



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE  
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

## *ESTUDIO IN-VITRO DEL PROCESAMIENTO ORAL DE PAN ENRIQUECIDO EN PROTEÍNAS*

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN GESTIÓN DE LA  
SEGURIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA

ALUMNO:  
ALEJANDRO GARCÍA NICOLÁS  
TUTORA ACADÉMICA:  
Dra. ISABEL HERNANDO HERNANDO  
COTUTORAS:  
Dra. AMPARO GAMERO LLUNA  
Dra. AMPARO TÁRREGA GUILLEM

*Curso Académico: 2017/2018*

**VALENCIA, septiembre 2018**

# ESTUDIO IN-VITRO DEL PROCESAMIENTO ORAL DE PAN ENRIQUECIDO EN PROTEÍNAS

Alejandro García Nicolás, Amparo Gamero LLuna<sup>1</sup>, Amparo Tárrega Guillem<sup>1</sup>, Isabel Hernando Hernando<sup>2</sup>.

## RESUMEN

En este estudio se evaluó la textura y el procesado oral *in-vitro* de pan enriquecido con proteína de guisante. Se elaboraron ocho panes enriquecidos con proteína de guisante que variaron en la concentración de proteína (2,5% y 5%), su tamaño de partícula (<45  $\mu\text{m}$  y >45  $\mu\text{m}$ ) y el grado de hidratación de la masa. Se determinaron las variaciones en los parámetros de textura de los panes y se analizaron las características de la miga mediante análisis de imagen. Asimismo, se estudió *in-vitro* el grado de rotura de la estructura del pan, la hidrólisis de almidón y liberación de sal mediante la determinación de la glucosa y la sal liberada mediante espectrofotometría y refractometría, respectivamente. Los resultados mostraron que la adición de proteína de guisante incrementa los valores de dureza y masticabilidad, y presentaron una miga con mayor número de alveolos de menor tamaño. Estos efectos dependieron de la cantidad de proteína y del grado de hidratación, de forma que los panes con 2,5% de proteína y con hidratación ajustada fueron los que más se asemejaron al control. En la masticación *in-vitro*, los panes con mayor concentración de proteína (5%), presentaron mayor grado de fragmentación con más partículas de menor tamaño. Sin embargo, no se observó que estos cambios en la estructura y textura del pan afectaran a la hidrólisis de almidón y a la liberación de sal.

PALABRAS CLAVE: proteína de guisante, pan, textura, hidratación, partícula.

## RESUM

En aquest estudi es va avaluar la textura i processat oral *in-vitro* de pa enriquít amb proteïna de pèsol. Es van elaborar huit pans enriquits amb proteïna de pèsol que variaren en la concentració de proteïna (2,5% y 5%), en la seua mesura de partícula (<45  $\mu\text{m}$  y >45  $\mu\text{m}$ ) i el grau d'hidratació de la massa. Es van determinar les variacions en els paràmetres de textura dels pans, i s'analitzaren les característiques de la molla mitjançant anàlisi d'imatge.

---

<sup>1</sup> Grupo de Cereales. Departamento de Ciencia de los Alimentos. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Calle Catedrático Agustín Escardino Benlloch, 7 46980 Paterna, Valencia (España)

<sup>2</sup> Grupo de Química y Microestructura de Alimentos. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n 46022 Valencia (España)

Així mateix, es va estudiar *in-vitro* el grau de trencament de l'estructura del pa i la hidròlisi de midó i alliberament de sal mitjançant la determinació de glucosa i la sal alliberades mitjançant espectrofotometria i refractometria, respectivament. Els resultats mostraren que l'addició de proteïna de pèsol incrementa els valors de duresa i masticabilitat i presenten una molla amb major número de alveols de menor mesura. Aquests efectes van dependre de la quantitat de proteïna i del grau d'hidratació, de manera que els pans amb 2,5% de proteïna i amb l'hidratació ajustada van ser els que més s'assemblaren al control. En la masticació *in-vitro*, els pans amb major concentració de proteïna (5%), presentaren major grau de fragmentació amb més partícules de menor mesura. Però, no es van observar que aquests canvis en la estructura i textura del pa afectaren a la hidròlisi del midó i a l'alliberament de sal.

PARAULES CLAU: proteïna de pèsol, pa, textura, hidratació, partícula.

## ABSTRACT

In this study was evaluated the texture and in-vitro oral processing of bread enriched with pea protein. We made eight breads enriched with pea protein that varied in protein concentration (2,5% and 5%), their particles size (<45  $\mu\text{m}$  and >45  $\mu\text{m}$ ) and the degree of hydration of the dough. The variations in the texture parameters of the loaves were determined and the characteristics of the crumb were analyzed image analysis. Also, the degree of breakage of bread structure, starch hydrolysis and salt release was studied in-vitro by determining glucose and salt released by spectrophotometry and refractometry, respectively. The results showed that the addition of pea protein increases the values of hardness and chewiness, and presented a crumb with a greater number of cells and smaller of size. These effects depended on the amount of protein and the degree of hydration, so that the loaves with 2,5% protein and with adjusted hydration were the ones that most resembled the control. In the in-vitro mastication, the loaves with the highest protein concentration (5%) showed a higher degree of fragmentation and more particles of smaller size. However, it was not observed that these changes in bread structure and texture affected the hydrolysis of starch and the release of salt.

KEY WORDS: pea protein, bread, texture, hydration, particle.

## INTRODUCCIÓN

Según la encuesta ENALIA (2017), realizada sobre población infantil entre 6 meses y 17 años, el alimento que más energía proporciona en la dieta de los escolares y adolescentes españoles es el pan.

Un enriquecimiento del pan en proteínas puede resultar interesante desde varios enfoques. Una dieta con un contenido elevado en proteínas produce

efectos beneficiosos como mayor saciedad y un balance energético negativo (Westertep-Plantega et al., 2012), pudiendo ser una opción para personas que quisieran perder peso. También resulta interesante para los deportistas, ya que estos presentan mayores requerimientos de proteínas y podrían alcanzarlos con más facilidad. Asimismo, las personas en edad avanzada, debido a los procesos fisiológicos del envejecimiento, pueden encontrarse en peligro de desnutrición y sarcopenia, donde el pan enriquecido en proteínas ayudaría a alcanzar sus requerimientos.

Sin embargo, como ya ha sido estudiado con anterioridad, al aumentar el contenido en proteína aumenta la dureza del pan (Ziobro et al., 2016; Zhou et al., 2017), por lo tanto, es de interés encontrar una fórmula tecnológica que solucione este problema. El tiempo de fermentación y el grado de hidratación de la masa panaria son dos de los factores que directamente afectan a la estructura del pan (Furlán Rodríguez et al., 2015; Gao et al., 2018) y es conveniente ajustarlos para mejorar su consistencia.

Existen multitud de formulaciones y variables que dan lugar a distintas características sensoriales y nutricionales. Estas propiedades son fundamentales para la aceptación del producto en el mercado y en ellas influye, de manera notoria, el procesamiento oral (Jourden et al., 2016).

El procesamiento oral es de vital importancia para la percepción sensorial de los alimentos y supone el inicio del proceso digestivo. La saliva y la masticación tienen relación directa con la liberación del aroma y sabor. En concreto, la hidrólisis del almidón por la alfa-amilasa presente en la saliva influye de forma directa en la liberación de sal y, por tanto, en la percepción del sabor salado (Tournier et al., 2014).

Por otra parte, las enfermedades no transmisibles (ENT) matan a 40 millones de personas cada año, lo que equivale al 70% de las muertes que se producen en el mundo (OMS, 2017). El aumento de la hipertensión arterial es uno de los factores que más contribuye a incrementar el riesgo de ENT. Es bien conocida la relación directa entre un excesivo consumo de sal y el desarrollo de hipertensión arterial. La industria alimentaria tiene un papel relevante en este aspecto ya que la llamada “sal oculta”, la sal incluida en la formulación de los alimentos, es partícipe del 80% de nuestra ingesta de sal (Mancia et al., 2013). Además, se ha calculado que la reducción de sal en los procesos de elaboración de alimentos de consumo habitual, como es el caso del pan, resultaría en una mejora de la calidad de vida (Cobiac et al., 2010). Por lo tanto, es de interés conocer la cinética de la liberación de sal durante el procesamiento oral del pan, pudiendo existir la posibilidad de reducir su contenido en el producto final sin verse comprometida la percepción del sabor salado.

El objetivo de este estudio es investigar cómo puede afectar la adición de proteína de guisante en panes a la digestión oral, a la hidrólisis de almidón y a la liberación de sal, además de a la textura, macro y microestructuras de estos.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

## **Obtención de las fracciones de proteína de guisante con diferente tamaño de partícula y caracterización de su tamaño**

En primer lugar, se separó la proteína de guisante Pisane B9 (Cosucra, Bélgica) en dos fracciones con diferente distribución de tamaño de partícula, empleando un tamiz de 45  $\mu\text{m}$  (Iris, España). Para optimizar el proceso se empleó una tamizadora electromagnética digital (Iris FTL-0200, España).

Seguidamente, mediante un molino eléctrico de aspas (Ika Werke M20, España) se molió el grupo de partículas menor de 45  $\mu\text{m}$  para lograr mayor diferencia de tamaño de partícula entre las dos fracciones.

A continuación, se utilizó la técnica de difracción láser, mediante el Mastersizer 2000 (Malvern, Reino Unido), para caracterizar las dos fracciones en cuanto a la distribución del tamaño de partícula.

## **Determinación del grado óptimo de hidratación de las masas panarias**

La determinación del grado de hidratación adecuada de las masas procedentes de las distintas formulaciones (harina control y harina adicionada con proteína de guisante de las dos fracciones) se realizó mediante Mixolab (Chopin, Francia), ajustando el torque a 1,10 Nm, excepto para las formulaciones de hidratación no ajustada, en las que se usó el grado de hidratación adecuado para el control. Previamente a la determinación del torque, se determinó la humedad de la harina de trigo mediante infrarrojos (Kern DB5, Alemania).

## **Determinación del tiempo de fermentación óptimo de las masas panarias**

Se pesaron 50 g de masa y se introdujeron en una estufa a 30°C. Se midió el aumento del volumen de la masa cada 10 min hasta que se mantuvo constante. Esto permitió realizar una curva de fermentación, que posibilitó la determinación del tiempo de fermentación necesario para que la masa alcance el 75% de su volumen máximo (tiempo de fermentación óptimo).

## **Elaboración de panes enriquecidos con proteína de guisante**

Se mezclaron 1 kg de harina de trigo (La Meta, España), 16 g de sal y se introdujeron en la amasadora (Mahot Labo 25, Francia). Posteriormente, se añadió la proteína de guisante en las cantidades que se indican en la Tabla 1, además de 30 g de levadura (Lesaffre, España) y agua, y se amasaron lentamente durante 10 min. Se dividió la masa obtenida en moldes de 500 g, y se dejó fermentar a 30°C durante 6 min. Una vez realizada la fermentación, las masas se hornearon (Eurofours, Francia) a 185°C durante 25 min con dos golpes de vapor de agua de 10 s cada uno al inicio del proceso.

Se realizaron nueve formulaciones de panes por triplicado (Tabla 1):

**TABLA 1.** Formulaciones de panes elaborados en base al porcentaje de proteína de guisante, tamaño de partícula y grado de hidratación.

Formulaciones	Proteína añadida (%)	Tamaño de partícula (µm)	Hidratación (%)
Control	-	-	57,3
2	5	< 45	57,3
3	2,5	< 45	57,3
4	5	< 45	60,2
5	2,5	< 45	60,7
6	5	> 45	57,3
7	2,5	> 45	57,3
8	5	> 45	60,2
9	2,5	> 45	60,5

### Análisis de textura

La textura de las 9 formulaciones de panes se determinó mediante texturómetro TA.XTPlus 30 (*Stable Mycro Systems*, Reino Unido) y el programa informático *Texture Exponent*. Se llevó a cabo un test de TPA (*Texture Profile Analysis*), que consiste en aplicar una doble compresión, sobre una rebanada de pan de 15 mm de espesor utilizando un cilindro de aluminio de 35 mm de diámetro. Las mediciones se realizaron a una velocidad de 1 mm/s, hasta el 40% de deformación de la muestra y transcurriendo 5 s entre las dos compresiones. Para cada formulación de pan se realizaron seis medidas en seis rebanadas distintas. Se obtuvieron los parámetros del Perfil de Textura Instrumental descritos en la Tabla 2.

**TABLA 2.** Parámetros de textura estudiados en los panes enriquecidos con proteína de guisante.

Dureza	Fuerza máxima que ocurre en la primera compresión.
Elasticidad	Manera en la que se recupera un producto después de haberse deformado durante la primera compresión y tras un tiempo de espera entre cada medición.
Cohesividad	Manera en la que soporta el producto una segunda deformación en relación con la resistencia de su primera deformación.
Masticabilidad	Producto entre la gomosidad y la elasticidad del producto.

### Análisis de macroestructura

La macroestructura de los panes se determinó mediante el escaneo (Canon Pixma, Japón) de las rebanadas. El procesado y análisis de la imagen se realizó con los *Softwares Fiji* y *NIS-E* (Nikon, Japón). Tras el procesado, se

determinaron los siguientes parámetros en relación con la estructura de los alveolos: área total, área correspondiente al 50% del área acumulada (área 50) y número de alveolos por cm<sup>2</sup>.

### **Procesamiento oral**

#### **FRAGMENTACIÓN DE LA ESTRUCTURA. ANÁLISIS DE LA DISTRIBUCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA**

Se utilizó una circunferencia de 3 cm de diámetro de una rebanada a la que se le aplicaron 5 ciclos de masticación artificial con un triturador (Tescoma, España), posteriormente se escanearon. Se emplearon los *Softwares* Fiji y NIS-E (Nikon, Japón) para el análisis de imagen. Se determinó el número de partículas totales, así como el porcentaje respecto al área total para los siguientes grupos de partículas: 1-50 mm<sup>2</sup>, 50-150 mm<sup>2</sup>, 150-250 mm<sup>2</sup>, 250-550 mm<sup>2</sup>.

#### **HIDRÓLISIS DE ALMIDÓN**

La hidrólisis de almidón se evaluó *in-vitro* mediante el uso de saliva artificial. La saliva se elaboró según Minekus et al. (2014), siendo su composición: cloruro de potasio (1,126g/l), fosfato monopotásico (0,504g/l), bicarbonato sódico (1,142g/l), magnesio cloruro 6-hidrato (0,03g/l), carbonato de amonio (0,006g/l), mucina (3g/l), ácido clorhídrico (0,04g/l) y cloruro cálcico dehidratado (0,221g/l). La cantidad de alfa-amilasa adicionada fue 8,7 g/l (Morell et al., 2014).

Para la simulación del procesamiento oral, se introdujeron 5 g de muestra, a la que previamente se le aplicaron 5 ciclos de masticación con el triturador, en un cestillo de alambre de tal forma que quedaran sumergidos en 150 ml de saliva, en agitación constante mediante un agitador magnético, y se pipetearon 100 µl de muestra cada 30 s, parando la reacción enzimática a los 2 min con 300 µl de carbonato sódico 0,3M y hielo.

Posteriormente, se determinó la glucosa espectrofotométricamente (Biochrom Ultrospec 2100, Reino Unido) mediante un kit enzimático para la determinación de D-Glucosa (Megazyme, Irlanda).

#### **LIBERACIÓN DE SAL**

El procedimiento de la simulación del procesamiento oral para medir la liberación de sal fue el mismo y se realizó al mismo tiempo que para la hidrólisis de almidón. En este caso no fue necesario realizar la parada enzimática, y la determinación de la concentración de sal se llevó a cabo inmediatamente tras la toma de muestra mediante un refractómetro (Hanna HI96821, Estados Unidos).

### **Análisis estadístico**

El efecto del porcentaje de proteína de guisante, tamaño de partícula y grado de hidratación de la masa en cada uno de los parámetros estudiados se determinó mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de 3 factores ( $\alpha=0.05$ ). Las diferencias entre las medias de las nueve muestras (formulaciones con proteína y la muestra control) se determinaron con la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Para ello se empleó el programa estadístico XLSTAT para Microsoft Excel (Microsoft, Estados Unidos).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Análisis de la textura**

Los valores obtenidos de los parámetros de textura estudiados se muestran en la Tabla 3. Los resultados de ANOVA mostraron que el grado de hidratación y el porcentaje de proteína adicionado son factores que afectaron significativamente a los parámetros de dureza y masticabilidad ( $p<0,05$ ). Como se muestra en la Tabla 3, al adicionar proteína aumentaron los valores de dureza y masticabilidad, y la elaboración de pan mediante el ajuste de la hidratación de la masa disminuyó ambos parámetros.

La dureza, al igual que se observó en distintos estudios (Gani et al., 2015; Ziobro et al., 2016; Zhou et al., 2017), aumentó en todas las formulaciones, habiendo diferencias estadísticamente significativas respecto al control excepto con la formulación 5, donde se incluyó el menor porcentaje de proteína de guisante (2,5%) y se ajustó la hidratación. Es reseñable la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre la adición de 2,5% y 5% de proteína de guisante, siendo menos firmes los panes con menor adición de esta. En cuanto a la elasticidad, ninguno de los factores mostró un efecto significativo. Sin embargo, comparado con el control, las muestras con proteína presentaron un valor menor de elasticidad, que no llegó a ser significativo en la muestra 5, con la cantidad de proteína menor (2,5%), tamaño de partícula  $<45 \mu\text{m}$  e hidratación ajustada. Sobre este parámetro se encuentran diferentes resultados, el aumento o disminución de la elasticidad podría depender del tipo de proteína adicionada, ya que la proteína de soja puede disminuirla y la proteína de suero puede aumentarla (Zhou et al., 2017). Sin embargo, la proteína de pescado no afecta a la elasticidad (Cercel et al., 2016). En relación a la cohesividad, los factores estudiados no tuvieron un efecto significativo en los valores obtenidos para las muestras con proteína, y sólo en el caso de las muestras 7 y 9 la cohesividad fue significativamente menor que en la muestra control. En el estudio de Ziobro et al. (2016), la proteína de guisante era, junto a la de altramuz, la que más disminuía la cohesividad. Sobre la masticabilidad, se puede observar cómo las formulaciones 5 y 9, que no presentaron diferencias estadísticamente significativas ni entre ellas ni con el control, tuvieron valores muy parecidos a este, mientras que el resto de formulaciones aumentaron el valor de masticabilidad considerablemente como también reporta Zhou et al. (2017). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la adición de 2,5% y 5% de proteína de guisante, resultando valores menores de



masticabilidad las formulaciones con menor adición de esta. También es de interés el estudio de Ziobro et al. (2016), donde adicionaron proteínas de varios tipos y el pan con mayor masticabilidad fue el formulado con proteína de guisante.

**TABLA 3.** Parámetros de textura de los panes enriquecidos con proteína de guisante.

Formulaciones	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad (N)
Control	6,34 ± 12,47 <sup>f</sup>	0,95 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,503 ± 0,004 <sup>a</sup>	3 ± 0,58 <sup>g</sup>
2	25,71 ± 10,65 <sup>a</sup>	0,878 ± 0,005 <sup>b</sup>	0,477 ± 0,017 <sup>ab</sup>	10,09 ± 0,21 <sup>ab</sup>
3	16,01 ± 12,19 <sup>cd</sup>	0,892 ± 0,003 <sup>b</sup>	0,445 ± 0,013 <sup>ab</sup>	6,34 ± 0,30 <sup>de</sup>
4	21,97 ± 35,94 <sup>ab</sup>	0,882 ± 0,030 <sup>b</sup>	0,450 ± 0,042 <sup>ab</sup>	8,62 ± 0,29 <sup>bc</sup>
5	10,14 ± 7,20 <sup>ef</sup>	0,911 ± 0,007 <sup>ab</sup>	0,471 ± 0,006 <sup>ab</sup>	4,35 ± 0,39 <sup>fg</sup>
6	26,50 ± 20,18 <sup>a</sup>	0,883 ± 0,009 <sup>b</sup>	0,468 ± 0,018 <sup>ab</sup>	10,91 ± 0,51 <sup>a</sup>
7	14,21 ± 28,25 <sup>cde</sup>	0,885 ± 0,011 <sup>b</sup>	0,428 ± 0,011 <sup>b</sup>	5,38 ± 0,89 <sup>ef</sup>
8	18,99 ± 14,12 <sup>bc</sup>	0,884 ± 0,030 <sup>b</sup>	0,441 ± 0,035 <sup>ab</sup>	7,44 ± 0,91 <sup>cd</sup>
9	12,09 ± 11,58 <sup>de</sup>	0,883 ± 0,013 <sup>b</sup>	0,411 ± 0,026 <sup>c</sup>	4,41 ± 0,75 <sup>fg</sup>

Los valores que no comparten letra en la misma columna difieren significativamente.

### Macroestructura

En relación a la distribución de alveolos en las rebanadas de pan, para el área total de los alveolos y el tamaño de los mismos (área 50), el grado de hidratación, la cantidad y tamaño de la proteína de guisante adicionada no afectaron significativamente ( $p > 0,05$ ).

En cuanto al área total, los valores de las muestras con proteína fueron menores que el control, aunque la diferencia fue significativa únicamente para la formulación 2. Esto se puede relacionar con la estructura, puesto que el pan 2 es el que presenta mayor dureza y menor elasticidad, esto imposibilitaría una correcta expansión de los alveolos.

Por otra parte, los valores del área 50 de los alveolos de todas las muestras con proteína fueron significativamente menores que la muestra control.

Por último, el número de alveolos por  $\text{cm}^2$  de las rebanadas de pan sí que se vio afectado significativamente por el factor porcentaje de proteína adicionado. Las formulaciones 2, 4 y 6 presentaron mayor número de alveolos con diferencias significativas con el control. Estas formulaciones tienen en común la adición de 5% de proteína de guisante y un número mayor de alveolos por  $\text{cm}^2$ .

**TABLA 4.** Área total, área 50 y número de alveolos por  $\text{cm}^2$  de las rebanadas de pan enriquecido con proteína de guisante.

Formulaciones	Área total (mm <sup>2</sup> )	Área 50 (mm <sup>2</sup> )	Número de alveolos por cm <sup>2</sup>
Control	2890 ± 184 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	22 ± 3 <sup>b</sup>
2	1618 ± 795 <sup>b</sup>	3,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	29 ± 4 <sup>a</sup>
3	2263 ± 45 <sup>ab</sup>	3,7 ± 0,3 <sup>b</sup>	28 ± 1 <sup>ab</sup>
4	2020 ± 153 <sup>ab</sup>	3,8 ± 0,3 <sup>b</sup>	30 ± 2 <sup>a</sup>
5	2115 ± 1031 <sup>ab</sup>	4 ± 0,3 <sup>b</sup>	27 ± 1 <sup>ab</sup>
6	1971 ± 98 <sup>ab</sup>	3,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	30 ± 1 <sup>a</sup>
7	2384 ± 63 <sup>ab</sup>	3,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	26 ± 2 <sup>ab</sup>
8	2136 ± 167 <sup>ab</sup>	3,6 ± 0,1 <sup>b</sup>	26 ± 1 <sup>ab</sup>
9	2042 ± 1010 <sup>ab</sup>	3,9 ± 0,3 <sup>b</sup>	25 ± 4 <sup>ab</sup>

Los valores que no comparten letra en la misma columna difieren significativamente.

### Fragmentación de la estructura. Análisis de la distribución del tamaño de partícula

De los factores estudiados, el porcentaje de proteína de guisante afectó de forma significativa en la distribución del tamaño de partícula ( $p < 0,05$ ). Las formulaciones con un porcentaje mayor de proteína de guisante resultaron en un mayor número de partículas (Tabla 5).

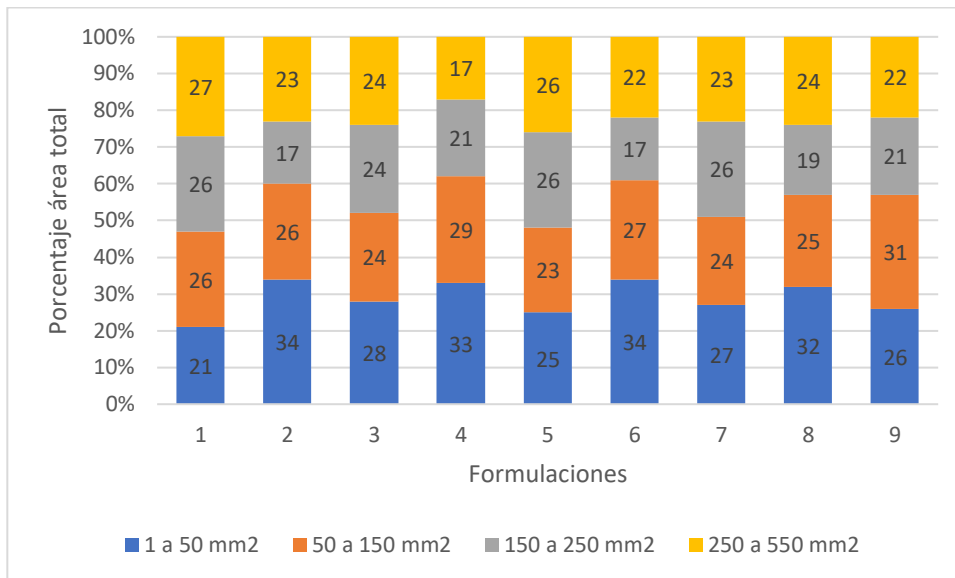
También es interesante ver cómo se distribuyen los porcentajes de área que ocupan las partículas de diferentes tamaños (Figura 1). Se observa que las formulaciones 2, 4, 6 y 8, con mayor porcentaje de proteína y una dureza mayor, se disgregan en partículas más pequeñas. Estos datos reflejan resultados opuestos a otro grupo de alimentos a base de cereales como son los copos de cereales, ya que según Alam et al. (2017) los productos más blandos se disgregan más fácilmente y dan lugar a partículas más pequeñas.

**TABLA 5.** Número de partículas de los panes enriquecidos con proteína de guisante.

Formulaciones	Número de partículas
Control	235 ± 76 <sup>c</sup>
2	556 ± 170 <sup>a</sup>
3	411 ± 146 <sup>abc</sup>
4	544 ± 321 <sup>a</sup>
5	266 ± 104 <sup>bc</sup>

6	487 ± 170 <sup>ab</sup>
7	411 ± 62 <sup>abc</sup>
8	474 ± 90 <sup>ab</sup>
9	309 ± 53 <sup>bc</sup>

Los valores que no comparten letra en la misma columna difieren significativamente.

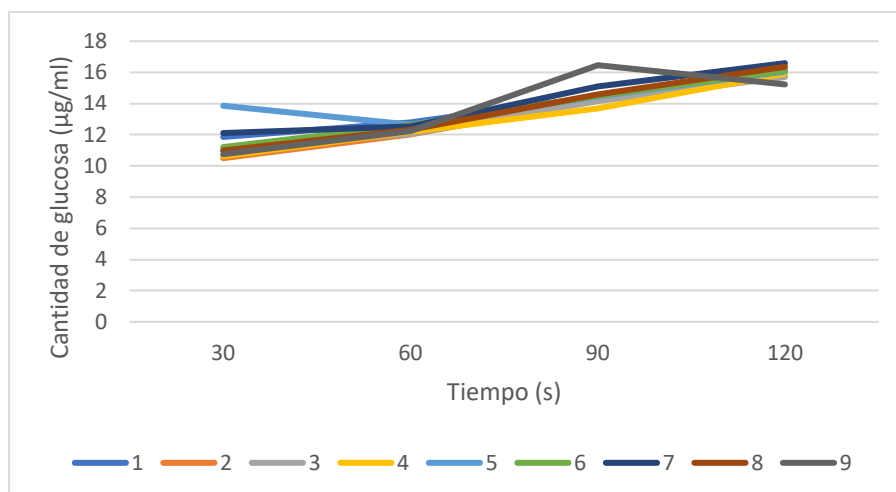


**FIGURA 1.** Distribución del tamaño de partícula en cada formulación de pan enriquecido con proteína de guisante.

### Hidrólisis del almidón

El tiempo afectó significativamente a la hidrólisis del almidón, ya que a medida que este avanzaba se producía una mayor hidrólisis, tal y como se observó en otros estudios (Jourden et al., 2016) y tal y como se puede comprobar en la Figura 2. Sin embargo, esta hidrólisis es muy pequeña respecto a otros estudios (Tournier et al., 2014; Freitas et al., 2018).

Cabe destacar que entre formulaciones no se observaron diferencias estadísticamente significativas y todas seguían una tendencia a aumentar la hidrólisis de almidón con el tiempo muy similar. Cabría esperar alguna diferencia ya que según Jourden et al. (2016) los panes con una mayor densidad presentarán una peor accesibilidad hacia el almidón.



**FIGURA 2.** Hidrólisis de almidón de los panes enriquecidos con proteína de guisante en función del tiempo.

### Liberación de sal

No se encontraron diferencias significativas en la cantidad de sal liberada entre las formulaciones. Únicamente puede verse una tendencia de mayor liberación de sal a medida que transcurre el tiempo, tal y como reporta Konitzer et al. (2013).

Los valores de la concentración de sal fueron muy bajos. Esto puede ser debido a que la simulación de la masticación se realizó con pocos ciclos y previamente al ensayo con saliva. Es posible que un ensayo de masticación completa y en el que la rotura de la estructura y la hidrólisis del almidón sean simultáneas podría favorecer la liberación de sal de forma más próxima a lo que ocurre *in-vivo* (Tournier et al., 2014; Jourdren et al., 2016). Además, podría influir el hecho de que la sal suele estar en mayor concentración en la corteza que en la miga (Tournier et al., 2014), ya que en este estudio se empleó únicamente la miga.

### CONCLUSIONES

La adición de proteína de guisante produce en general un pan más duro con mayor número de alveolos y más pequeños. La magnitud de estos efectos dependió de la cantidad de proteína adicionada y de la hidratación de la masa. Ajustar la hidratación durante la elaboración del pan permite adicionar un 2,5% de proteína de guisante sin modificar excesivamente las características de textura del pan y propiedades de la miga. Este incremento, aunque pequeño, ayudaría a cubrir los requerimientos de proteínas de ciertos grupos de la población.

Respecto al comportamiento del pan en condiciones de digestión oral, se esperaba que los cambios en la composición y en la estructura del pan afectaran al grado de hidrólisis del almidón y a la liberación de sal. Sin embargo, los resultados mostraron que *in-vitro* no existían diferencias significativas entre panes para ninguno de los dos parámetros.

Por último, como futuras líneas de investigación sea plantea la posibilidad de realizar un análisis sensorial de los panes enriquecidos con proteína de guisante y conocer el impacto de la adición de proteína en sus características organolépticas.

## REFERENCIAS

- Alam, SA.; Pentikäinen, S.; Närväinen, J.; Holopainen-Mantila, U.; Poutanen, K.; Sozer, N. 2017. Effects of structural and textural properties of brittle cereal foams on mechanisms of oral breakdown and in vitro starch digestibility. *Food Research International*, **96**: 1-11.
- Cercel, F.; Burluc, RM.; Alexe, P. 2016. Nutritional Effects of Added Fish Proteins in Wheat Flour Bread. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, **10**: 244-249.
- Cobiac, LJ.; Vos, T.; Veerman, JL. 2010. Cost-effectiveness of interventions to reduce dietary salt intake. *Heart*, **96**: 1920-1925.
- Estudio ENALIA 2012-2014: Encuesta Nacional de consumo de alimentos en población Infantil y Adolescente. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Madrid, 2017.
- Freitas, D.; Le Feunteun, S.; Panouillé, M.; Souchon, I. 2018. The important role of salivary alfa-amylase in the gastric digestion of wheat bread starch. *Food and Function*, **9**: 200-208.
- Furlán Rodríguez, LT.; Pérez, A.; Campderrós, ME. 2015. Improvement of gluten-free bread properties by the incorporation of bovine plasma proteins and different saccharides into the matrix. *Food Chemistry*, **170**: 257-264.
- Gani, A.; Broadway, AA.; Ahmad Masoodi, F et al. 2015. Enzymatic hydrolysis of whey and casein protein-effect on functional, rheological, textural and sensory properties of breads. *Journal of Food Science and Technology*, **52 (12)**: 7697-7709.
- Gao, J.; Wang, Y.; Dond, Z.; Zhou, W. 2018. Structural and mechanical characteristics of bread and their impact on oral processing: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, **58**: 858-872.
- Jourdren, S.; Saint-Eve, A.; Déléris, I et al. 2016. Breakdown pathways during oral processing of different breads: impact of crumb and crust structures. *Food and Function*, **7**: 1446-1457.
- Konitzer K.; Pflaum T.; Oliveira P.; Arendt E.; Koehler P.; Hofmann T. 2013. Kinetics of Sodium Release from Wheat Bread Crumb As Affected by Sodium Distribution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61**: 10659-10669.
- Mancia, G.; Fagard, R.; Narkiewicz, K et al. 2013. Guía de práctica clínica de la ESH/ESC 2013 para el manejo de la hipertensión arterial. *Revista Española de Cardiología*, **66 (10)**: 880-944.
- Minckus, M.; Alminger, M.; Alvito, P et al. 2014. A standardised static in vitro digestion method suitable for good – an international consensus. *Food and Function*, **5**: 1113-1124.
- Morell, P.; Fiszman, SM.; Varela, P.; Hernando, I. 2014. Hydrocolloids for enhancing satiety: Relating oral digestion to rheology, structure and sensory perception. *Food Hydrocolloids*, **41**: 343-353.
- OMS. Enfermedades no transmisibles. Dirección URL: [www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases](http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases) [Consulta: 7 mayo 2018]
- Texture Technologies. "Overview of Texture Profile Analysis", [en línea]. Dirección URL: <http://texturetechnologies.com/resources/texture-profile-analysis#concerns>. [Consulta: 30 Jun. 2018]
- Tournier, C.; Grass, M.; Septier, C.; Bertrand, D.; Salles, C. 2014. The impact of mastication, salivation and food bolus formation on salt release during bread consumption. *Food and Function*, **5**: 2969-2980.
- Westerterp-Plantenga, MS.; Lemmens, SG.; Westerterp, KR. 2012. Dietary protein-its role in satiety, energetics, weight loss and health. *British Journal of Nutrition*, **108**: 105-112.
- Zhou, J.; Liu, J.; Tang, X. 2017. Effects of whey and soy protein addition on bread rheological property of wheat flour. *Journal of Texture Studies*, **49**: 38-46.
- Ziobro, R.; Juszczak L.; Witczak M.; Korus, J. 2016. Non-gluten proteins as structure forming agents in gluten free bread. *Journal of Food Science and Technology*, **53(1)**: 571-580.