria of the Taguchi orthogonal design L16 (2x4)

Texture profile analysis in dough								
Factor	Level	Hardness (N)	Adhesiveness (mJ)	Cohesiveness	Springiness	Extensibility (mm)	OP1	OP2
Rice flour	-	4.63	0.72	0.402	0.51	10.69	-	
	+	3.57	0.57	0.368	0.46	12.38		+
Corn starch	-	4.31	0.59	0.394	0.51	11.93	-	-
	+	3.89	0.70	0.376	0.46	11.14		
Cassava starch	-	4.29	0.54	0.379	0.50	12.28		-
	+	3.90	0.75	0.391	0.48	10.79	+	
Potato starch	-	4.36	0.68	0.379	0.49	12.35		
	+	3.83	0.62	0.391	0.49	10.72	+	+

+: with red potato flour. -: without red potato flour. OP1: optimal treatment 1. OP2: optimal treatment 2. *Minitab*® 16.1.0

was used with an L16 (2x4) arrangement to select the optimal formulations that resulted in the best GF croissants made with RPF. The design factors were rice flour, corn starch, cassava starch, and potato starch. These factors were evaluated at two different levels, wherein each was substituted with RPF. Based on a selection of the response variables that had the greatest impact on the product's characteristics, the criteria of the statistical design were nominal-is-better, lower-is-better and higher-is-better. The response variables selected for dough optimisation are based on textural tests and dough extensibility. Low values were chosen for the parameters of hardness (N) and adhesiveness (mJ), whereas higher values were chosen for the parameters of cohesiveness, springiness and extensibility (mm). ANOVA ($p > 0.05$) and Tukey tests for each factor were used as measures of the level of significance and percent contribution. Minitab 16.1 software was used for statistical analysis (Minitab Inc., USA).

Results and Discussion

Optimisation of gluten-free dough Table 2 shows the results of TPA and extensibility of the orthogonal design where two optimal formulations were obtained. OP1 was made with GF flour, based on rice flour (13.5%), corn starch (11.3%), RPF (15.75%) and hydrocolloid (1.5%). OP2 was made with GF flour, based on cassava starch (8.6%), corn starch (11.3%), RPF (20.6%) and hydrocolloid (1.5%). Table 2 shows the verification of predicted results (OP1 and OP2) by dough TPA and extensibility tests. The hardness of OP1 and OP2 was significantly lower ($p < 0.05$) with respect to the controls. This hardness reduction in GF dough (GFSG, OP1 and OP2) was due to the type of flour used in the preparation. In wheat bread control (WBC), the use of wheat flour has the behaviour of a viscoelastic fluid due to its gluten content, which increases the product's resistance compared to GF doughs. Renzetti *et al.* (2016) showed that in the elaboration of laminated dough, a higher fat content produces a better response in the rolling process, and a more stable crumb structure is achieved. They

also showed that there is a correlation between proper distinction of the layers (fat and dough) with the expansion of the bread and the structure of the crumb. Adhesiveness, defined as the work required to overcome the attractive force between the sample and the contact surface, indicated that OP1 and OP2 were significantly different ($p < 0.05$) compared to the control. This behaviour may be due to RPF and the hydrocolloid. Mir *et al.* (2016) observed that the use of hydroxypropylmethylcellulose in the preparation of GFB increases the springiness and viscosity of dough, where hydrogen bonds interacting with hydrocolloids determines their characteristics. Excessive adhesiveness is counterproductive when rolling the dough; it causes melting of the layers and degrades the structure of the Danish bread. Compared to WBC, cohesiveness, springiness and extensibility were lower in OP1 and OP2. These viscoelastic characteristics that the gluten gives to dough made from wheat flour are reflected in processing (Dobraszczyk and Salmanowicz, 2008). Cohesiveness, springiness and extensibility were higher in OP2 than OP1, in which the higher protein content of RPF causes the formation of links between peptides and proteins that confer viscoelastic properties to the dough. Other studies have shown that the use of hydrocolloids influences this type of property, where among other parameters, it improves cohesiveness, increases elasticity and is able to integrate the dough by absorbing water at low temperatures (Lazaridou *et al.*, 2007). Extensibility is a measure of the tensile strength of the dough. It is related to the quality of gluten (in wheat dough) and to the expansion of the bread (volume). The extensibility provides a measure of the dough's ability to retain the air that forms the structure during kneading, fermentation and baking. In the case of laminated dough, it is possible to obtain more uniform and defined layers. In GF dough, it can be observed that extensibility values do not exceed 50% of WBC, so that the treatments (mixtures of flours, starches and hydrocolloids) cannot be projected yet to completely mimic the viscoelastic properties of gluten. The study of doughs is fundamental for the development of quality breads, because it allows a better understanding of the

Table 3. Textural, physics and structural evaluation of gluten-free breads

	TTR	GFSG	OP1	OP2
Texture profile analysis				
Hardness (N)	8.78±0.09 ^b	4.77±0.10 ^a	4.30±0.72 ^c	5.02±0.27 ^c
Adhesiveness (mJ)	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a	0.0±0.00 ^a
Cohesiveness	0.408±0.01 ^d	0.508±0.02 ^c	0.883±0.01 ^a	0.732±0.05 ^b
Springiness	0.7±0.00 ^b	0.8±0.00 ^a	0.8±0.00 ^a	0.8±0.00 ^a
Specific volume (cm ³ /g)				
	5.58±0.02 ^a	3.02±0.01 ^d	3.56±0.02 ^c	4.11±0.05 ^b
Baking weight loss (%)				
	10.8±0.17 ^c	17.6±0.32 ^a	15.9±0.45 ^b	14.5±0.99 ^b
Crust color				
<i>L</i> *	70.23±0.50 ^b	85.03±0.36 ^a	62.64±0.32 ^c	53.51±0.36 ^d
<i>a</i> *	14.50±0.18 ^b	-1.35±0.06 ^d	8.31±0.02 ^c	16.08±0.12 ^a
<i>b</i> *	47.20±0.11 ^a	41.72±0.02 ^b	37.83±0.11 ^c	37.12±0.36 ^d
Crumb color				
<i>L</i> *	94.25±0.12 ^a	92.52±0.31 ^b	61.98±0.18 ^d	70.27±0.06 ^c
<i>a</i> *	-3.80±0.13 ^c	-4.15±0.07 ^d	7.17±0.08 ^a	2.26±0.14 ^b
<i>b</i> *	15.37±0.40 ^d	23.16±0.17 ^c	31.62±0.05 ^c	27.84±0.20 ^b
Crumb structure				
Cell area (mm ²)	162.12±11.86 ^b	100.94±20.18 ^c	192.91±8.89 ^a	204.87±14.82 ^a
Average cell area (mm ²)	2.69±0.43 ^a	1.40±0.20 ^b	1.51±0.12 ^b	2.54±0.16 ^a
Cell density per cm ²	15.33±2.35 ^c	18.04±2.30 ^{bc}	32.04±1.78 ^a	19.79±1.04 ^b
% Dispersed phase (air)	40.8±3.04 ^b	25.3±5.03 ^c	19.79±1.04 ^b	50.5±3.04 ^a

Different letters in the same file mean significant differences $p < 0.05$ according to the Tukey test. TTR: wheat bread control, GFSG: gluten free bread control, OP1: Optimal treatment 1, OP2: Optimal treatment 2. Total area: 4 cm²

characteristics and behaviour of the raw material involved. This allow to evaluate the best strategies to use in the processes, with the aim of increasing productivity and profitability in the food industry.

Bread analysis Results of the bread analysis are shown in Table 3. In bread TPA, the relationship between the product form, the structure and the processing technique directly influenced the hardness of the bread, because the composition and arrangement of the structure opposes deformation (Schober *et al.*, 2008). The use of hydrocolloids increases GFB cohesiveness by interacting with the water in the dough and forming hydrogen bonds. Additionally, the formation of a gel due to the presence of starch produces a “gummy” property, which is caused by gelatinisation of starch in baking (Matos and Rosell, 2012). Springiness was higher in GFB compared to the WBC control, with significant differences ($p < 0.05$). This parameter is directly related to cohesiveness. The quality of the bread is associated with the volume and structure of the crumb, which also depends on the gluten. For volume and baking weight loss measurements, 100 g of dough was taken. Among the treatments, the specific volume decreased, and the baking weight loss increased ($r = 0.98$). The water content and the formation of the crumb structure during baking gave volume to the product through the generation of CO₂ and steam. However, in the GFB, the formation of a gel, caused by the starches

(Naito *et al.*, 2005), that is only thermostable for a short time does not allow for the retention of water in the final structure, resulting in a dryer product with less volume (Onyango *et al.*, 2011). Colour is an important factor for consumer acceptance of the product. The crust colour, *L** (luminosity) is affected by the composition and colour of the raw material. The values of *b** (+*b*=yellowness, -*b*=blueness) showed the characteristic golden colour of bread (Cappa *et al.*, 2013). High values of parameter *b** were observed in WBC and GFSG, which presented a golden crust, whereas in OP1 and OP2, the addition of RPF decreased the values of this parameter. The RPF had violet coloration, and this directly influenced the colour of the crumb and crust of the bread. The reddish colour of the tuber is due to the content of anthocyanins present in the pericarp and mesocarp, which have been shown, along with other phenolic compounds, to have antioxidant capacity (Chirinos *et al.*, 2009, Alcalde-Eon *et al.*, 2004). The colour of the crumb was similar to that of the crust, with the luminosity affected by the type of raw material. In addition, the *a** and *b** values presented significant differences ($p < 0.05$) between the treatments. In the evaluation of the crumb structure, a correlation index $r = 0.99$ between the cell area and the dispersed phase was seen (Fig. 1), and there were significant differences between treatments ($p < 0.05$). The dispersed phase indicates the amount of air that formed the structure of the crumb (Farrera-

Rebollo *et al.*, 2012) and the solid phase of the Danish pastry is formed by alternating layers of dough (fermented) and fat that result in a structure of elongated cells and an open and non-uniform crumb (Renzetti *et al.*, 2016). WBC had the characteristic structure of Danish bread (Fig. 2a) with a dispersed phase percentage of 40.8%, which was related to the specific volume. GFSG had the lowest percentage of dispersed phase, at 25.29%, which represented a compact structure and was related to the hardness of the bread (Fig. 2b). OP1 and OP2 (Fig. 2c and 2d) showed a dispersed phase percentage of 48.66% and 50.56% respectively, however, the absence of gluten did not allow the formation of a defined structure, resulting in a structure similar to pound cake (Farrera-Rebollo *et al.*, 2012). The relationship between the average area of the cells, the cell per cm² and the dispersed phase (Fig. 2e-2h), finally defines the structure of the product, which in turn is derived from composition of raw materials and processing. None of the GF treatments maintained the characteristic structure of Danish bread. Hager *et al.* (2012) performed a comparison of GFB structure from different origins and compared it with wheat counterparts, finding that bread made with oatmeal was the only one that presented a structure similar to wheat; however, these breads were made from a batter and not with dough, which changes the properties of the product. It was shown that the average cell size had a correlation index ($r = 0.88$) with respect to the specific bread volume, where a larger cell size reflected a volume increase in the product (Fig. 1b). The average cell size is affected by internal dough bonds and their expansion limit produced by steam and CO₂ from fermentation. GFB can have fractures, affecting the quality of the product. It has been demonstrated that the use of hydrocolloids can avoid fractures in the product and delay retrogradation (Demirkesen *et al.*, 2014, Mohammadi *et al.*, 2014). Fig. 3 shows the fractal texture values (FD_{SDBC}) of the crust and a 3D representation of the crust topography. In terms of roughness, according to Pérez-Nieto *et al.* (2010), values close to 2 are associated with smooth surfaces and values close to 3 with rough surfaces. We also observed that WBC (Fig. 3b) had a more stable surface with no fractures, whereas GFSG, OP1 and OP2 (Fig. 3c and 3e) presented fractures in the crust. These fractures were directly associated with the bread volume, where a correlation index of $r = 0.92$ was observed between the FD_{SDBC} values and the specific volume (Fig. 1c). Low specific volume values correlated with lower values of FD_{SDBC} , indicating that a more stable structure with no surface ruptures tended to result in a product with higher volume.

Nutritional characteristics and antioxidant activity of breads The nutritional composition, *in vitro* digestibility and antioxidant activity of breads are shown in Table 4. For the proximate composition, the results showed that protein is higher in WBC, due to the gluten content, compared with the GFB. GFSG showed the lowest value, as a consequence of gluten absence. In OP1 and OP2, the addition of RPF increased

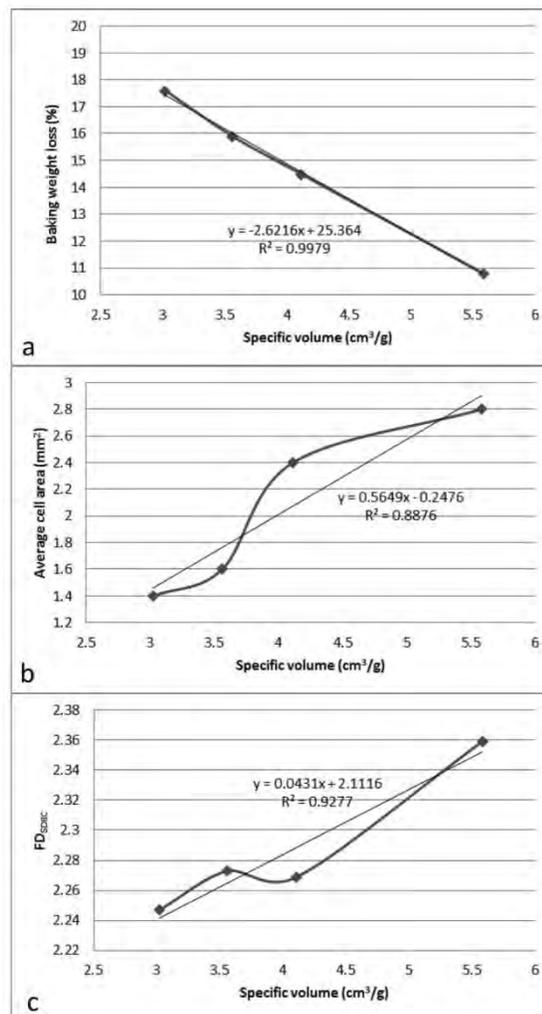


Fig. 1. Correlation index between quality bread parameters

the protein content. Ash was higher in OP1 and OP2, which means the micronutrients are higher. León *et al.* (2011) identified various minerals in RP, including iron, phosphorus, calcium and zinc. They also found some vitamins (A, B1, B2, B3, B12, and C). These micronutrients might increase the nutritional value of the product. For fat content, which directly influences the energetic content, WBC had the highest (367.99 kcal). In GFSG, OP1 and OP2, a reduction of fat content may have been caused by the use of flours rich in starch. The carbohydrates were higher in GFB, within which dietary fiber was especially higher in OP1 and OP2 than WBC and GFSG. Non-fibre carbohydrates were 44.59% in WBC and 55.23% in OP1, and this was reflected in starch digestibility. In bread, the main component is starch, which results in rapid degradation in the small intestine as almost all the starch is gelatinized (de la Hera *et al.*, 2014). It was observed that the RDS content in breads is above 33%, which leads to a rapid

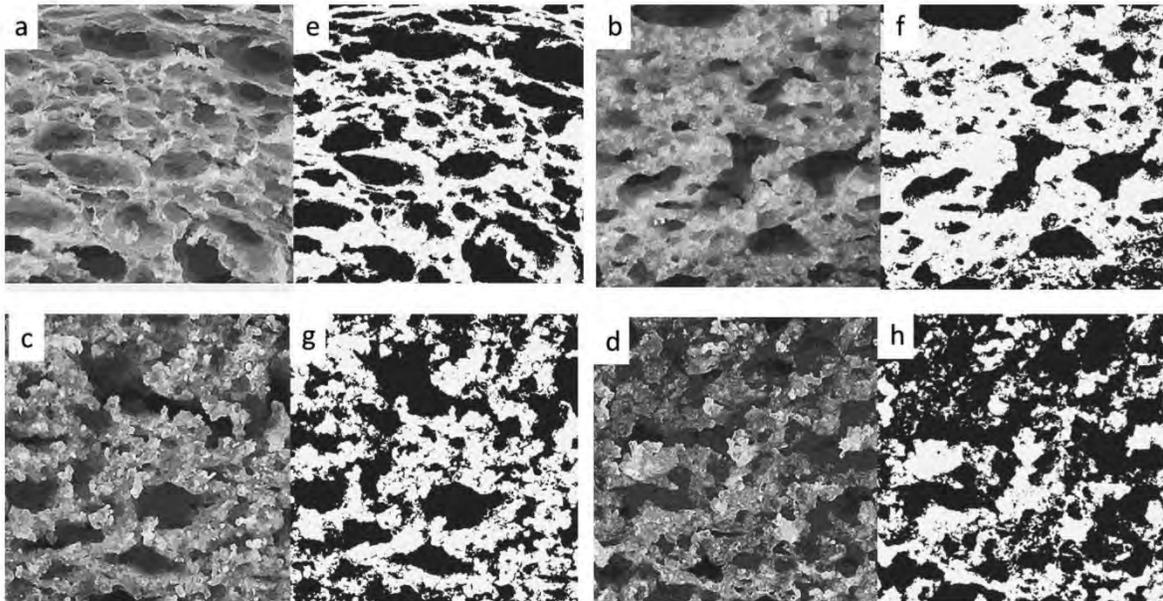


Fig. 2. Gray level images 40×40 mm field of view of the treatments: (a) TTR, (b) GFSG, (c) OP1 and (d) OP2. (e-h) Segmented images with the Otsu thresholding algorithm.

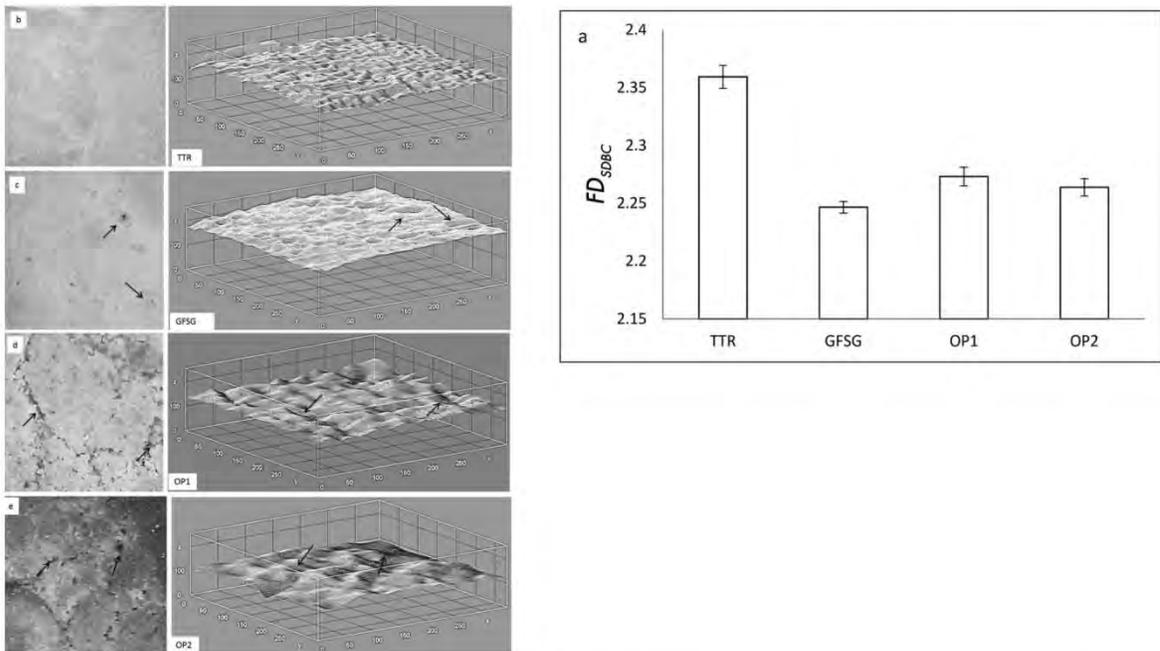


Fig. 3. Fractal dimension of the crust texture. (a) FD_{SDBC} : fractal dimension obtained by means of shifting differential box counting method, different letters in the graph mean significant differences $p < 0.05$ according to the Tukey test. (b-e) Crust images corresponding to surface intensity plot. Arrows shows the fractures in crust of the treatments.

digestion of the product and an increase in blood glucose. Wherever, SDS is present mostly in OP1 and OP2 due to the addition of RPF. SDS is slowly digested in the small intestine and it directly correlated with a reduction of the postprandial

glycaemic response. The higher content of SDS in OP1 and OP2 could be caused by the partial gelatinisation of native starch. Native starch is hydrolysed slowly compared to the gelatinized starch, in which the crystallinity and molecular

Table 4. Nutritional value and antioxidant activity of gluten-free breads

	TTR	GFSG	OP1	OP2
Proximate composition (g/100 g db)				
Ashes	0.99 ^d ±0.02	1.05 ^c ±0.03	1.74 ^b ±0.01	1.86 ^a ±0.02
Proteins	8.84 ^a ±0.04	4.88 ^c ±0.08	5.53 ^b ±0.02	5.65 ^b ±0.02
Lipids	17.14 ^a ±0.13	13.75 ^b ±0.13	10.26 ^c ±0.09	13.65 ^b ±0.03
Dietary fiber	0.16 ^c ±0.02	0.15 ^c ±0.02	0.47 ^b ±0.04	0.64 ^a ±0.01
Carbohydrates (by difference)	44.59 ^d ±0.13	52.69 ^b ±0.16	55.23 ^a ±0.08	51.85 ^c ±0.11
Energetic content (kcal)	367.99 ^a ±0.40	354.04 ^b ±1.33	335.44 ^c ±0.63	352.84 ^b ±0.33
<i>In vitro</i> starch digestibility (g/100 g db)				
Total starch	42.56 ^d ±0.14	51.03 ^b ±0.83	53.17 ^a ±0.17	48.77 ^c ±0.05
Rapidly digestible starch	36.84 ^b ±0.04	40.04 ^a ±0.08	35.11 ^c ±0.08	33.69 ^d ±0.15
Slowly digestible starch	4.55 ^d ±0.03	9.13 ^c ±0.04	16.45 ^a ±0.05	13.48 ^b ±0.06
Resistant starch	1.25 ^c ±0.03	1.49 ^b ±0.02	1.60 ^a ±0.02	1.59 ^a ±0.03
Total phenolic content (gallic acid equivalent µg/g)	267.29 ^b ±7.64	178.89 ^c ±6.01	790.64 ^a ±7.35	797.45 ^a ±4.99
DPPH % radical scavenging capacity (1%)	3.72	2.90	17.89	26.96

Different letters in the same file mean significant differences $p < 0.05$ according to the Tukey test. TTR: wheat bread control, GFSG: gluten free bread control, OP1: Optimal treatment 1, OP2: Optimal treatment 2. db, dry basis.

order have been lost and the accessibility of substrate to amylases is greater (Ng *et al.*, 2017). RS is a particular form of starch able to reach the large intestine of human subjects mainly undigested, where it can be fermented by gut microbiota, increasing dietary fibre. It has been observed that in GFB, the RS content is higher. This might be because retrogradation of starch after baking (RS type III) is greater, which is correlated with the weight lost, due to ineffective retention of water caused by the absence of gluten (Giuberti *et al.*, 2017). The results showed that there TPC was 300 % higher for OP1 and OP2 compared to WBC. This could be caused by the addition of RPF. Chirinos *et al.*, (2009) identified phenolic compounds in RP (anthocyanins, flavanols, cinnamic and benzoic acids). They demonstrated that the bioactive compounds present in RP have antioxidant capacity. They reported a radical scavenging of 72 % to 80 %. In this research, the antioxidant activity was measured by a DPPH radical scavenging capacity assay, which showed that the highest percentage of radical scavenging was OP2 (26.96 %), followed by OP1 (17.89 %). The antioxidant compounds in RPF increased the antioxidant capacity of GFB. Moreover, several studies have found that some ingredients increase the TPC in bread. Rózylo *et al.*, (2016) studied the effect of addition of brown algae to GFB, and found higher antioxidant activity in breads with 6 % brown algae. Sakac *et al.* (2011) studied GFB based on rice and buckwheat flour and evaluated the antioxidant capacity. They found that as the proportion of buckwheat flour was increased, the TPC and antioxidant capacities of GFP became higher. This demonstrates that the enrichment of GF flours with sources rich in antioxidant compounds can increase the nutritional quality of coeliac

foods.

Sensory evaluation The sensory evaluation scores are shown in Fig. 4. WBC had the highest score for texture and the chewiest attributes, and the panellists mentioned that the wheat bread control was softer and the masticability was better. GFSG had the lowest values for several attributes; it was categorized as simple bread by the panellists, because it had simple flavour, poor aroma and high firmness. However, OP2 had the highest score in colour, aroma, flavour and overall acceptance, and the panellists argued that this bread had better sensory characteristics. The flavour and aroma may be due to the sweetness of RPF that might have contributed to its higher scores for these sensory attributes.

Conclusions

Red potato flour was used in the production of gluten-free Danish bread. A Taguchi orthogonal design was efficient to obtain the optimal formulations of gluten free doughs. In bread quality, the addition of red potato flour improved the texture and volume in gluten free Danish bread, increasing the bread quality. The nutritional value was higher, due to an increase in the amount of slowly digestive starch and resistant starch in addition to the antioxidant capacity of the gluten free Danish bread. Finally, the attributes of aroma and flavour in the sensory evaluation were better with a higher addition of red potato flour, showing greater acceptance by the panellists.

References

- AACC. (2000). Approved methods of the AACC. 10th ed. American Association of Cereal Chemist. St. Paul MN, USA.
- Alcalde-Eon, C., Saavedra, G., de Pascual-Teresa, S., and Rivas-

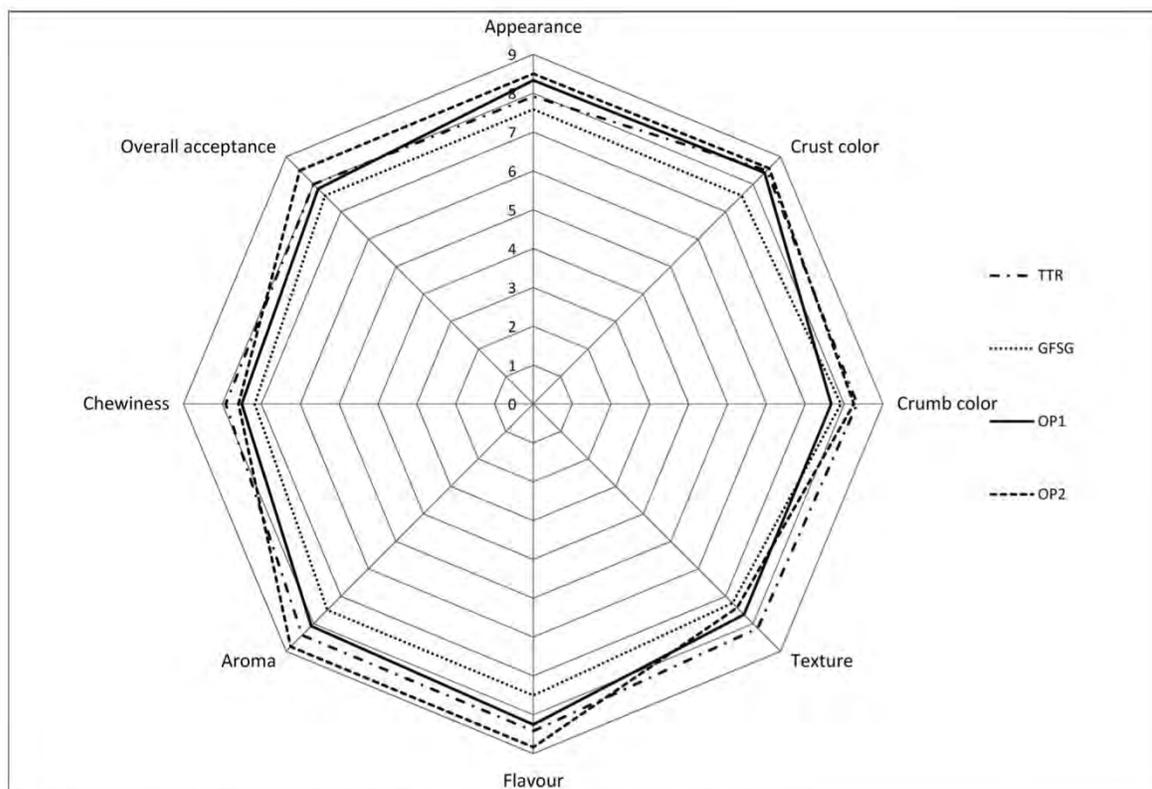


Fig. 4. Sensory evaluation of breads (Score 1 = dislike extremely and score 9= like extremely)
TTR: wheat bread control, GFSG: gluten free bread control, OP1: Optimal treatment 1, OP2: Optimal treatment 2

- Gonzalo, J. (2004). Liquid chromatography-mass spectrometry identification of anthocyanin of isla Oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) tubers. *J. Chromatogr.*, **1054**, 211–215.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E., and Gallagher, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten free ingredients. *Trends Food Sci. Technol.*, **21**, 106–113.
- Aprodu, I. and Banu, I. (2015). Influence of dietary fiber, water, and glucose oxidase on rheological and baking properties of maize based gluten-free bread. *Food Sci. Biotechnol.*, **24**, 1301–1307.
- Bernardino-Nicanor, A., Montañez-Soto, J., Vivar-Vera, M., Juárez-Goiz, J., Acosta-García, G., and González-Cruz, L. (2016). Effect of drying on the antioxidant capacity and concentration of phenolic compounds in different parts of the *Erythrina Americana* tree. *BioResources*, **11**, 9741–9755.
- Bourne, M. (2002). Food Texture and Viscosity. Food Science and Technology. *Texture, Viscosity and Food*, Chapter 1, 1–32.
- Cappa, C., Lucisano, M., and Mariotti, M. (2013). Influence of Psyllium, sugar beet fiber and water on gluten-free dough properties and bread quality. *Carbohydr. Polym.*, **98**, 1657–1666.
- Chirinos, R., Betalleluz-Pallardel, I., Huamán, A., Arbizu, C., Pedreschi, R., and Campos D. (2009). HPLC-DAD characterization of phenolic compounds from Andean Oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) tubers and their contribution to the antioxidant capacity. *Food Chem.*, **113**, 1243–1251.
- de la Hera, E., Rosell, C., and Gomez, M. (2014). Effect of water content and flour particle size on gluten-free bread quality and digestibility. *Food Chem.*, **151**, 526–531.
- Deligny, C. and Lucas, T. (2015). Effect of the number of fat layers on expansion of Danish pastry during proving and baking. *J. Food Eng.*, **158**, 113–120.
- Demirkesen, I., Kelkar, S., Campanella, O., Sumnu, G., Sahin, S., and Okos, M. (2014). Characterization of structure of gluten-free breads using X-ray microtomography. *Food Hydrocolloids*, **36**, 37–44.
- Dobraszczyk, D. and Salmanowicz, B. (2008). Comparison of prediction of baking volume using large deformation rheological properties. *J. Cereal Sci.*, **47**, 292–301.
- Farrera-Rebollo, R., Salgado-Cruz, M., Chanona-Pérez, J., Gutiérrez-López, G., Alamilla-Beltrán, L., and Calderón-Domínguez, G. (2012). Evaluation of image analysis tools for characterization of sweet bread crumb structure. *Food Bioprocess Technol.*, **5**, 474–484.
- Giuberti, G., Marti, A., Fortunati, P., and Gallo, A. (2017). Gluten free rice cookies with resistant starch ingredients from modified waxy rice starches: Nutritional aspects and textural. *J. Cereal Sci.*, **76**, 268–275.
- Gularte, M. A. and Rosell, C. M. (2011). Physicochemical properties and enzymatic hydrolysis of different starches in the presence of

- hydrocolloids. *Carbohydr. Polym.*, **85**, 237–244.
- Hae, J., Chul, D., Eun, S., Woung, O., Kim, H., Taik, S., and Sook, S. (2014). Effects of rice flour size fractions on gluten free rice bread. *Food Sci. Biotechnol.*, **23**, 1875–1883.
- Hager, A., Wolter, A., Czerny, M., Zannini, E., Arendt, E., and Czerny, M. (2012). Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. *Eur. Food Res. Technol.*, **235**, 333–344.
- Hathorn, C., Biswas, M., Gichuhi, P., and Bovell-Benjamin, A. (2008). Comparison of chemical, physical, micro-structural, and microbial properties of bread supplemented with sweet potato flour and high-gluten enhancers. *LWT-Food Sci. Technol.*, **41**, 803–815.
- Jan, R., Saxena, D. C., and Singh, S. (2016). Physico-chemical, textural, sensory and antioxidant characteristics of gluten-free cookies made from raw and germinated *Chenopodium album* flour. *LWT-Food Sci. Technol.*, **71**, 281–287.
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., and Biliaderis, C. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *J. Food Eng.*, **79**, 1033–1047.
- León, M., Villacorta, M., and Pagador, S. (2011). Chemical composition of “Oca” (*Oxalis tuberosa*), “Arracacha” (*Arracaccia xanthorrhiza*) and “Tarwi” (*Lupinus mutabilis*). Formulation of a base mixture for food. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, **2**, 239–252.
- Matos, M. and Rosell, C. (2011). Chemical composition and starch digestibility of different gluten free breads. *Plant Foods Hum. Nutr.*, **66**, 224.
- Matos, M. and Rosell, C. (2012). Relationship between instrumental parameters and sensory characteristics in gluten free breads. *Eur. Food Res. Technol.*, **235**, 107–117.
- Mir, S., Shah, M., Naik, H., and Zargar, I. (2016). Influence of hydrocolloids on dough handling and technological properties of gluten-free breads. *Trends Food Sci. Technol.*, **51**, 49–57.
- Mohammadi, M., Sadeghnia, N., Azizi, M., Neyestani, T., and Mortazavian, A. (2014). Development of gluten-free flat bread using hydrocolloids: Xanthan and CMC. *J. Ind. Eng. Chem.*, **20**, 1812–1818.
- Naito S., Fukami S., Mizokami Y., Hirose R., Kawashima K., Takano H., Ishida N., Kiozumi M., and Kano H. (2005). The effect of gelatinized starch on baking bread. *Food Sci. Technol. Res.*, **11**, 194–201.
- Ng, S., Robert, S., Ahmad, W., and Ishak, W. (2017). Incorporation of dietary fibre-rich oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) powder improves postprandial glycaemic response by interfering with starch granule structure and starch digestibility of biscuit. *Food Chem.*, **227**, 358–368.
- Onyango, C., Mutungi, C., Unbehend, G., and Lindhauer, M. (2011). Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice. *LWT-Food Sci. Technol.*, **44**, 681–686.
- Pérez-Nieto, A., Chanona-Pérez, J., Farrera-Rebollo, R., Gutiérrez-López, G., Alamilla-Beltrán, L., and Calderón-Domínguez, G. (2010). Image analysis of structural changes in dough during baking. *LWT-Food Sci. Technol.*, **43**, 535–543.
- Poutanen, K., Flander, L., and Katina, K. (2009). Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiol.*, **26**, 693–699.
- Renzetti, S., de Harder, R., and Jurgens, A. (2016). Puff pastry with low saturated fat contents: The role of fat and dough physical interactions in the development of a layered structure. *J. Food Eng.*, **170**, 24–32.
- Rózylo, R., Hameed-Hassoon, W., Gawlik-Dziki, U., Siastala, M., and Dziki D. (2016). Study on the physical and antioxidant properties of gluten-free bread with brown algae. *CYTA-J. Food*, **15**, 1–8.
- Sakac, M., Torbica, A., Sedej, I., and Hadnadev, M. (2011). Influence of Breadmaking on antioxidant capacity of gluten free breads based on rice and buckwheat flours. *Food Res. Int.*, **44**, 2806–2813.
- Sánchez-Pardo, M., Ortiz-Moreno, A., García-Zaragoza, F., Necochea-Mondragón, H., and Chanona-Pérez, J. (2012). Comparison of pound cake baked in a two cycle microwave-toaster oven and in conventional oven. *LWT-Food Sci. Technol.*, **46**, 356–362.
- Schober, T., Bean, S., Boyle, D., and Park, S. (2008). Improved viscoelastic zein-starch doughs for leavened gluten-free breads: their rheology and microstructure. *J. Cereal Sci.*, **48**, 755–767.
- Therdthai N. and Zhou W. (2003). Recent advances in the studies of bread baking process and their impacts on the bread baking technology. *Food Sci. Technol. Res.*, **9**, 219–226.
- Velez, N., Gómez-Sanchis, J., Chanonna-Pérez, J., Carrasco, J., Millán-Giraldo, M., Lorente, D., Cubero, S., and Blasco, J. (2014). Early detection of mechanical damage in mango using NIR hyperspectral images and machine learning. *Biosyst. Eng.*, **122**, 91–98.
- Vici, G., Belli, L., Biondi, M., and Polzonetti, V. (2016). Gluten-free diet and nutrient deficiencies: a review. *Clin. Nutr.*, **30**, 1–6.
- Wagner, G., Zeiler, M., Grylli, V., Berger, G., Huber, W., Woeber, C., Rhind, C., and Karwautz, A. (2016). Coeliac disease in adolescence: coping strategies and personality factors affecting compliance with gluten-free diet. *Appetite*, **101**, 55–61.
- Ziobro, R., Witezak, T., Juszezak, L., and Korus, J. (2013). Supplementation of gluten-free bread with non-gluten proteins. Effect on dough rheological properties and bread characteristic. *Food Hydrocolloids*, **32**, 213–220.

Anexo 2. Constancia de aprobación del ensayo *in vivo* por parte del comité de ética



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Instituto de Ciencias de la Salud
School of Health Sciences
Coordinación de Investigación
Department of Research

22 de agosto del 2017
Cinv//045/2017
Asunto: Dictamen

DRA. NORMA GÜEMES VERA
PROFESORA INVESTIGADORA DEL DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS
ALIMENTOS Y SALUD HUMANA
ICAP
PRESENTE

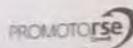
Por este medio, en mi calidad de Presidente del Comité de Ética e Investigación, me permito informarle que se ha revisado el Proyecto titulado "Cálculo del Índice Glucémico de Pan Tipo Danés (croissant) Reducido en Grasa Saturada Libre de Gluten con Harina *Oxalis Tuberosa* en su Elaboración, Mediante un Ensayo *in Vivo* con Consumidores Voluntarios"; quedando registrado en la Coordinación de Investigación con el No. De Folio: 049, y al cual se le ha otorgado el dictamen de:

APROBADO SIN MODIFICACIONES

Sin más por el momento, quedo de usted, y le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"
M.C.ESP. ADRIÁN MOYA ESCALERA
DIRECCIÓN DEL ICSa
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN
M.C. JOSÉ DE JESÚS NAVARRETE HERNÁNDEZ
COORDINADOR DE INVESTIGACIÓN del ICSa

c.c.p. Archivo



Cirujía Ex Hacienda La Concepción S/N
Carretera Pachuca Actopan
San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, México, C.P.
Teléfono: 52 (771) 71 720-00 Ext:5104, 51
psicologia@uaeh.edu.mx

www.uaeh.edu.mx



Latin Food 2018

**8th Food Science,
Biotechnology & Safety Congress**
MEXICAN ASSOCIATION OF FOOD SCIENCE

AWARDS THE PRESENT CERTIFICATE TO:

ESPINO MANZANO SALVADOR OMAR

IN RECOGNITION FOR HIS/HER PARTICIPATION AS
DELEGATE TO THIS CONGRESS



Food for Health 2018

DR. GUSTAVO FIDEL GUTIÉRREZ LÓPEZ
PRESIDENT OF THE AMECA
DIRECTING COUNCIL 2017-2019

DR. NICOLÁS OSCAR SOTO CRUZ
VICE PRESIDENT OF THE AMECA
DIRECTING COUNCIL PRESIDENT OF
THE ORGANIZING DIRECTING
COMMITTEE

DRA. LILIA ARELY PRADO BARRAGÁN
SECRETARY OF THE DIRECTING
COUNCIL PRESIDENT OF THE
SCIENTIFIC COMMITTEE

DR. SANTOS GARCÍA
PRESIDENT OF FOOD FOR HEALTH

Puerto Vallarta, Jalisco, México, 14-16 November 2018

Anexo 4. Cartel presentado en la asignatura de Examen de grado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
 INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
 INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
 INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
 DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y SALUD HUMANA

USO DE HARINA DE PAPA ROJA (*Oxalis tuberosa*) EN LA ELABORACIÓN DE PAN TIPO DANÉS (CROISSANT), CON ACTIVIDAD FUNCIONAL, REDUCIDO EN GRASA SATURADA LIBRE DE GLUTEN

Objetivo General

Utilizar la papa roja (*Oxalis tuberosa*) en una harina compuesta, para la elaboración de pan tipo danés (croissant) libre de gluten, con la finalidad de incrementar su calidad y valor nutricional, además de evaluar su posible efecto funcional.



PRELIMINARES:

Elaboración y caracterización de los estándares
 Optimización de la formulación con harina de papa roja:
 Diseño Ortogonal de Taguchi, modelo L⁹ (2x5)

ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA

	TR	GF	OX
Firmeza (N)	8,78±0,09*	4,77±0,0*	5,02±0,37*
Cohesividad	0,40±0,01*	0,50±0,02*	0,73±0,05*
Volumen Específico (cm ³ /g)	3,58±0,02*	3,02±0,01*	4,11±0,05*

Diferencias letras en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) de acuerdo a la prueba de Tukey.

ESTRUCTURA DE LA MIGA



Imagenes en formato binario de la miga de los panes. Visualización con el algoritmo de Otsu. FD: % fase dispersa (aire).

ANÁLISIS SENSORIAL

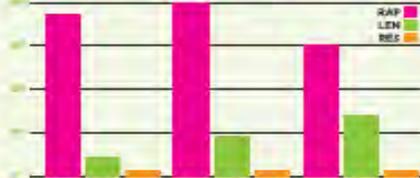


VALOR NUTRICIONAL

g/100g	TR	GF	OX
Proteínas	8,84±0,04*	4,89±0,06*	5,85±0,02*
Lípidos	12,14±0,13*	13,75±0,13*	13,65±0,03*
Carbón	0,99±0,02*	1,05±0,03*	1,86±0,02*
Fibra	0,16±0,02*	0,15±0,02*	0,64±0,01*
Carbohidratos	44,59±0,03*	52,59±0,16*	51,85±0,01*
Energía energética (Kcal)	367,99±0,40*	354,04±0,33*	352,84±0,33*

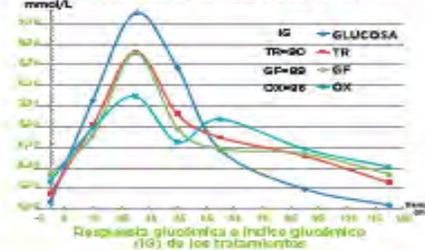
Diferencias letras en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) de acuerdo a la prueba de Tukey. Aporte calórico por 100 g de producto.

DIGESTIBILIDAD DEL ALMIDÓN *IN VITRO*



Fracciones de almidón de acuerdo a su digestibilidad: RAP (rápida digestión), LEN (lenta digestión), RES (almidón resistente).

RESPUESTA GLUCÉMICA



POTENCIAL FUNCIONAL DEL ALIMENTO

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE



CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES

mg/g	TR	GF	OX
Lípidico (C18:2n-6)	186,25±2,60*	275,20±2,65*	152,14±0,52*
Lípidico (C18:3n-3)	29,21±0,61*	34,20±2,84*	48,72±0,66*
Radio n6/n3	6,37	7,80	3,18
Ácido Graso Saturado	315,61±5,00*	271,28±3,32*	455,63±5,00*

Diferencias letras en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) de acuerdo a la prueba de Tukey.



EMPAQUE

Conclusiones: El uso de harina de papa roja (*O. tuberosa*) mejora la calidad y características sensoriales del pan danés libre de gluten. Además de aumentar el aporte nutricional del producto, incrementado el contenido de almidón de lenta digestión y almidón resistente; viéndose reflejado en la respuesta glucémica. También fortalece el potencial funcional del alimento al incrementar la capacidad antioxidante. Por otra parte, el uso de un sustituto de grasa reduce el contenido de ácidos grasos saturados y a la vez mejora el balance de ácidos grasos poliinsaturados (n6/n3) del pan.

SIMBOLOGÍA: Estándar de trigo: TR
 Estándar gluten-free: GF
 Oxalis gluten-free: OX

COORDINADOR: Dra. María Concepción Vela
COORDINADOR: Dra. Lucía Cárdenas Osorio
COORDINADOR: Dr. Javier Páez Marín
COORDINADOR: Dr. Gerardo Acosta García

CONTRIBUCIÓN: Tesis Doctoral: Uso de harina de papa roja (*Oxalis tuberosa*) en la elaboración de pan tipo danés (croissant) con actividad funcional y reducido en grasas saturadas y libre de gluten. Noviembre 2019.

Anexo 5. Ampliación del prototipo de empaquetado

SUGERENCIA DE CONSUMO

OXALIS
- GLUTEN-FREE -

SIN GLUTEN

CUERNITO

Este Envase Aporta

Grasa Saturada 70 CALORÍAS	Otras Grasas 40 CALORÍAS	Azúcares Totales 12 CALORÍAS	Sodio 45 mg	Energía 314 kcal
35%	10%	10%	2%	

Contenido : **90g** PAN LIBRE DE GLUTEN
REDUCIDO EN GRASA SATURADA
ELABORADO CON HARINA DE PAPA ROJA (*Oxalis tuberosa*)

% De Los Nutrientes Diarios

Información Nutricional	
Una Porción Aporta: 90g	
Contenido Energético	314 kcal
Proteínas (g)	5.1
Grasas (Lípidos) (g)	12.2
Grasa Saturada (g)	7.7
Grasa Monolinsaturada (g)	1.7
Grasa Polilinsaturada (g)	2.8
Carbohidratos Disponibles	46.0
Almidón (g)	43.0
Azúcares (g)	3.0
Fibra Dietaria (g)	0.7
Sodio (mg)	45mg



NOM-051-SCFI
NOM-086



**REDUCIDO EN
GRASA SATURADA**

**CON OMEGAS
3, 6 Y 9**

**CONTIENE
COMPUESTOS
ANTIOXIDANTES**

INGREDIENTES:

HARINA DE PAPA ROJA (*Oxalis tuberosa*),
ALMIDÓN DE MANDIoca, ALMIDÓN DE
MÁIZ, HPMC, HUEVO, LECHE ENTERA,
AZÚCAR, SAL, LEVADURA, AGUA Y MATE-
RIA GRASA.

PRODUCTO LIBRE DE GLUTEN

ELABORADO POR:
M. en C. Salvador Espino Manzano
Doctorado en Ciencias de Alimentos y
Salud Humana. ICAP- ICSa-ICBI
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE HIDALGO

Anexo 6. Visualización del producto terminado



Anexo 7. Entrevista de candidatos del estudio *in vivo*



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias Agropecuarias
Doctorado en Ciencias de Alimentos y Salud Humana

Entrevista de posibles candidatos

Proyecto: "Uso de *Oxalis tuberosa* en la elaboración de pan tipo danés (croissant), con actividad funcional, reducido en grasa saturada libre de gluten"

Objetivo: Medir el Índice Glucémico del producto

Fecha: ___/___/___

Datos personales

Nombre: _____ Estado Civil: _____

Fecha de nacimiento: ___/___/___ Sexo: _____ Edad: _____

Escolaridad: _____ Ocupación: _____ Religión: _____

Dirección: _____

Calle/Número/ Colonia/Municipio

Teléfono: _____ Correo electrónico: _____

Indicadores clínicos

Problemas actuales: Diarrea Estreñimiento Gastritis Úlcera
 Náuseas Pirosis Vomito Colitis

Otros: _____

¿Padece alguna enfermedad diagnosticada? Sí ___ No ___ ¿Cuál? _____

¿Toma medicamentos actualmente? Sí ___ No ___ ¿Cuál? _____
Dosis _____

¿Ha tenido cirugías? Sí ___ No ___ ¿Cuál? _____

Antecedentes familiares: Obesidad Diabetes Cáncer Hipertensión arterial

Otros: _____

Mujeres

¿Está embarazada o en periodo de lactancia actualmente? Sí _____ No _____

¿Cuántos embarazos ha tenido? _____

Estilo de vida

Actividad: Muy ligera Ligera Moderada Pesada Excepcional

Ejercicio: Si ____ No ____ Frecuencia semanal: _____ Duración por día: _____

Consumo de:

Alcohol: Si ____ No ____ Frecuencia semanal: _____ Cantidad: _____

Tabaco: Si ____ No ____ Frecuencia semanal: _____ Cantidad: _____

Café: Si ____ No ____ Frecuencia semanal: _____ Cantidad: _____

Hábitos de alimentación

Número de comidas principales al día _____ Colaciones: _____

¿Qué come principalmente en colaciones?

Comidas en casa Comidas fuera de casa Horarios

Entre semana: _____

Fines de semana: _____

¿Quién prepara sus comidas? _____ Apetito: Bueno ____ Regular ____
Malo ____

¿Ha modificado su alimentación en los últimos seis meses? ____ ¿Por qué?

Alimentos que más le agradan:

Alimentos que le desagradan y no consume:

Alergia o intolerancia a algún alimento:

¿Sabe usted que es la celiacía? Si _____ No _____

¿Conoce usted alimentos libres de gluten? Si _____ No _____ Cuales:

¿Consume usted alimentos libres de gluten? Si _____ No _____ Cuales:

Suplemento o complemento alimenticio: Si _____ No _____ ¿Cuál?

Le agrega **sal** a la comida preparada antes de probarla: Si _____ No _____

¿Qué grasa utiliza principalmente para elaborar sus alimentos?

¿Conoce la diferencia entre grasa saturada y grasa insaturada? Si _____ No _____

¿Conoce los beneficios del consumo de grasas insaturadas?, si su respuesta es **SI** indique cuáles

¿Cuánto consume de agua en litros al día?

Indicadores antropométricos

Peso _____ kg Talla _____ m IMC _____ kg/m²

Valoración de acuerdo a tablas de la OMS: _____

Indicadores bioquímicos (en caso de conocerlos en estudios menores a tres meses)

Química sanguínea

Glucosa _____ mg/dL

Gracias por su tiempo y valiosa colaboración

Elaboró: M en C. Salvador Omar Espino Manzano Ced. No. 9403935

Guía de llenado de la entrevista

-Fecha: *anotar fecha por día/mes/año*

Datos personales

-Nombre: *escribir nombre comenzando por apellidos*

-Estado civil: *soltero/casado/unión libre/viudo*

-Sexo: *femenino o masculino*

-Fecha de nacimiento: *anotar día/mes/año*

-Edad: *anotar edad en años*

-Escolaridad: *ultimo grado de estudios completado*

-Ocupación: *ocupación actual, en caso de estudiante especificar el grado*

-Religión: *anotar la religión o secta a la que pertenece, en caso de no tener anotar "ninguna"*

-Dirección: *dirección donde vive actualmente*

-Teléfono: *teléfono fijo o celular de contacto (10 dígitos)*

-Correo electrónico: *correo electrónico del voluntario*

Datos clínicos

-Problemas actuales: *encerrar los padecimientos presentes y anotar otros si los refiere*

-Enfermedad diagnosticada: *marcar si o no, en caso de afirmativo anotar cuales*

-Toma de medicamentos: *marcar si o no, en caso de afirmativo anotar cuales y la dosis*

-Cirugías: *si, no, en caso de afirmativo anotar cuales*

-Antecedentes familiares: *encerrar las enfermedades que presenten los abuelos, padres, tíos o hermanos y anotar alguna otra enfermedad heredable si es que el voluntario lo refiere*

-Mujeres: *para el caso de las mujeres anotar si se encuentra embarazada al momento de la entrevista y mencionar cuantos embarazos ha tenido según el voluntario lo refiera*

Estilo de vida

-Actividad: *encerrar el tipo de actividad que se realiza según el siguiente criterio*

- *Muy ligera: personas sedentarias que realizan el mínimo de actividad física todo el tiempo como ver televisión, leer o estar en la computadora por ocio*
- *Ligera: la mayoría de las personas que trabajan en oficinas como profesionistas, abogados, médicos, maestros, conductores, técnicos, músicos y amas de casa con electrodomésticos. En este nivel de actividad se incluyen 8 horas de sueño y 12 horas de estar sentado o parado, 3 horas de actividad leve (caminar, limpieza del hogar, golf, aseo personal) y 1 hora de actividad moderada (tenis, bailar, cocinar, aerobics)*
- *Moderada: personas que trabajan en la industria eléctrica, carpintería, cocineros, trabajadores del campo que cuentan con maquinaria, granjeros, pescadores, amas de casa sin electrodomésticos, estudiantes, almacenistas, mecánicos*

- Pesada: *Deportistas de alto rendimiento, bailarinas profesionales, trabajadores del campo que no cuenten con maquinaria, herreros*
- Excepcional: *Leñadores, obreros, mineros, trabajadores de la construcción (sin maquinaria)*

-Ejercicio: *en el caso que un voluntario realice algún deporte anotarlo, si no realiza anotar "ninguno"*

-Frecuencia: *si realiza algún deporte, anotar cuantos días a la semana lo practica*

-Duración: *si realiza algún deporte anotar el tiempo que lo practica por sesión*

-Consumo de alcohol: *marcar si o no, en caso de afirmativo anotar las veces por semana y la cantidad aproximada por ocasión*

-Consumo de tabaco: *marcar si o no, en caso de afirmativo anotar las veces por semana y la cantidad aproximada por ocasión*

-Consumo de café: *marcar si o no, en caso de afirmativo anotar las veces por semana y la cantidad aproximada por ocasión*

Hábitos de alimentación

-Número de comidas al día: *anotar cuantas comidas principales realiza el voluntario durante el día*

-Colaciones: *anotar el número de colaciones que el voluntario realiza en un día*

-Comida de colaciones: *anotar que consume en las colaciones con mayor frecuencia*

-Comidas en la semana: *anotar el número de comidas que el voluntario realiza entre semana en su casa y/o fuera de su casa y los horarios de su alimentación*

-Comidas en fin de semana: *anotar el número de comidas que el voluntario realiza entre semana en su casa y/o fuera de su casa y los horarios de su alimentación*

-¿Quién prepara la comida?: *anotar quien regularmente prepara los alimentos que se consumen*

-Apetito: *calificar cualitativamente como es su apetito*

-Modificación en la alimentación: *escribir si el voluntario ha modificado su alimentación en los seis meses previos a la entrevista y si lo hizo explicar en que consistió el cambio y porque*

-Alimentos que agradan: *mencionar alimentos que sean del agrado del voluntario*

-Alimentos de desagrado: *mencionar alimentos que no son del agrado del voluntario*

-Alergia o intolerancia a algún alimento: *escribir si el voluntario presenta alguna alergia o intolerancia a algún alimento*

-Celiaquía: *anotar si sabe o no que es la celiacía*

-Alimentos libres de gluten: *anotar si conoce o no alimentos libres de gluten. En caso de ser afirmativo anotar cuales*

-Consumo de alimentos libres de gluten: *anotar si consume o no alimentos libres de gluten. En caso de ser afirmativo anotar cuales*

-Suplemento o complemento: *anotar si el voluntario consume o no suplementos y/o complementos alimenticios. Entendiendo por suplementos nutracéuticos encapsulados o prescritos medicamente y no son ingeridos en los alimentos de la dieta y como complementos aquellos que refuerzan algún nutriente que si se consume regularmente pero que la cantidad no es suficiente. En caso de ser afirmativo anotar cuales.*

Agregar sal a la comida preparada: *anotar si el voluntario agrega sal a la comida preparada sin antes probarla*

-Tipo de grasa en los alimentos: *anotar cual es el tipo de grasa que utiliza regularmente para preparar y/o consumir sus alimentos*

-Grasa saturada e insaturada: *anotar si el voluntario conoce o no la diferencia entre grasa saturada e insaturada*

-Beneficios del consumo de grasa insaturada: *anotar si el voluntario conoce los beneficios del consumo de grasas insaturadas*

-Consumo de agua: *Anotar cuanto consume de agua el voluntario en litros al día*

Indicadores antropométricos

-Peso: *anotar el peso en kilogramos del voluntario*

-Talla: *anotar la estatura en metros del voluntario*

-IMC (índice de masa corporal): *anotar el IMC dado de la siguiente formula*

$$IMC = \frac{\text{Peso (kg)}}{(\text{Talla (m)})^2}$$

Valorar de acuerdo a la tabla de la OMS en donde se encuentra el voluntario

Tabla de valoración de IMC (OMS, 2015)

Categoría	IMC (kg/m ²)
Infrapeso	< 18.50
Delgadez severa	< 16.00
Delgadez moderada	16.00 – 16.99
Delgadez aceptable	17.00 – 18.49
Normal	18.5 – 24.99
Sobrepeso	≥ 25.00
Preobeso	25.00 – 29.99
Obeso	≥ 30.00
Obeso tipo I	30.00 – 34.99
Obeso tipo II	35.00 – 39.99
Obeso tipo III	≥ 40.00

Indicadores bioquímicos

Indicar los valores de química sanguínea en caso que el voluntario los conozca y sean de un diagnostico no mayor a 3 meses, en caso que sea negativo anotar: NO APLICA. Se realizara una valoración actual de la glucosa basal con un glucómetro, para valorar el estado de salud del voluntario.

Anexo 9. Carta de consentimiento informado del estudio *in vivo*



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias Agropecuarias
Doctorado en Ciencias de Alimentos y Salud Humana

Carta de consentimiento informado

El Instituto de Ciencias Agropecuarias, perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo como parte del Doctorado en Ciencias de Alimentos realiza el proyecto de investigación “Uso de *Oxalis tuberosa* en la elaboración de pan tipo danés (croissant), con actividad funcional, reducido en grasa saturada libre de gluten”, que tiene como uno de sus objetivos la evaluación del índice glucémico del alimento.

El índice glucémico (IG) es una valoración numérica dada a un alimento de acuerdo a la respuesta que tienen los carbohidratos sobre la glucemia postprandial. Es empleado como herramienta de control y prevención de enfermedades como: diabetes mellitus, sobrepeso, obesidad, enfermedades cardiovasculares y dislipidemias. El IG de los alimentos los clasifica en alimentos con: IG alto ≥ 70 , IG medio 56-69 e IG bajo ≤ 55 , siendo estos últimos los recomendados en el tratamiento y control de estas enfermedades, además de ser recomendados para llevar una vida saludable.

Para determinar el IG de un alimento, es necesario conocer la respuesta glucémica provocada posterior al consumo en voluntarios sanos. Para valorar el estado de salud de los voluntarios, se les aplicará una entrevista y se valorará glucosa basal. Se realizará con un glucómetro en ayuno de 8 hrs, y debe encontrarse debajo de 100 mg/dL. Otros criterios de inclusión son: tener una edad entre 18 y 35 años, no presentar enfermedades crónicas no transmisibles o agudas, ni estar bajo tratamiento médico. En el caso de mujeres, no estar embarazada o en lactancia. No tener una vida activa excesiva, no consumir suplementos alimenticios ni ser alérgico a huevo, leche o trigo y tener un índice de masa corporal entre 18.5-25 kg/m².

La respuesta glucémica se medirá mediante un biosensor de glucosa oxidasa utilizando un glucómetro marca *One Touch Ultra*. Para la medición de la glucosa, se tomarán 6 muestras capilares (0, 15, 30, 60, 90 y 120 min) de sangre del dedo índice y se hará la medición en el glucómetro digital. La prueba se realizará en seis etapas (un día diferente por cada etapa con 72 hrs entre cada uno). Los alimentos a evaluar serán panes tipo danés (croissant) con algunas diferencias: uno elaborado con trigo, uno libre de gluten elaborado con una mezcla de almidones, dos libres de gluten elaborados con una mezcla de almidones y harina de papa roja (*Oxalis tuberosa*) y un alimento de referencia (solución de 50 g de glucosa diluidos en 250 mL de agua).

El día de la prueba los voluntarios deben presentarse en las siguientes condiciones: mantener durante tres o más días previos, una dieta libre, sin restricción de carbohidratos (pastas, papas, arroz, pan, frutas, etc.) y haciendo la actividad física habitual. Acudir al ensayo con ayuno de 8 horas, estar en reposo durante todo el tiempo de la prueba; sin comer, beber ni fumar.

Al inicio de cada prueba, se medirá la glucemia en ayunas (tiempo 0). Después se dará el alimento y el voluntario tendrá un lapso de 10 minutos para consumirlo. Posteriormente se medirá la glucemia en los tiempos 15, 30, 60, 90 y 120 minutos, cuantificando un total de seis punciones y anotando los resultados en una bitácora.

No existen riesgos inminentes derivados ni durante este estudio para los voluntarios. El voluntario tiene la garantía de que cualquier duda que surja durante el ensayo deberá ser aclarada por el investigador, además que en todo momento se resguardara la confidencialidad de los datos emitidos. En caso de ser necesario el voluntario será indemnizado respecto a lo que ley refiera si en algún momento el ensayo daña su integridad.

Los beneficios que pueden obtener los voluntarios son obtener un valoración actual de la glucosa y así censar un diagnóstico de su situación actual de salud, además de conocer su índice de masa corporal al momento del ensayo. El ensayo no tendrá costo alguno para el voluntario.

Para cualquier duda puede contactar al investigador responsable del proyecto: Dra. Norma Güemes Vera, coordinadora de investigación y posgrado del Instituto de Ciencias Agropecuarias al teléfono 771-71-72000 ext. 2436

He leído lo antes expuesto y recibido la explicación correspondiente, estoy consciente de que los procedimientos y pruebas para lograr el objetivo mencionado consisten en la medición de peso y talla, la toma de muestras de sangre mediante el uso de un glucómetro, consumo de una solución de glucosa y panes con distinta preparación. Entiendo que de este estudio se derivara el conocimiento preciso del índice glucémico de los diferentes panes a evaluar. Estoy en la libertad de retirar mi consentimiento si considero que existe una falta a la integridad física o en su defecto si durante el ensayo me siento indispuesto a continuar.

Es de mi conocimiento que soy libre de aceptar o rechazar participar en este estudio.

Acepto () No Acepto ()

Nombre y firma:

Testigo

Nombre y firma:

Investigador responsable:

Dra. Norma Güemes Vera Firma: _____