



**Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales. Secretaría de Investigación y Postgrado. Maestría
en Tecnología de los Alimentos**

Maestranda
Mónica Mariela Covinich

Parámetros físicos, químicos y sensoriales de panes formulados con un subproducto de la industrialización de la yerba mate

**Tesis de Maestría presentada para obtener el título de “Magíster
en Tecnología de los Alimentos”**

“Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto
queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899”.

Directora
Mgter. Griselda P. Scipioni
Co-Directora
Dr. Fernando E. Felissia

Posadas, Misiones, julio 2021



Esta obra está licenciado bajo Licencia Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS QUÍMICAS Y NATURALES**

Tesis de la Maestría en Tecnología de los Alimentos

**Parámetros físicos, químicos y sensoriales de
panes formulados con un subproducto de la
industrialización de la yerba mate**

Mónica Mariela Covinich

Directora: Mgter. Griselda P. Scipioni

Co-Director: Dr. Fernando E. Felissia

Julio de 2021

Dictamen

Espacio Reservado al Jurado de Tesis, Directora y Co-Director.

Evaluador Dra. Nancy Noelia Lovera

8 de julio de 2021
Fecha

Evaluador Dra. Bárbara Érica Meza

8 de julio de 2021
Fecha

Evaluador Mgter Sergio Alejandro Surkan

8 de julio de 2021
Fecha

Mgter. Griselda Patricia Scipioni.
Directora de Tesis - Facultad de Ciencias
Exactas, Químicas y Naturales.
Universidad Nacional de Misiones

8 de julio de 2021
Fecha

Dr. Fernando Esteban Felissia
Co - Director de Tesis - Facultad de Ciencias
Exactas, Químicas y Naturales.
Universidad Nacional de Misiones

8 de julio de 2021
Fecha

CALIFICACIÓN: ELABORACIÓN DE TESIS: 10 (diez)

CALIFICACIÓN: DEFENSA DE TESIS: 10 (diez)

Agradecimientos

A Dios en primer lugar.

A mi familia y en especial a mis padres por su apoyo incondicional.

A mi directora y mi codirector por compartir sus conocimientos y dedicarme su tiempo.

A los docentes de la carrera que hacen realidad esta Maestría en Tecnología de los Alimentos.

A mis colegas de investigación por su colaboración y asistencia técnica en el desarrollo de esta investigación.

RESUMEN

El proceso de elaboración de la yerba mate genera subproductos en forma de polvos. Estos polvos constituyen un descarte para la industria yerbatera. Sin embargo, resultan de interés debido a que poseen una composición química similar al producto que se expende como yerba mate elaborada, como un alto contenido de compuestos fenólicos. La utilización de los polvos o sus extractos acuosos como ingredientes no tradicionales en la elaboración de panes artesanales resulta en una mejora de sus propiedades nutricionales, manteniendo sus características organolépticas.

En el presente trabajo se elaboraron panes con reemplazo parcial de harina por polvo de yerba mate y con reemplazo de agua por un extracto acuoso obtenido del polvo de yerba mate. Se evaluaron el contenido de fenoles totales, fibra dietaria, proteínas y cenizas. Asimismo, se determinaron los parámetros físicos de color y textura, el volumen específico y la porosidad. Un análisis sensorial permitió establecer las preferencias en función del sabor y color.

Los panes se formularon con reemplazo parcial de la harina por polvo de yerba mate en diferentes proporciones, desde 0,5 hasta 10%, o con reemplazo del agua por extractos acuosos de concentraciones equivalentes a las cantidades adicionadas de polvo. Los extractos se obtuvieron mediante dos extracciones sucesivas a 70°C. Como referencia se elaboraron panes sin adición de polvo o extracto.

Se observó un aumento significativo del contenido de fenoles totales, tanto con el agregado de polvo de yerba mate como con la adición de extracto, con respecto al pan control. También se observó una mejora en los contenidos de fibra, proteínas y cenizas de los panes elaborados con ambos ingredientes no tradicionales. Fue notable el cambio de color de los panes, aunque no fue causal de rechazo por parte de los consumidores en los ensayos sensoriales. Sin embargo, las preferencias debidas al sabor fueron influenciadas por el porcentaje de adición de polvo o extracto. Con respecto a las propiedades físicas y texturales de los panes, se observaron variaciones relacionadas con el agregado de polvo de yerba mate o sus extractos, aunque los resultados no arrojaron una tendencia clara de cambio.

Se concluye que el empleo de polvo de yerba mate o sus extractos acuosos en la formulación de panes artesanales supone una mejora en las propiedades nutricionales del pan, preservando las características propias de este producto.

Palabras clave: pan, yerba mate, polvo, extractos.

ABSTRACT

In the industrialization process of yerba mate, byproducts are generated in the form of powders and discarded as waste. However, powder is an interesting element to be considered due to its chemical composition, similar to that of the commercialized yerba mate product., such as its high content in phenolic compounds. Using powder or its aqueous extracts as nonconventional ingredients for breadmaking purposes improves bread's properties, keeping organoleptic features of bread unaltered.

In the present study, bread pieces are made with partial replacement of wheat flour with yerba mate powder and substitution of water with aqueous extracts from yerba mate powder. Total phenolic content, dietary fiber, protein, and ash contents were assayed. Moreover, color and texture parameters, specific volume, and porosity were determined. Sensory analysis showed preferences according to color and flavor.

Bread samples were formulated replacing flour with yerba mate powder at different proportions, from 0.5 to 10%, as well as substituting water with aqueous extracts of equivalent concentrations to those of powder additions. Extracts were obtained by double extraction at 70°C. A control sample was made without powder or extract incorporation.

A significant increase in total phenolic content was observed for both types of bread. Fiber, ash, and protein contents also improved. There was a noticeable change in color of samples although it was not a reason for rejection by consumers on sensory tests. However, preferences due to flavor were influenced by concentration level of powder or extract. Changes in physical and textural properties were registered, with no clear trend related to concentration level of powder or extracts.

Using yerba mate powder or its aqueous extracts in bread formula improves nutritional properties of bread with no substantial changes in typical features of this food product.

Keywords: bread, yerba mate, powder, extracts.

TABLA DE CONTENIDOS

Dictamen.....	I
Agradecimientos.....	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
TABLA DE CONTENIDOS	V
Lista de Tablas.....	VIII
Lista de Figuras.....	IX
Capítulo I - INTRODUCCIÓN	1
I.1 – Alcances y definición del problema de investigación.....	1
I.2 – Objetivo general.....	1
I.3 – Objetivos específicos	2
I.4 – Hipótesis.....	2
I.5 – Justificación	2
Capítulo II - ANTECEDENTES	4
II.1 – Proceso de elaboración del pan blanco	4
II.2 – Ingredientes no convencionales empleados en la formulación de panificados	7
II.3 – Subproductos de la yerba mate empleados como componente de interés alimentario	8
II.4 – Composición química y nutricional de la yerba mate.....	8
II.5 - Efectos del consumo de la yerba mate en la salud humana	9
II.6 – Uso de la yerba mate como conservante natural	10
II.7 – Compuestos fenólicos presentes en la yerba mate	10
II.8 – Efectos de la adición de compuestos fenólicos sobre los componentes del pan	12
II.8.1 – Interacciones con las proteínas del gluten.....	13
II.8.2 – Interacciones con el almidón	14
II.9 – Digestibilidad de los compuestos fenólicos	15
II.10 – Requisitos reglamentarios nacionales.....	16
Capítulo III - CUERPO DEL DESARROLLO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.....	17
III.1 – PROPUESTA METODOLÓGICA.....	17
III.2 – MATERIALES Y MÉTODOS	17
III.2.1.a – Materias primas y obtención de pan blanco	17
III.2.1.b – Reemplazo parcial de harina por polvo de yerba mate.....	18

III.2.1.c – Obtención de un extracto a partir de polvo de yerba mate para el reemplazo del agua.....	19
III.2.1.d – Procedimiento de obtención de los panes con reemplazo de ingredientes.....	20
III.2.2 – Propiedades químicas	21
III.2.2.a – Contenido de humedad.....	21
III.2.2.b – Extracción y determinación del contenido de compuestos fenólicos	21
III.2.2.c – Contenido de cenizas	23
III.2.2.d – Contenido de fibra dietaria	24
III.2.2.e – Contenido de proteínas.....	25
III.2.3 – Propiedades físicas	26
III.2.3.a – Parámetros de color.....	26
III.2.3.b – Volumen específico.....	26
III.2.3.c – Parámetros de textura.....	27
III.2.3.d – Porosidad de la miga	30
III.2.4 – Análisis sensorial.....	30
III.2.5 – Análisis microbiológico	32
III.2.6 – Análisis estadístico	33
III.2.6.a – Determinaciones físicas, químicas y análisis instrumental de la textura	33
III.2.6.b – Análisis sensorial.....	33
III.3 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
III.3.2 – Descripción del pan control y de los panes formulados	35
III.3.3 – Propiedades químicas	36
III.3.3.a – Contenido de humedad.....	36
III.3.3.b – Solvente de extracción y contenido de compuestos fenólicos	37
III.3.3.c – Contenido de cenizas.....	41
III.3.3.d – Contenido de fibra dietaria	42
III.3.3.e – Contenido de proteínas.....	43
III.3.4 – Propiedades físicas	45
III.3.4.a – Parámetros de color de la miga.....	45
III.3.4.b – Volumen específico.....	47
III.3.4.c – Parámetros de textura.....	49
III.3.4.d – Porosidad de la miga	53
III.3.4.e – Aspectos destacados sobre los parámetros texturales del pan	54
III.3.5 – Análisis sensorial.....	56
III.3.6 – Recuentos microbiológicos.....	61

III.4 – CONCLUSIONES	63
Capítulo IV - PROPUESTA DE TRABAJOS FUTUROS	64
REFERENCIAS	65
ANEXO: PRESENTACIONES EN EVENTOS CIENTÍFICOS	74

Lista de Tablas

Tabla III-1. Ingredientes y cantidades empleadas en la formulación del pan blanco.....	18
Tabla III-2. Cantidad de polvo de yerba mate según el porcentaje de reemplazo de harina.	19
Tabla III-3. Criterios microbiológicos obligatorios para la harina de trigo.	33
Tabla III-4. Contenido de humedad de panes formulados.	36
Tabla III-5. Contenido de fenoles totales según el solvente de extracción.	38
Tabla III-6. Contenido de fenoles totales de panes formulados.	39
Tabla III-7. Contenido de cenizas de panes formulados.	41
Tabla III-8. Contenido de fibra de panes formulados.	43
Tabla III-9. Contenido de proteínas de panes formulados.	44
Tabla III-10. Volumen específico de panes formulados.	48
Tabla III-11. Parámetros de TPA de panes formulados.	50
Tabla III-12. Firmeza de panes formulados.	51
Tabla III-13. Porosidad de panes formulados.	53
Tabla III-14. Sumatorias de los ordenamientos según los atributos de color y sabor.	56
Tabla III-15. Valores empleados en el test de Friedman.....	58
Tabla III-16. Valores empleados en el test de comparaciones múltiples.....	58
Tabla III-17. Grupos homogéneos para el test LSD según los atributos de color y sabor.	60
Tabla III-18. Análisis microbiológico de panes formulados.	62

Lista de Figuras

Figura II-1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración del pan.	4
Figura II-2. Enlaces disulfuro intramoleculares de la gliadina de trigo y enlaces disulfuro intra e intermoleculares de la glutenina de trigo	7
Figura III-1. Semillas de mijo, cuba de vidrio llena de semillas de mijo y cuba de vidrio conteniendo el pan dentro y parcialmente cargada con semillas de mijo.....	27
Figura III-2. Analizador de textura y posición del émbolo sobre dos rebanadas superpuestas.	28
Figura III-3. Gráfico ilustrativo obtenido en el ensayo de TPA.	29
Figura III-4. Conversión de la imagen seleccionada en la rebanada de pan a una imagen binaria.	30
Figura III-5. Bandeja con muestras para los ensayos de preferencia.....	31
Figura III-6. Planilla empleada en los ensayos de preferencia.....	32
Figura III-7. Pan blanco (control) desmoldado y rebanado.	35
Figura III-8. Panes elaborados con polvo de yerba mate y su extracto, con las cantidades: 0,5; 1,5; 2,5; 5 y 10%	35
Figura III-9. Parámetros de color de panes formulados: L, a* y b*	46
Figura III-10. Alvéolos en la miga del pan blanco y panes con extracto al 2,5% y 10% de polvo en su composición.....	55
Figura III-11. Estructura y deformación en el pan causados por el agregado de ingredientes no convencionales: pan blanco y pan con extracto al 10%.....	55
Figura III-12. Puntajes promedio para el atributo COLOR.	57
Figura III-13. Puntajes promedio para el atributo SABOR.....	57

Capítulo I - INTRODUCCIÓN

I.1 – Alcances y definición del problema de investigación

El pan es un alimento que se consume en distintos momentos del día, habitualmente junto con otros alimentos en el desayuno, almuerzo, merienda o cena. El consumo per cápita de la Argentina ubica al país entre los de mayor ingesta a nivel mundial (Cuculiansky, 2020). Es un producto alimenticio de bajo costo y de elaboración sencilla, en el hogar y en la industria. Estas características lo hacen apropiado para la suplementación, o simplemente para la adición de otros ingredientes que mejoren sus propiedades nutricionales y organolépticas. Por otra parte, la adición de compuestos que mejoren los atributos antioxidantes y nutricionales del pan acompaña el interés creciente de la población por consumir alimentos más saludables, enriquecidos en nutrientes o libres de algún componente considerado nocivo tales como alérgenos o poco saludables, como las grasas saturadas (Moreno, 2012; Allemandi y col., 2018; Zapata y col., 2020). El desarrollo de alimentos funcionales también responde a la necesidad de una alimentación más sana. Sin embargo, actualmente en Argentina no se cuenta con una definición consensuada sobre este tipo de alimentos (Jiménez y col., 2013).

Por otra parte, la yerba mate se consume como infusión por gran parte de la población. Industrialmente se la obtiene a partir del procesamiento de hojas y ramas jóvenes de la especie *Ilex paraguariensis* (Brumovsky y col., 2015a). Las infusiones de yerba mate, en la forma de mate caliente, poseen un alto contenido de polifenoles que protegen al organismo del daño celular. Además, son fuente de minerales y su consumo regular ayuda a reducir el colesterol LDL (del inglés, *lipoproteínas de bajo peso molecular*) y los triglicéridos (Schmalko y col., 2015; Burris y col., 2012; Paganini Stein y col., 2005).

Según datos del Instituto Nacional de la Yerba Mate, el consumo per cápita de yerba mate elaborada superó los seis kilogramos anuales a fines de 2019. Es notable el aporte de compuestos antioxidantes y demás nutrientes que se obtienen con la ingesta diaria y sostenida del mate.

Resulta interesante trasladar las propiedades de la yerba mate a la formulación de panificados mediante el agregado de un subproducto obtenido de su industrialización.

I.2 – Objetivo general

Estudiar los efectos del reemplazo parcial de la harina de trigo por polvo de yerba mate y del reemplazo del agua por un extracto acuoso obtenido del polvo de yerba mate, sobre las características físicas, químicas y sensoriales del pan blanco (común).

I.3 – Objetivos específicos

- 1) Formular y elaborar panes de tipo artesanal con reemplazo parcial de harina por diferentes cantidades de polvo de yerba mate (subproducto).
- 2) Formular y elaborar panes de tipo artesanal con reemplazo de agua por un extracto acuoso obtenido con cantidades de polvo de yerba mate equivalentes al porcentaje de harina reemplazada en el objetivo 1.
- 3) Determinar propiedades físicas (color, volumen específico, firmeza, dureza, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia); químicas (contenido de ceniza, fibra y fenoles totales) y sensoriales (pruebas de aceptación) en ambos tipos de panes. Comparar estas propiedades de los panes artesanales con las mismas propiedades medidas en el pan elaborado sin reemplazo de harina y agua (pan control).
- 4) Realizar un control microbiológico del pan control, del pan con reemplazo de harina y del pan con reemplazo de agua que resulten con mayor aceptación en los ensayos sensoriales.

I.4 – Hipótesis

El agregado de polvo de yerba mate o sus extractos acuosos al pan blanco resulta en una mejora de su contenido en fenoles y fibra, manteniendo las características físicas y de sabor propias del pan blanco.

I.5 – Justificación

En la reformulación de los alimentos se trata de sustituir un ingrediente por otro con la finalidad de mejorar alguna propiedad del alimento, sin comprometer la calidad y las características sensoriales del alimento.

Ciertos componentes de la dieta contribuyen a la actividad antioxidante en los tejidos humanos. Numerosos estudios científicos indican que los constituyentes químicos de los alimentos de origen vegetal participan en el mantenimiento de la salud humana. Actualmente, existe un especial interés en el estudio de alimentos elaborados a base de plantas por su alto contenido en polifenoles y otros fitoquímicos. Hojas, tallos y flores resultan valiosos y podrían ser utilizados como fuente de compuestos bioactivos.

En este sentido, el estudio de las infusiones del té y de otros vegetales ha ganado terreno. En particular, resulta de interés el empleo de la yerba mate, ampliamente consumida en Sudamérica, en ocasiones en reemplazo del té o el café. Las infusiones de yerba mate son conocidas por su alto contenido de compuestos fenólicos, con propiedades farmacológicas como antioxidantes, antiinflamatorios o reductores del peso corporal.

Los compuestos fenólicos presentes en la yerba mate juegan un papel importante en la nutrición humana y, por tratarse de componentes de alimentos de origen vegetal, pueden

conferir beneficios adicionales (antimicrobianos, antioxidantes, estimulantes, digestivos) cuando son agregados a otros productos alimenticios.

Por otra parte, el proceso de elaboración de la yerba mate genera subproductos que son eventualmente descartados. Se trata de polvos finos de hojas y palos provenientes de la molienda, que poseen características similares a las del producto que se comercializa.

Es de interés en este trabajo estudiar la elaboración de panes con distintas proporciones de polvo de yerba mate, por su aporte en sustancias antioxidantes, fibra y minerales.

Se propone utilizar este subproducto como ingrediente no convencional en la elaboración de panificados. Sin embargo, más allá de las eventuales mejoras nutricionales que introducirían los polifenoles en el pan, las características texturales y sensoriales del producto resultante deben ser aceptables. Además, debe tenerse en cuenta si los consumidores estarían dispuestos a aceptar cambios en las características típicas del pan blanco.

De este modo se busca mejorar un producto de consumo masivo haciéndolo más beneficioso y deseable, mientras que se utiliza un subproducto, considerado un desecho en la industria yerbatera, transformándolo en un componente de interés alimentario.

Capítulo II - ANTECEDENTES

II.1 – Proceso de elaboración del pan blanco

El Código Alimentario Argentino (Capítulo IX, artículo 725) define al pan como “el producto obtenido por la cocción en hornos y a temperatura conveniente de una masa fermentada o no, hecha con harina y agua potable, con o sin el agregado de levadura, con o sin la adición de sal con o sin la adición de otras sustancias permitidas para esta clase de productos alimenticios”. El agregado de otros ingredientes o aditivos alimentarios es opcional, aunque se recomienda su uso en la elaboración de pan en gran escala, con la finalidad de fortalecer la red del gluten, mejorar la estructura de la miga, intensificar el color de la corteza, aumentar la capacidad de retención de gas y extender la vida útil.

En los últimos años, varios autores reportan que se ha probado con éxito el agregado de harina de cebada, rica en fibra, o la adición de extractos de té verde para aumentar el contenido en compuestos antioxidantes del pan blanco (Wang y col., 2007; Holtekjølen y Knutsen, 2011).

En la Figura II-1 puede observarse un diagrama del proceso de elaboración del pan (adaptado de Mesas y Alegre, 2002).

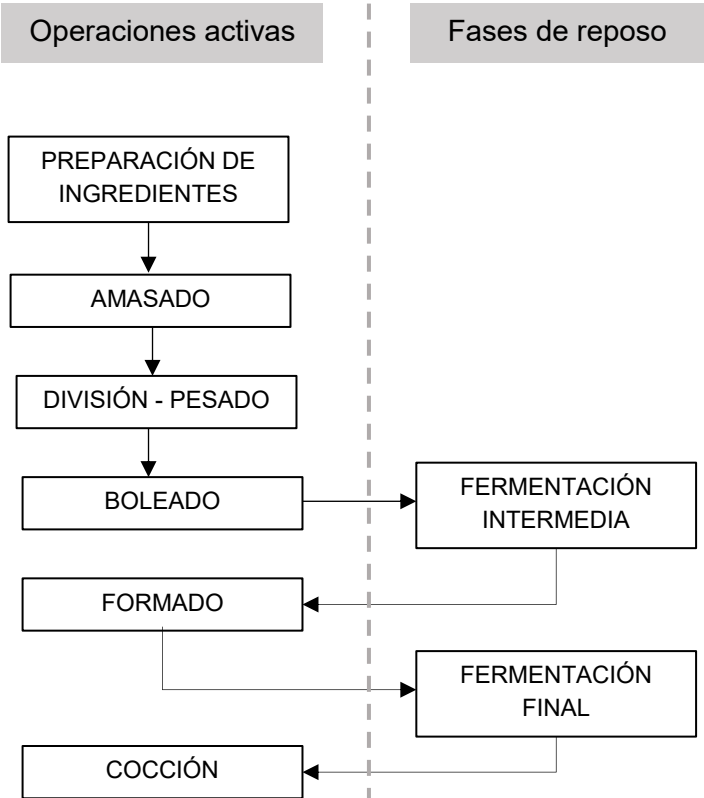


Figura II-1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración del pan.

Este proceso comprende las siguientes etapas:

Amasado: logra la mezcla de los ingredientes, transformándolos en una única masa. El agua es el iniciador del proceso y es agregada para hidratar los demás ingredientes y posibilitar el amasado, dando comienzo al desarrollo de la red de gluten gracias a la acción mecánica ejercida sobre la mezcla. El agua es retenida entre las cadenas de almidón y le proporciona la consistencia y la viscosidad características a la masa (Torres y col., 2011).

División, pesado y boleado: cuando finaliza el amasado, la masa se divide en porciones más pequeñas, según sea el tamaño final de las hogazas.

Fermentación: en esta etapa, la levadura (*Sacharomyces cerevisiae*) transforma los azúcares simples, provenientes del almidón en etanol y CO₂ (dióxido de carbono), además de algunos productos intermedios. El etanol integra la fase líquida de la masa y el CO₂ gaseoso en parte es disuelto dando H₂CO₃ (ácido carbónico); otra fracción queda retenida en la fase gaseosa de la masa, y el resto escapa hacia el medio (García Olmedo, 1964). En realidad, la fermentación comienza durante el amasado, continúa durante las etapas de reposo y se detiene cuando la masa alcanza los 50 - 55°C en el horno. Las fermentaciones intermedia y final, como se aprecia en el diagrama de la Figura II-1, se refieren a fases de reposo de la masa. La temperatura debe encontrarse entre 25 y 27°C para que la fermentación intermedia sea adecuada. La temperatura óptima para la fermentación final es de 32 a 36°C. El azúcar agregada actúa como iniciador de este proceso (Mondal y Datta, 2008).

Formado: se realiza para dar la forma final a la masa, de acuerdo con el producto que se desea obtener. La acción mecánica del formado debe realizarse sin desgarrar la masa, para que una buena parte del CO₂ quede atrapado en su interior. Durante los primeros minutos de cocción, el aumento de la temperatura del horno provoca la expansión de ese gas retenido en la masa.

Cocción: se realiza en un horno, a temperaturas comprendidas entre 140 - 240°C (según el panificado). Consiste en una serie de transformaciones fisicoquímicas que le confieren al pan sus atributos organolépticos típicos. Los cambios principales que ocurren en esta etapa son los siguientes: formación de la corteza del pan, formación de la miga gracias a la gelatinización del almidón, coagulación del gluten, evaporación parcial del agua y de sustancias volátiles, muerte térmica de las levaduras e inactivación de las enzimas (García Olmedo, 1964; Torres y col., 2011).

Sobre los componentes del pan

Las proteínas constituyen el 9 - 13% del peso seco de la harina de trigo y se dividen en albúminas, globulinas, gliadinas y gluteninas.

Las albúminas y globulinas son principalmente enzimas solubles en agua, en soluciones salinas neutras y no poseen las características del gluten. Una de ellas es la enzima α -amilasa, que hidroliza el almidón de la harina de trigo en los enlaces α -1,4-glucosídicos al azar, originando fragmentos cortos denominados dextrinas. Las β -amilasas hidrolizan el almidón en los enlaces α -1,4- en unidades de maltosa comenzando por el extremo no reductor (Badui Dergal, 2006).

Las gliadinas y gluteninas representan el 80 a 85% del total de las proteínas del trigo, son llamadas *proteínas del gluten* y le imparten de manera conjunta a la masa las propiedades de viscosidad, cohesión y elasticidad ideales para la correcta formación del pan (Goesaert y col., 2005; De la Vega Ruiz, 2009; Belitz y col., 2009).

Las gliadinas son monoméricas y contribuyen mayormente a la viscosidad y extensibilidad de la masa. El peso molecular de las gliadinas se encuentra entre 30.000 y 80.000 Da. Se han identificado cuatro grupos: alfa, beta, gamma y omega (Wieser, 2007). El dominio de aminoácidos C terminal para alfa, beta y gamma gliadinas contiene de seis a ocho residuos de cisteína (CSH) respectivamente, y forman enlaces disulfuro (SS) intramoleculares (Villanueva Flores, 2014; Joye y col., 2009).

Las gluteninas son un grupo de polímeros heterogéneo, que proveen de cohesividad y elasticidad a la masa. Los pesos moleculares van desde 80.000 hasta varios millones de Da. Los enlaces disulfuro intermoleculares pueden ser reducidos con agentes reductores, liberando subunidades de gluteninas con solubilidad similar a las gliadinas. Dichas subunidades de glutenina pueden dividirse en cuatro grandes grupos: un grupo de peso molecular alto (entre 65.000 y 90.000) y tres grupos de peso molecular bajo (entre 30.000 y 60.000). El grupo de peso molecular bajo contiene seis residuos de cisteína, que pueden formar cadenas intermoleculares, contribuyendo a la formación de la red de gluten (Wieser, 2007). Los grupos de peso molecular alto poseen altos contenidos de prolina, lisina y glutamina. Prácticamente todos los residuos de cisteínas están ubicados cerca de los extremos de las subunidades. Las gluteninas proporcionan a la masa del pan la resistencia a la extensión (Villanueva Flores, 2014; Joye y col., 2009).

Los esfuerzos manuales o mecánicos provocados durante la mezcla y el amasado inducen un intercambio de grupos azufrados entre las múltiples cisteínas del gluten, lo que permite la formación de enlaces disulfuro intra e intermoleculares. A la par de esto, las gluteninas y las gliadinas se desnaturalizan y se establecen entre ellas interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas que permiten que estos polímeros se orienten longitudinalmente.

La alta proporción de prolina de las proteínas del gluten en su conjunto (10% prolina, 20% glicina y 35% glutamina según Sivam y col., [2010]) evita la conformación helicoidal, lo que a su vez acarrea que los grupos amida de las glicinas y glutaminas establezcan fácilmente puentes de hidrógeno inter e intramoleculares. La baja concentración de aminoácidos ionizables y el alto porcentaje de grupos hidrofóbicos del gluten lo hacen poco soluble en agua a pH neutro. El resultado de este proceso es la formación de una red elástica y cohesiva, necesaria para el esponjamiento ocasionado por la generación del CO₂ durante la fermentación (Badui Dergal, 2006).

En la Figura II-2 se observan los enlaces disulfuro intra e intermoleculares formados por las gliadinas y las gluteninas (tomado de Badui Dergal, 2006).

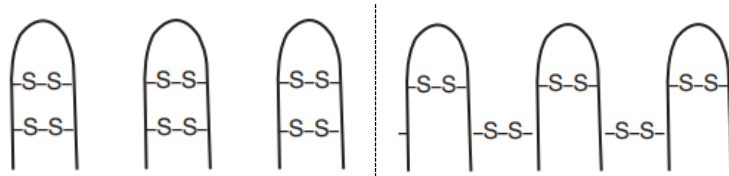


Figura II-2. Enlaces disulfuro intramoleculares de la gliadina de trigo (*izq.*) y enlaces disulfuro intra e intermoleculares de la glutenina de trigo (*der.*).

La adición de sal ayuda a fortalecer la red de gluten y aminorar la acción de la levadura, controlando la expansión de la masa. Además, mejora el color de la corteza y el sabor del pan. La materia grasa proporciona una mejor maquinabilidad a la masa; actúa como agente humectante, facilitando la hidratación de la harina y la ordenación y deslizamientos de las moléculas de proteínas durante el amasado.

II.2 – Ingredientes no convencionales empleados en la formulación de panificados

El pan es uno de los alimentos de mayor consumo a nivel mundial, debido a su valor nutritivo, bajo precio y simplicidad de elaboración. Esas características hacen que sea un alimento excelente para la suplementación. En los últimos años, los investigadores han incursionado en el enriquecimiento de panificados con hojas, tallos, raíces y semillas de hierbas y plantas ricas en minerales, micronutrientes, aceites esenciales y sustancias antioxidantes. Los componentes vegetales se han utilizado en forma de polvos, moliendas y extractos.

El polvo liofilizado de guayaba se ha usado como reemplazo de hasta el 20% de la harina en la formulación de panes. En este caso no hubo restricciones en el porcentaje de adición desde el punto de vista organoléptico pues el polvo de guayaba posee un aroma agradable y frutal (debido principalmente a la presencia de terpenos como limoneno y β -cariofileno) que mejoró el aroma del alimento (Castelo Branco y col., 2016). El uso de hojas de té verde molidas en reemplazo de hasta el 6% de la harina de trigo y en reemplazo de hasta un 4% de la harina de trigo integral han logrado mejorar la capacidad antioxidante del pan y su vida útil en góndola sin alterar su calidad (El-Megeid y col., 2009; Ning y col., 2017). Resultados similares se han registrado con agregados de granos de café verde molidos, provocando un aumento significativo en el contenido de fenoles totales, de manera proporcional a la cantidad añadida de café. Los investigadores sostienen que incluso el pan que fue adicionado con la menor cantidad de granos de café tuvo el doble de compuestos fenólicos que un pan integral (Zain y col., 2017).

Otros autores han estudiado los efectos del agregado de compuestos fenólicos puros, o en solución. El agregado de catequinas (polifenoles mayoritarios en el té verde) en panificados ha contribuido a la estabilidad oxidativa, observándose una reducción del contenido de hidroperóxidos lipídicos, responsables del deterioro de los panificados durante el almacenamiento (Jensen y col., 2011; Achiwa y col., 2001).

II.3 – Subproductos de la yerba mate empleados como componente de interés alimentario

Durante la etapa de molienda de la yerba mate, se generan residuos o polvos de hojas y palos de granulometría muy pequeña. Estos polvos no son incorporados al producto final y son eventualmente descartados. Debido a los conocidos beneficios del consumo de la yerba mate en la salud humana, es esperable que esos residuos puedan tener aplicaciones variadas. Por lo tanto, representan una alternativa para el desarrollo de nuevos productos a partir de él. El polvo de yerba mate ha sido empleado en la elaboración de caramelos y como componente para entrapar el edulcorante Rebaudiósido A y minerales como calcio, hierro y magnesio (Vieira y col., 2008; Scipioni y col., 2007).

El extracto acuoso del polvo de yerba mate ha sido incorporado en la formulación de barras de cereal, quesos y recubrimientos comestibles (Chiesa y col., 2012; Saraiva y col., 2019; Medina Jaramillo y col., 2016; Pluta Kubica y col., 2020).

Incluso se obtuvieron zanahorias en conserva elaboradas con un extracto de polvo de yerba mate como líquido de cobertura o como ingrediente no convencional en bebidas artificiales de naranja (Neis y col., 2019; Klekailo y col., 2018).

II.4 – Composición química y nutricional de la yerba mate

La yerba mate presenta una composición química y nutricional variada, rica en sustancias antioxidantes. En el producto elaborado se han reportado valores de proteínas entre 8 y 14% (base seca) y entre 15 y 20% de fibra cruda¹ en base seca (Esmelindro y col., 2002; Schmalko y col., 2015).

Sin embargo, el aporte de proteínas y fibra de los extractos de yerba mate es muy bajo debido a la escasa transferencia de las macromoléculas desde el sólido hacia el líquido que constituye la infusión. Los contenidos de ambos nutrientes hallados en infusiones obtenidas simulando el consumo del mate ascienden a 1 g de proteínas y 0,5 g de fibra alimentaria en 500 mL de extracto (Brumovsky y col., 2008; Brumovsky y col., 2015). Estos valores son similares a los declarados en el rótulo de los paquetes (determinados en un extracto acuoso) como información nutricional de algunas marcas comerciales de yerba mate elaborada: 1,2 - 2 g para proteínas y 0 - 1,5 g de fibra alimentaria cada 100 g de producto.

La yerba mate elaborada posee un contenido de cenizas entre 6 - 8% en peso seco (Scipioni y col., 2007). También han sido estudiados los contenidos de varios minerales en las

¹ La *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura* (Food and Agriculture Organization [FAO], 1997) no recomienda determinar el contenido de fibra de un alimento como fibra cruda porque se subvalora el contenido de fibra dietaria ya que se disuelve gran parte de la hemicelulosa y lignina, cantidades variables de celulosa y toda la fibra soluble. La fibra cruda tiene poca significancia fisiológica en la nutrición humana y no debiera usarse para informar del contenido de fibra de los alimentos. Actualmente, este método se emplea para estimar el contenido de palos en los paquetes de yerba mate elaborada (Secretaría de Regulación y Gestión Sanitaria, 2018a).

hojas de yerba mate elaborada y en un extracto obtenido a partir de ese producto. En las hojas se han encontrado cantidades considerables de potasio (10 - 12 g/kg), calcio (5,6 - 7 g/kg), magnesio (2,9 - 4 g/kg) y manganeso (1 - 2,2 g/kg) y contenidos menores de otros minerales como zinc (0,041 – 0,072 g/kg), aluminio (0,125 – 0,370 g/kg) y hierro (0,093 – 0,155 g/kg). Se han encontrado trazas de silicio, plomo, titanio, cromo y cadmio (Pereira y col., 2016; Maiocchi y col., 2016).

Las concentraciones de minerales encontradas en los extractos indicaron que elementos tales como sodio, potasio, magnesio y zinc son fácilmente transferidos al agua caliente durante la obtención de la infusión. Los porcentajes de extracción aproximados de cada elemento (desde la yerba mate elaborada hacia el extracto) fueron los siguientes: 35% para cobre, 50% para potasio, 25% para magnesio, 40% para sodio y 40% para zinc. Se han hallado también trazas de arsénico, manganeso, cromo, plomo y cadmio, aunque en ningún caso fueron excedidos los límites permitidos (Pereira y col., 2016; Maiocchi y col., 2016).

Es evidente que tanto las hojas como los extractos de yerba mate aportarían fibra, proteínas y minerales a otros alimentos al ser adicionados.

II.5 - Efectos del consumo de la yerba mate en la salud humana

Un número considerable de publicaciones señalan el efecto protector sobre la salud humana que produce el consumo de extractos de *Ilex paraguariensis*. Se ha observado la inhibición del progreso de la aterosclerosis y la reducción del tamaño de lesiones aórticas en animales a los que se les suministró una dieta rica en colesterol que contenía extracto de yerba mate. Esta investigación demuestra que el extracto de *Ilex paraguariensis* ejerce un efecto protector frente a la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, o LDL (Pamplona Mosimann y col., 2006; Gugliucci, 1996). En otros estudios se ha reportado una disminución significativa en los valores de colesterol sérico y triglicéridos en ratas hipercolesterolémicas tras la administración oral de *I. paraguariensis*, así como reducción en la oxidabilidad de lipoproteínas de bajo peso molecular en humanos (Paganini Stein y col., 2005; Filip y col., 2000).

Se ha sugerido que el consumo como mate cocido contribuye a la reducción del colesterol LDL tanto en pacientes sanos como en pacientes bajo terapia de estatinas, indicando que el consumo del extracto podría ser una manera de reducir la dosis del medicamento y sus efectos colaterales (De Moraes y col., 2009).

La capacidad antioxidante de los extractos de yerba mate ha sido estudiada en suero, hígado y riñones de animales sanos. Los compuestos antioxidantes presentes en la yerba mate protegen a los ácidos grasos insaturados frente a la oxidación. Los autores sostienen que el ácido clorogénico, el compuesto fenólico mayoritario en la yerba mate y antioxidante potente, puede actuar como donador de electrones o hidrógeno, o como quelante de metales de transición (Martins y col., 2009). Estos resultados sugieren que el consumo regular de mate puede mejorar las defensas antioxidantes por varios mecanismos, no solamente aumentando el contenido de compuestos activos en circulación, sino mediante la regulación de la

maquinaria enzimática celular para contrarrestar el estrés oxidativo. Se ha observado la capacidad de los extractos de yerba mate como antiinflamatorios en animales expuestos al humo del cigarrillo (Lanzetti y col., 2008).

El consumo de esta planta presenta algunas contraindicaciones, en casos de estados de ansiedad, taquicardia, hipertensión, gastritis, úlceras gastrointestinales y algunas dolencias hepáticas (Vanaclocha, 2000). Con respecto a la hipertensión, se debe considerar que el contenido de sodio en la yerba mate, calculado por gramo de materia seca, es de aproximadamente 0,16 mg por día. Es importante controlar la ingesta, teniendo en cuenta que el máximo permitido para adultos es de 2 g de sodio por día, para evitar problemas relacionados con el incremento de la presión arterial (Pereira y col., 2016).

II.6 – Uso de la yerba mate como conservante natural

Además de los beneficios sobre la salud que han sido mencionados, diversos autores proponen el empleo de extractos de yerba mate como conservantes naturales para alimentos. Esto se debe a la necesidad de la industria alimentaria de satisfacer la demanda creciente por alimentos más saludables y libres de aditivos sintéticos.

En los últimos tiempos, diferentes investigaciones han revelado el potencial antimicrobiano de los extractos de yerba mate, cuyo espectro de actividad incluye hongos y bacterias gram-positivas y gram-negativas (De Biasi y col., 2009). Esta bioactividad está estrictamente relacionada con la presencia de diferentes grupos de metabolitos, principalmente fenoles (Rodríguez Vaquero y col., 2010).

La efectividad de extractos metanólicos y etanólicos de yerba mate frente a patógenos alimentarios tales como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* y *Escherichia coli* ha sido comprobada (De Biasi y col., 2009; González Coria y Horiński, 2018).

Se cree que los terpenos (carotenoides y saponinas) presentes en la yerba mate pueden aumentar la permeabilidad de la membrana plasmática del microorganismo al alterar la bicapa lipídica, razón por la que presentarían esta propiedad antibacteriana (Oliveira Penteadó y col., 2016). Investigaciones realizadas en otras matrices sostienen que los componentes activos del extracto se enlazan a otros compuestos de la pared celular de las bacterias y la penetran, provocando la inhibición del movimiento de protones, inhibición de la cadena respiratoria, inhibición de la transferencia de electrones y alteraciones en la oxidación de sustratos (Shan y col., 2007).

II.7 – Compuestos fenólicos presentes en la yerba mate

Los polifenoles comprenden un grupo diverso de metabolitos secundarios de las plantas que, por lo general, participan en la defensa contra la radiación ultravioleta, daños fisiológicos por patógenos, señalización celular, etc. (Scalbert y col., 2005). También participan en la

atracción de polinizadores, protección frente a invasión de microorganismos o animales herbívoros. Abarcan compuestos del grupo de los ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos, en ocasiones en forma de ésteres o glicósidos.

Estas sustancias son antioxidantes naturales y protegen al cuerpo del estrés oxidativo. La capacidad antioxidante se basa en su modo de acción: inhiben la formación de radicales lipídicos, interrumpen el proceso de autooxidación, suprimen a especies reactivas de oxígeno como el oxígeno singulete, reducen el peróxido de hidrógeno a especies más estables, quelan metales de transición y modulan la actividad de enzimas prooxidativas y antioxidantes (Carocho y Ferreira, 2013).

Los compuestos fenólicos constituyen del 7 al 10% del peso seco de las hojas de yerba mate, con propiedades antioxidantes comparables con las del vino tinto o el té. El ácido clorogénico es el compuesto mayoritario, encontrándose en cantidades de hasta 95% sobre el total, siendo el 5% restante flavanoles. El ácido cafeico está presente en una concentración menor a 0,03% (Isolabella y col., 2010).

En la fracción de los flavanoles se encuentran la quercetina, la rutina y el kaemferol, mayormente glicosilados (Bravo y col., 2007; González y col., 2010; Hartwig y col., 2012).

En los extractos de yerba mate se han identificado isómeros del ácido monocateoilquínico e isómeros del ácido dicafeoilquínico. Los compuestos mayoritarios entre los isómeros del ácido monocateoilquínico son los ácidos clorogénicos (ácido 5-O-cafeoilquínico), neoclorogénico (ácido 3-O-cafeoilquínico) y criptoclorogénico (ácido 4-O-cafeoilquínico). Los principales isómeros del ácido dicafeoilquínico son los ácidos 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico y 4,5-dicafeoilquínico (Bravo y col., 2007; Dugo y col., 2009).

Para explicar los efectos benéficos del consumo de la yerba mate sobre la salud se menciona más frecuentemente a las propiedades antioxidantes de los polifenoles presentes en la infusión. La capacidad de inhibición del 50% del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo, o DPPH (IC_{50}) se logra con concentraciones de extractos de 12 μ g de yerba mate /mL de agua, con respecto al control de ácido ascórbico (Anesini y col., 2012).

La capacidad antioxidante de soluciones al 10% de yerba mate (10^5 μ g de yerba mate/mL de agua) fue de 80 a 85% de inhibición del radical DPPH (González y col., 2010).

Entre los compuestos fenólicos presentes en los extractos de yerba mate (ensayados puros), el ácido clorogénico es el más potente como antioxidante, presentando el mayor efecto de inhibidor de radicales libres de DPPH. La cafeína no demuestra capacidad para inactivar radicales libres. Contrariamente, posee actividad prooxidante ya que induce la lipooxidación, es decir que estas sustancias presentan efectos antagonistas que coexisten en el extracto (Anesini y col., 2012).

Se ha podido establecer una correlación significativa y positiva entre la capacidad antioxidante y el contenido de cafeoil-derivados, medidos como equivalentes de ácido clorogénico (Anesini y col., 2012). A su vez, algunos autores sostienen que dicha propiedad protectora frente a la oxidación también está favorecida por la rutina, quercetina y kaemferol,

en sus formas libre y glicosiladas, presentes en el extracto de yerba mate (Filip y col., 2000; Martins y col., 2009). Los compuestos fenólicos también poseen carácter prooxidante, al inducir la apoptosis y la prevención del crecimiento de tumores (Scalbert y col., 2005).

Se cree que el efecto protector de las catequinas del té verde frente a la proliferación de células cancerosas está relacionado con su interacción con las proteínas. El galato de epigallocatequina (EGCG) es fácilmente oxidable a la forma de semiquinona y luego a o-quinona. Las o-quinonas pueden formar enlaces covalentes con las enzimas telomerasas, inhibiendo parcial o totalmente la actividad enzimática. Posiblemente, esta inhibición de la función de la enzima induce la apoptosis de las células tumorales (Ishii y col., 2008). También se ha observado la capacidad prooxidante de los extractos de yerba mate en ensayos que demuestran una inhibición de hasta el 50% del crecimiento neto de células de carcinoma de colon humano (González y col., 2010).

Durante años se pensó que el principal mecanismo por el cual los polifenoles y otros antioxidantes protegían a los constituyentes de las células era a través de inhibidores de radicales libres. Luego se descubrió que las células responden a los polifenoles mediante interacciones directas, por medio de receptores o enzimas involucrados en la traducción de señales, que podría modificar del estado redox de la célula y desencadenar reacciones redox dependientes (Scalbert y col., 2005).

En la naturaleza, una fracción variable de estos compuestos se encuentra ligada a otros componentes de las plantas, alterando su solubilidad. Las formas insolubles están enlazadas a componentes estructurales de las paredes celulares mediante enlaces éster o glicosídico, pudiéndose liberar el aglicón (compuesto fenólico) por hidrólisis alcalina o ácida. Algunas investigaciones sugieren que una acción mecánica los libera, ocurrida por ejemplo durante la agitación de una solución o el mezclado para formar la masa de pan, haciéndolos más fácilmente extraíbles (Acosta Estrada y col., 2014; Dunn y col., 2015; Castelo Branco y col., 2016).

II.8 – Efectos de la adición de compuestos fenólicos sobre los componentes del pan

La incorporación de yerba mate o de sus extractos a otros alimentos aportaría cantidades considerables de compuestos fenólicos a estos alimentos. Algunos autores sugieren que cuando se encuentran en la matriz alimentaria varios tipos de macromoléculas pueden formarse estructuras más complejas y de mayor tamaño. Si coexisten en el alimento proteínas, carbohidratos y polifenoles (nativos o adicionados), las interacciones que se establecen inevitablemente comprometen la funcionalidad de estas sustancias (Barrett y col., 2018).

Durante la elaboración del pan, la gelatinización de los gránulos de almidón y la desnaturalización de las proteínas dan lugar a la formación de una estructura continua, donde no se distinguen los componentes del almidón de los del gluten. La adición de polvo o de un extracto rico en polifenoles causa la ruptura de esa fase continua. Incluso se han observado huecos o defectos en la estructura que rompen la matriz tridimensional de proteínas y almidón

formada en la masa. Estas interrupciones se cree que ocurren cuando disminuye el entrecruzamiento de los polímeros proteicos y se desestabiliza la red de gluten (Ananingsih y col., 2013; Chai y col., 2013; Sivam y col., 2010).

II.8.1 – Interacciones con las proteínas del gluten

Los compuestos fenólicos pueden interactuar con las proteínas durante el procesamiento de los alimentos en los que se encuentran, e incluso luego de su consumo durante la digestión. Las interacciones pueden ser covalentes y no covalentes, como interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno (Rohn, 2014; Ozdal y col., 2018).

Las interacciones covalentes pueden ocurrir entre compuestos fenólicos simples y un aminoácido específico, entre oligómeros de compuestos fenólicos y un residuo de aminoácido o en la forma de enlaces cruzados entre fenoles y aminoácidos.

Por otro lado, aquellos compuestos fenólicos con alto peso molecular y con numerosos grupos hidroxilos (compuestos que presentan más de un sitio de interacción) poseen la capacidad para actuar como ligandos polidentados en la superficie de las proteínas. La eficiencia para formar enlaces será mayor cuanto mayor sea el grado de polimerización del polifenol. En general, aquellos polifenoles de grado de polimerización mayor a tres ($PM > 1000$) se enlazan favorablemente con las proteínas. Con respecto a la estructura proteica, la abundancia de prolina en las proteínas del gluten hace que el péptido tenga una estructura enrollada, al azar o como hélice. Este ordenamiento le confiere flexibilidad molecular y facilidad para exponer sitios de unión con los polifenoles. En cambio, si fueran globulares o voluminosas se enlazarían pobremente (Griffiths, 1986; Dubeau y col., 2010; Rohn, 2014; Amoako y Awika, 2016b).

La formación de aductos entre las proteínas del gluten y los polifenoles de la yerba mate se ve muy favorecida por la congruencia conformacional entre ambas moléculas (Amoako y Awika, 2016a; Barrett y col., 2018; Ozdal y col., 2018).

La presencia de los compuestos fenólicos puede causar la formación de enlaces cruzados entre las cadenas polipeptídicas, enlaces no covalentes con los residuos de los aminoácidos y la escisión de los enlaces disulfuro presentes en el gluten, formando nuevamente grupos sulfhidrilo. Esta reacción debilita las paredes de los alvéolos de la miga, reduciendo el volumen final del pan y aumentando la firmeza (Ananingsih y col., 2013; Ananingsih y Zhou, 2012).

Sin embargo, los efectos de estas interacciones sobre la estructura del gluten resultan opuestos. Algunos autores sostienen que una dilución del gluten causa el adelgazamiento de la estructura de la miga del pan (Collar y col., 2007; Sivam y col., 2010). Otros autores han registrado un fortalecimiento de la red de gluten originado por los enlaces covalentes cruzados formados entre los polifenoles presentes en extractos de té verde y los residuos de tioles de las proteínas del gluten. Esta estructura aporta estabilidad a la masa y evita el colapso debido a leudados prolongados (Ishii y col., 2008; Ananingsih y col., 2013), reduce la solubilidad de

la proteína y altera su carga neta, modificando su funcionalidad (Rohn, 2014; Rohn y col., 2004).

Estas asociaciones afectan el valor nutricional de las proteínas, porque disminuyen la proporción de residuos de lisina, cisteína y triptófano disponibles. De manera similar, se ha observado que la complejación de los taninos con la proteína mayoritaria del sorgo (llamada kafirina) puede ocasionar la precipitación del polipéptido y afectar la digestibilidad de algunos aminoácidos (Amoako y Awika, 2016a; Ozdal y col., 2018).

El agregado de semillas de lino en polvo en la formulación del pan provocó la aparición de péptidos no digeribles, de mayor peso molecular, que disminuyeron la digestibilidad de las proteínas del pan (Świeca y col., 2018; Sęczyk y col., 2017). Un efecto similar fue hallado en panes con adición de hojas de quinoa en polvo. En los perfiles de elución de picos cromatográficos de los panes fortificados, luego de someterlos a una digestión in vitro, pudo observarse un aumento del área de los picos correspondientes a fracciones de proteínas indigeribles. Además, se ha registrado la disminución del contenido de grupos amino libres, que fueron correlacionados con los porcentajes de adición de polvo. Observaciones similares se han reportado en panificados adicionados con soluciones de compuestos fenólicos puros (Świeca y col., 2014; Koh y Ng, 2009). Se cree que la disminución en la digestibilidad de las proteínas ocurre también gracias a la habilidad de algunos compuestos fenólicos para inhibir la actividad de ciertas proteasas. Este impedimento sería principalmente de naturaleza física, es decir que no se trataría de una inhibición enzimática dado que para modificar la cinética enzimática se requerirían concentraciones muy altas de fenoles (Chai y col., 2013; Świeca y col., 2014; Dunn y col., 2015).

II.8.2 – Interacciones con el almidón

Las asociaciones que se establecen entre los compuestos fenólicos y el almidón son preferentemente puentes de hidrógeno y en menor medida interacciones hidrofóbicas. Estas interacciones están favorecidas particularmente en la amilosa, que gracias a su estructura permite interacciones con los fenoles a gran escala. En la amilopectina, las asociaciones son desfavorables debido al impedimento estérico (Amoako y Awika, 2016a).

La prevalencia de los enlaces de hidrógeno se debe al carácter hidrofílico de los compuestos fenólicos simples. Por otro lado, algunos taninos forman enlaces de tipo puente de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas, pero son demasiado voluminosos. Esto implica que no se podrán formar complejos de inclusión en ninguno de los dos casos.

Los polifenoles pueden encontrarse transitoriamente dentro de la hélice de amilosa al inicio de la interacción e interferir con la asociación de las cadenas de amilosa. Sin embargo, son eventualmente expulsados al exterior de la estructura (Chai y col., 2013; Sharma y col., 1992). Esto explica por qué los compuestos fenólicos actúan mayormente en la superficie de los gránulos de almidón, concentrándose en los poros o cerca de ellos, sitios donde debieran actuar las enzimas hidrolíticas. Los compuestos fenólicos dificultan el acceso de las enzimas

al almidón; cuando el bloqueo se hace masivo, el almidón ve reducida su digestibilidad (Amoako y Awika, 2016a; Juszczak y col., 2003). Se ha observado una marcada disminución en la digestibilidad del almidón en panes conforme se aumentó el porcentaje de adición de quinoa en polvo (Świeca y col., 2014).

La inhibición enzimática no competitiva es mayor cuando se utilizaron varios ácidos fenólicos combinados. En particular, se ha comprobado que el ácido clorogénico y sus isómeros favorecen la reducción del nivel de glucosa postprandial en sangre, a través de la inhibición parcial de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa. Además, la capacidad de inhibición del ácido quínico aumenta con el número de moléculas de ácido cafeico o grupos hidroxilos unidos a él (Kandil y col., 2012; Ishikawa y col., 2007; Iwai y col., 2012; Narita y Inouye, 2014).

Por otro lado, las interacciones entre el almidón y los polifenoles rigidizan las regiones amorfas y reducen la movilidad de las cadenas de amilosa, restringiéndoles el acceso al agua. Se ha comprobado que ciertos extractos vegetales, en presencia de almidón, actúan reduciendo el pH y la fuerza iónica, causando la erosión en las regiones amorfas de los gránulos, afectando significativamente la gelatinización del almidón. La gelatinización del almidón sucede cuando, en condiciones de hidratación, las cadenas de amilosa se ubican entre los gránulos hinchados de amilopectina. La introducción de estos fitoquímicos inhibe la formación de puntos de unión entre las cadenas de amilosa e impide la correcta formación del gel ocasionando defectos en los panificados (Zhu y col., 2009). Sin embargo, los fenoles permanecen enlazados a numerosas moléculas de agua mediante puentes de hidrógeno. En este sentido, se cree que la adición de extractos de plantas con contenidos variados de compuestos fenólicos impide que las cadenas de amilosa y amilopectina se aproximen y formen una estructura más ordenada por medio de interacciones hidrofóbicas. Esto conduce al retraso de la retrogradación y a una mayor vida útil del pan (Amoako y Awika, 2016a; Zhu y col., 2008; Xiao y col., 2011).

Este efecto se ha observado a través de adiciones de polifenoles del té negro y té verde en almidones con diferente contenido de amilosa (Wu y col., 2009; Xiao y col., 2012).

II.9 – Digestibilidad de los compuestos fenólicos

Resulta evidente que las asociaciones entre los fenoles y los componentes presentes en un alimento afectan la disponibilidad de los compuestos fenólicos porque permanecen formando enlaces, o porque no son extraíbles una vez enlazados. Esto posiblemente disminuye la cantidad disponible y la absorbida en el torrente sanguíneo. Esto sucede con las catequinas del té cuando se toma con leche, o con el ácido clorogénico del café cuando se lo prepara con leche (Ozidal y col., 2018).

Luego del consumo de alimentos ricos en ácido clorogénico, se ha determinado que el ácido cafeico es el principal compuesto fenólico que se encuentra en la circulación sanguínea

luego del consumo del alimento, aunque no se sabe con certeza si los isómeros, dímeros o trímeros del ácido clorogénico tienen el mismo destino.

De manera similar, la contribución del consumo del mate a la actividad antioxidante y sus efectos biológicos *in vivo* dependen ampliamente de la biodisponibilidad y el metabolismo de sus polifenoles (Bravo y col., 2007).

Estudios sobre la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos presentes en extractos de yerba mate han demostrado que la absorción de los ésteres de hidroxycinamatos sucede en el intestino delgado, aunque en muy baja proporción con respecto a la gran cantidad que es ingerida durante el consumo del mate. Estos compuestos son hidrolizados por esterasas presentes en las paredes del intestino y son absorbidos preferentemente como ácidos hidroxicinámicos libres. Los ésteres que no han sido absorbidos pasan al intestino grueso, donde son hidrolizados por esterasas de la microbiota colónica (Andreasen y col., 2001).

La existencia de estas dos vías de absorción podría explicar la permanencia prolongada de los polifenoles en el cuerpo y su extensa bioactividad. Se han detectado cantidades importantes de derivados del ácido clorogénico en plasma y orina incluso después de 12 h de haber consumido mate. Sin embargo, la biodisponibilidad de estos compuestos resulta baja, recuperándose en orina los metabolitos correspondientes al 13,4% de los fenoles ingeridos (Gómez Juaristi y col., 2018). Los polifenoles presentes en el café poseen una biodisponibilidad mayor, obteniéndose hasta el 30% de recuperación de los metabolitos de los compuestos fenólicos ingeridos (Rothwell y col., 2018).

Más aún, cuando los compuestos fenólicos se encuentran formando parte de matrices alimentarias más complejas, se ve reducida su disponibilidad para su absorción. En ensayos de digestibilidad *in vitro* de los panes elaborados mediante suplementación con semillas de lino molidas se observó que la porción que se encuentra potencialmente bioaccesible es mucho menor de la esperada, sobre el total de compuestos fenólicos aportados por esta suplementación (Sęczyk y col., 2017).

II.10 – Requisitos reglamentarios nacionales

En Argentina, las características fisicoquímicas del pan se encuentran reguladas por el Código Alimentario Argentino, en su Capítulo IX: *Alimentos farináceos, cereales, harinas y derivados* (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica [ANMAT], 2012a). Los criterios fisicoquímicos que debe reunir la yerba mate se encuentran en el Capítulo XV: *Productos estimulantes o frutivos* (ANMAT, 2012b). Los procedimientos microbiológicos empleados fueron los descriptos en los manuales de *Metodologías Analíticas Oficiales* elaborados de manera conjunta por la ANMAT y la Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos (ANMAT y ReNaLOA, 2013b, 2014).

Capítulo III - CUERPO DEL DESARROLLO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

III.1 – PROPUESTA METODOLÓGICA

Con el objetivo de evaluar el efecto de la adición de un subproducto de la yerba mate en las propiedades del pan blanco, se realizaron ensayos físicos, químicos y texturales en los panes. Se elaboraron los panes con contenidos variables de polvo o extracto acuoso, obtenido con diferentes concentraciones de polvo. En el producto elaborado se determinó el contenido de humedad, se realizaron ensayos físicos, químicos y texturales para determinar las variaciones en los atributos de volumen, porosidad, dureza, elasticidad, masticabilidad y firmeza. Además, se determinaron los parámetros de color en la miga. Los resultados obtenidos permitieron inferir que el agregado de polvo de yerba mate o de sus extractos al pan blanco ocasiona un cambio de coloración del producto. Sin embargo, el pan suplementado conserva los demás atributos físicos característicos del producto. Los ensayos químicos abarcaron las determinaciones de fibra bruta, fenoles, proteínas y cenizas totales. La adición del subproducto de la yerba mate al pan provocó un aumento en el contenido de fenoles totales. Se registraron ligeros incrementos en los contenidos de fibra bruta, proteínas y cenizas totales. La aceptabilidad de las muestras fue evaluada mediante un análisis sensorial afectivo, con consumidores regulares de pan. Las muestras elaboradas con las cantidades menores polvo o extracto tuvieron buena aceptación general.

Los resultados de las determinaciones fueron valorados con herramientas estadísticas. Se realizaron test de múltiples rangos para comparar valores medios y límites de confianza. Los resultados del análisis sensorial fueron evaluados con pruebas no paramétricas.

III.2 – MATERIALES Y MÉTODOS

III.2.1.a – Materias primas y obtención de pan blanco

Los ingredientes empleados en la elaboración de los panes fueron: harina de trigo leudante, agua destilada, aceite de girasol, azúcar, sal fina y levadura seca. Los panes elaborados con estos ingredientes fueron utilizados como control (o pan blanco). Todos los ingredientes fueron obtenidos en mercados locales.

Las cantidades empleadas (véase Tabla III-1) de cada ingrediente fueron determinadas experimentalmente, en base a la receta propuesta por la máquina de hacer pan usada como amasadora.

La harina se pesó en una balanza de tipo comercial de 5 kg de capacidad; el resto de los ingredientes secos fue pesado con una balanza analítica. El agua y el aceite se midieron con probetas de 500 y 10 mL, respectivamente.

Tabla III-1. Ingredientes y cantidades empleadas en la formulación del pan blanco.

Ingrediente	Cantidad
Agua destilada	300 mL
Aceite de girasol	10 mL
Sal fina	4 g
Azúcar	6,3 g
Harina leudante	455 g
Levadura seca	3,8 g

El polvo de hoja de yerba mate fue provisto como una única partida de aproximadamente 10 kg por una empresa yerbatera ubicada en el sur de la provincia de Misiones. El tamaño de partícula osciló entre 200 y 425 μm . El polvo fue utilizado en la elaboración de panes de tipo artesanal de dos maneras: siendo agregado como tal en la elaboración de panes, o preparando una serie de extractos acuosos destinados también a la formulación de panes.

La obtención de los panes se realizó reemplazando los ingredientes en la formulación original de pan blanco conservando las proporciones entre ingredientes, para lograr que la masa se forme adecuadamente. El polvo fue adicionado reemplazando parcialmente a la harina de trigo, mientras que el agua fue sustituida completamente por el extracto.

De esta manera, se lograron dos tipos de productos: panes elaborados con polvo de hoja de yerba mate y panes elaborados con extractos obtenidos del polvo de hoja de yerba mate.

III.2.1.b – Reemplazo parcial de harina por polvo de yerba mate

Para la elaboración de los panes con reemplazo parcial de la harina, se fijaron previamente los porcentajes de reemplazo en base a ensayos previos, considerando las cantidades máximas adicionadas de ingredientes no convencionales en productos panificados disponibles en bibliografía. En otras investigaciones se afirma que un reemplazo superior al 25% del total de la harina por otros componentes sólidos (como polvos de quinoa, coriandro o sorgo) afecta considerablemente la integridad estructural del panificado, la miga se oscurecía mucho y se percibieron sabores inusuales (Díaz y Hernández, 2012; Das y col., 2012; Dunn y col., 2015; Sivam y col., 2010).

Los ensayos preliminares realizados para establecer el porcentaje máximo de reemplazo mostraron que al trabajar con 15% de polvo de yerba mate, la astringencia y el amargor conferidos al pan eran notables y el producto dejó de ser agradable. Por esto, los porcentajes de reemplazo de la harina seleccionados fueron 0,5%, 1,5%, 2,5%, 5% y 10%.

La cantidad de polvo de yerba mate a agregar se calculó sobre la cantidad total de harina requerida (véase Tabla III-2). Luego de pesar el polvo necesario según cada porcentaje, se agregó harina hasta completar los 455 g de la receta del pan blanco.

Tabla III-2. Cantidad de polvo de yerba mate según el porcentaje de reemplazo de harina.

Harina reemplazada (% p/p)	Polvo de yerba mate (g)
0,5	2,275
1,5	6,825
2,5	11,375
5	22,75
10	45,5

III.2.1.c – Obtención de un extracto a partir de polvo de yerba mate para el reemplazo del agua

Para poder cotejar apropiadamente los resultados, fue necesario relacionar la cantidad fija de extracto agregado con los porcentajes de reemplazo establecidos para el polvo. Teniendo en cuenta esto, se prepararon volúmenes iguales de extractos acuosos de diferentes concentraciones, obtenidos a partir de cantidades de polvo equivalentes a la cantidad de harina sustituida. Por ejemplo, para el 10% de reemplazo de harina corresponden 45,5 g de polvo de yerba mate. Se realizó un extracto con la cantidad de polvo en 300 mL de agua (volumen total de agua en la receta original). El extracto así obtenido era referido como *extracto al 10%*. Esto se realizó para cada porcentaje de sustitución, empleando las cantidades de polvo calculadas para cada porcentaje de reemplazo de harina correspondientes a 300 mL de agua (véase Tabla III-2). Debido a que parte del agua es retenida dentro de las partículas del sólido durante la extracción (aproximadamente una tercera parte para una relación sólido:líquido de 10:100), el volumen total de agua empleada fue ligeramente superior a la necesaria, para poder recuperar los 300 mL de extracto. Se realizaron dos extracciones sucesivas del polvo empleando agua destilada como solvente de extracción.

Primera extracción: se colocaron 300 mL de agua destilada y la cantidad de polvo calculada previamente en un Erlenmeyer. Se llevó el recipiente tapado un baño de agua a 70°C, con agitación manual realizada a intervalos regulares de tiempo. Al cabo de 30 min, se retiró el recipiente del baño, se lo dejó reposar hasta alcanzar la temperatura ambiente y se filtró el extracto obtenido con un sistema de vacío.

Segunda extracción: al Erlenmeyer que aún contenía el sólido de la primera extracción se le añadió una cantidad de solvente equivalente a la cantidad de agua que se estimó retenida en el sólido. Luego se repitieron las etapas de extracción y filtración seguidas en la primera extracción.

Luego de la segunda extracción, se mezclaron ambos extractos en un mismo recipiente y se registró el volumen total para cada concentración. Los extractos acuosos obtenidos presentaron color ámbar oscuro de diferente intensidad, sin la presencia de sedimentos y con

el aroma característico de la infusión de yerba mate. Luego fueron acondicionados en recipientes de cierre hermético y conservados en freezer hasta su empleo en la elaboración de los panes.

III.2.1.d – Procedimiento de obtención de los panes con reemplazo de ingredientes

Para la fabricación de los panes se utilizó una máquina para hacer pan (marca *Peabody*) de 1,4 kg de capacidad. El manual del equipo indica que deben introducirse todos los ingredientes a la vez y luego seleccionar el programa deseado según el tipo de panificado que se desea obtener. Una vez dentro del electrodoméstico, los ingredientes se mezclan, se forma la masa, leuda y se hornea en el mismo recinto, constituido por una batea. La mezcla y el amasado se realizan gracias a dos paletas que permanecen dentro de la máquina durante todo el programa. Cuando éste último se completa, se retira el pan, listo para consumir.

A pesar de que la intención preliminar fue emplear la máquina para realizar todo el proceso, se observó que los panes leudaban en forma deficiente y presentaban hundimientos en su superficie. Además, se presentaba el inconveniente inevitable de que las paletas no podían ser retiradas del interior de la batea sin interrumpir el programa. En consecuencia, el pan se horneaba con las paletas en su base y al ser removidas del pan horneado dejaban huecos en la base de la hogaza, ocasionando deformaciones en la miga. Dados los inconvenientes mencionados se optó por utilizar la máquina de hacer pan para las etapas de mezcla y amasado; las fases de leudado y horneado se realizaron en estufas de laboratorio.

Los ingredientes se introdujeron en la batea de la máquina en el siguiente orden: agua, aceite, sal, azúcar, harina y levadura. El agua fue calentada previamente hasta una temperatura de 35°C.

En los panes elaborados con polvo de yerba mate, se mezclaron previamente la harina y el polvo necesarios antes de incorporarlos a la batea. En los panes elaborados con extracto, se agregaron 300 mL del extracto correspondiente a 35°C en reemplazo del agua.

Se eligió uno de los programas de amasado, recomendados en el manual de uso del electrodoméstico para la obtención de pan francés, de 30 min de duración. Durante los primeros 2 min se realizó un premezclado, seguidos de 28 min de mezclado rápido con intervalos de reposo de 30 s. Al cabo de este tiempo, se retiró la masa de la batea y se continuó con el amasado manual durante unos minutos hasta lograr una masa homogénea y no pegajosa, que pudiera ser manipulada con facilidad. Luego se la dividió en tres partes iguales, registrando el peso de cada porción. Cada una de las porciones fue nuevamente amasada hasta darle la forma deseada, de modo que llenara tres cuartas partes del molde. Luego se las introdujo en moldes de papel de 13,5 cm de largo, usados habitualmente para elaborar budines.

El leudado de la masa se realizó en una estufa de laboratorio, a 35°C. Se colocaron a la vez las tres masas dentro de la estufa. Luego de una hora las masas habían desarrollado el volumen máximo; en ese momento fueron retiradas de la estufa y colocadas en otra estufa a

160°C donde se realizó el horneado. Al cabo de una hora, se retiraron los panes de la estufa, se dejaron enfriar sobre la mesada hasta temperatura ambiente. Luego se desmoldaron y pesaron.

III.2.2 – Propiedades químicas

III.2.2.a – Contenido de humedad

El contenido de humedad de los panes recién elaborados (pan control, panes elaborados con reemplazo de harina y panes elaborados con reemplazo del agua) se determinó por pérdida de masa (Nollet, 2004; Nielsen, 2010).

Luego de alcanzar la temperatura ambiente los panes fueron rebanados, descartando los extremos. Cada rebanada fue dividida en cuartos, se tomaron dos cuartos opuestos de cada una y se mezclaron los trozos obtenidos de un mismo pan. Se pesaron 5 g de cada muestra en pesafiltros previamente tarados. A continuación, se colocaron los pesafiltros en estufa a 60°C hasta peso constante, por 24 h. Se optó esa temperatura de ensayo para evitar la descomposición térmica de ciertos compuestos o la pérdida de volátiles (Zain y col., 2017).

El resto del pan rebanado y cuarteado se distribuyó en recipientes plásticos de 100 mL de capacidad y se secó en estufa siguiendo el mismo procedimiento. Luego de finalizar el proceso de secado, las muestras se molieron manualmente y se conservaron en frascos de cierre hermético a -18°C hasta su uso. Las muestras almacenadas fueron destinadas a la determinación de compuestos fenólicos, cenizas, fibra dietaria y proteínas.

III.2.2.b – Extracción y determinación del contenido de compuestos fenólicos

Proceso de extracción

Previo al proceso de cuantificación fue necesario realizar la extracción de los fenoles de la matriz del alimento o del material vegetal. Los ácidos fenólicos libres y sus glicósidos se extraen generalmente con soluciones acuosas de etanol, metanol o acetona de diferentes concentraciones, aunque es necesario realizar la extracción varias veces para obtener resultados satisfactorios (Nollet, 2004; Bravo y col., 2007). Se ha visto también que los solventes polares extraen más eficientemente los compuestos fenólicos de la yerba mate. El agua acidificada ha resultado ser el solvente con menor porcentaje de extracción de fenoles (Gullón y col., 2018; Cutrim y Cortez, 2018).

La extracción de los compuestos fenólicos en productos similares al pan se realiza con solventes variados como agua, etanol, metanol y acetona. Teniendo en cuenta esto, se realizaron extracciones de los compuestos fenólicos de las muestras de pan con diferentes sistemas de solventes y luego se evaluó el rendimiento de cada una.

La elección de los solventes y de las concentraciones a ensayar se realizó en base a la información bibliográfica y a experiencias previas, utilizando las soluciones comúnmente

empleadas para extraer compuestos fenólicos de yerba mate, té y productos panificados (Sęczyk y col., 2017; González Coria y Horiński, 2018; Gullón y col., 2018).

Se emplearon los solventes agua, etanol, metanol y mezclas de etanol-agua y metanol-agua al 30%, 50% y 70%, totalizando nueve soluciones.

Para los ensayos se seleccionaron las muestras de panes elaborados con 5% de polvo de hoja de yerba mate y con extracto al 5%. Se realizaron dos extracciones sucesivas con cada solvente.

Primera extracción: se pesaron 0,5 g de muestra seca y se colocaron en un frasco ámbar de 50 mL de capacidad, se añadieron 10 mL del solvente y se colocó el frasco en un baño de agua a 70°C, con agitación manual a períodos de tiempo regulares. Al cabo de 30 min, se retiraron los frascos del baño y se dejaron enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente.

Una vez que los frascos con las muestras estuvieron fríos, se filtró cuidadosamente el extracto obtenido, colectando el líquido en un segundo recipiente y manteniendo el sólido en el frasco original.

Segunda extracción: se añadieron 10 mL del mismo solvente al frasco que contenía el sólido y se repitieron las etapas de extracción y filtración. El segundo filtrado fue colectado en el mismo recipiente que contenía al extracto de la primera extracción.

El filtrado obtenido de ambas etapas se trasvasó a un matraz de 25 mL y se llevó a volumen con agua destilada.

La selección del solvente de extracción a emplear en las demás muestras de pan se realizó en base a los resultados del contenido de fenoles totales de cada extracto obtenido.

Quantificación del contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales presentes en los extractos de las muestras de pan, obtenidos con diferentes sistemas de solventes, fue determinado utilizando el reactivo de Folin Ciocalteu. Este reactivo consiste en una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra.

El ácido fosfomolibdotúngstico (con W^{+6} y Mo^{+6} , formado por las dos sales en el medio ácido) le confiere el color amarillo al reactivo. La reacción se lleva a cabo en condiciones básicas (pH 10) para generar iones fenolato que reducen al reactivo de Folin Ciocalteu. Se forma entonces un complejo de W^{+5} y Mo^{+5} de color azul, cuya absorbancia se mide a una longitud de onda de 760 nm.

El reactivo de Folin Ciocalteu no mide solamente compuestos fenólicos, sino que puede reaccionar con cualquier sustancia reductora, es decir que mide la capacidad reductora de la muestra. Los compuestos que tengan estructuras reductoras reaccionarán con el reactivo de Folin Ciocalteu, causando una sobreestimación del contenido total de fenoles. Los subproductos de las reacciones de Maillard como melanoidinas o reductonas, la oxidación de polifenoles o las reacciones de caramelización también pueden dar positiva la reacción de Folin Ciocalteu y contribuir a aumentar la capacidad antioxidante del producto (Samaras y col.,

2005). Además, intervendrán en la determinación los compuestos fenólicos que posee el pan. Su contenido está asociado al ácido ferúlico como compuesto fenólico mayoritario en el grano de trigo (Boz, 2015; Rybka y col., 1993). Se encuentra naturalmente presente en la harina de trigo junto a aminoácidos y pequeños péptidos formados a partir de la proteólisis ocurrida durante la fermentación del pan.

Para la cuantificación, se tomaron 400 μL de cada extracto, se colocaron en frascos al abrigo de la luz y se añadieron 2 mL de reactivo de Folin Ciocalteu al 10%. Luego de 5 minutos, se adicionaron 1,6 mL de carbonato de sodio al 7,5%. La solución resultante fue homogeneizada manualmente durante unos segundos. Al cabo de una hora, se registró la absorbancia de la solución a 760 nm. Se empleó un espectrofotómetro UV-Vis *Shimadzu serie UV 2550*.

El blanco de reactivos se preparó reemplazando el volumen de extracto por agua destilada.

Para eliminar el efecto de la opalescencia observada en algunos los extractos sobre el valor de la absorbancia en la cuantificación de los fenoles totales de las muestras, se optó por realizar un blanco adicional para cada extracto, llamado *blanco de muestra*. Este blanco se preparó reemplazando el volumen del reactivo de Folin Ciocalteu por agua destilada. Seguidamente se determinó su absorbancia a la misma longitud de onda y el valor obtenido se restó a cada valor de la absorbancia leído luego de la reacción con el reactivo de Folin Ciocalteu.

La calibración se realizó mediante el método del patrón externo, empleando ácido gálico como estándar. Se prepararon soluciones en un rango de concentraciones entre 20 $\mu\text{g/mL}$ y 120 $\mu\text{g/mL}$. Los resultados se informaron como mg de ácido gálico por g de sólido seco.

III.2.2.c – Contenido de cenizas

El contenido de cenizas de un alimento hace referencia al residuo inorgánico que permanece luego de la incineración completa de sus componentes orgánicos a temperaturas altas (cercasas a los 600°C). En el proceso se evaporan el agua y los componentes volátiles; los compuestos orgánicos se queman en presencia del oxígeno del aire hasta formar dióxido de carbono y óxidos de nitrógeno. La mayoría de los minerales se convierten en óxidos, sulfatos, fosfatos, cloruros y silicatos (Bradley, 2010; Park y Bell, 2004). Es por esto que el contenido de cenizas es una estimación del contenido total de minerales que contiene un alimento.

Para realizar esta determinación se pesaron exactamente 5 g de muestra seca y se colocaron en un crisol de porcelana previamente tarado. Los crisoles con sus tapas se colocaron en una mufla (*Hornos eléctricos O.R.L.*), a 550°C durante 5 horas hasta obtener cenizas blancas. En algunos casos, las cenizas resultantes se presentaron oscuras, indicando una combustión incompleta, por lo que fue necesario disgregarlas con unos mililitros de agua destilada. Luego los crisoles se colocaron abiertos en estufa a 80°C durante 24 h para

evaporar el agua añadida. La temperatura de secado escogida no fue severa para evitar pérdidas del material. A continuación, se colocaron nuevamente los crisoles en la mufla a 550°C durante 5 h.

El contenido de cenizas de las muestras se calculó de acuerdo con la norma IRAM 20505 (Instituto Argentino de Normalización y Certificación, 1995).

III.2.2.d – Contenido de fibra dietaria

Existe una continua discusión acerca de qué constituye la fibra dietaria, tanto en organismos nacionales como internacionales. La Asociación Americana de Cereales y Granos (*American Association of Cereal Chemists, o AACC*) adoptó en 2001 la siguiente definición de fibra dietaria: partes comestibles de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano, con fermentación total o parcial en el intestino grueso. Incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y otros componentes vegetales asociados.

El Código Alimentario Argentino, en su capítulo XVII, artículo 1385 (ANMAT, 2012c) habla de fibra alimentaria y la define como cualquier material comestible que no sea hidrolizado por las enzimas endógenas del tracto digestivo humano. Incluye polisacáridos no amiláceos, pectinas, almidón resistente, inulina, oligofructosa, polidextrosa, maltodextrinas resistentes, fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), transgalactooligosacáridos (TOS), y todos los que en el futuro incorpore la Autoridad Sanitaria Nacional.

Se empleó el método enzimático-gravimétrico, siguiendo la norma AOAC 985-29 (Association of Official Agricultural Chemists, 1998). Fue desarrollado originalmente para medir polisacáridos, lignina y sustancias asociadas que son resistentes a la digestión debida a enzimas presentes en humanos.

En una primera etapa, el almidón y las proteínas fueron removidos tratando la muestra de manera secuencial con las enzimas termoestables α -amilasa, proteasa y finalmente amiloglucosidasa. El residuo se recuperó, se lavó con etanol y acetona y se filtró sobre celite. Se secó el residuo contenido en el filtro en estufa de aire a 105°C y se pesó. A una de las réplicas se le realizó la determinación de proteínas mediante el método de Kjeldahl y la réplica restante fue incinerada para la determinación del contenido de cenizas. Para obtener la fibra dietaria total (soluble e insoluble) de la muestra, se restaron los pesos de las proteínas y cenizas al peso del residuo (Nollet, 2004; Nielsen, 2010; Ortega y col., 2008).

Cabe aclarar que la fibra dietaria total medida por este método se refiere a la suma del contenido de fibras dietarias soluble e insoluble del alimento. La solubilidad de la fibra está referida a soluciones de etanol al 80%; los carbohidratos no digeribles son insolubles y por lo tanto precipitan en dicha solución. Sin embargo, este paso en la determinación de fibra es arbitrario y no siempre se logra una precipitación completa. Asimismo, la medición de las fracciones soluble e insoluble depende en gran medida del método. FAO/OMS llegó la conclusión de que no había ninguna justificación fisiológica para registrar por separado

valores basados en la solubilidad (Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, 1997; Greenfield y Southgate, 2003). Por estas razones, en muchos casos se informa solamente el contenido total de fibra dietaria.

La determinación del contenido de fibra dietaria de las muestras de pan se realizó sobre muestras secas y molidas. Los resultados son expresados como porcentaje de fibra dietaria total, en base seca (g de fibra dietaria total cada 100 g de sólido seco).

III.2.2.e – Contenido de proteínas

El contenido de proteínas de las muestras de pan se determinó mediante el método de Kjeldahl. Se trata de un método de referencia, ampliamente aceptado desde su introducción en el año 1883 por Johann Kjeldahl. Consta de tres etapas:

Digestión: consiste en la descomposición de la materia orgánica por calentamiento, en presencia de ácido sulfúrico concentrado y catalizadores (para elevar el punto de ebullición, alcanzándose temperaturas de 300 - 400°C durante la digestión). Se obtiene una solución de sulfato de amonio.

Neutralización y Destilación: la solución se diluye en agua y se le añade un exceso de base (solución concentrada de hidróxido de sodio). El ion amonio se convierte en amoníaco gaseoso, y se recoge en un recipiente colector que contiene un volumen conocido de una solución estándar de ácido bórico e indicadores ácido-base (azul de metileno y rojo de metilo, o indicador Mortimer).

Valoración: el ion borato formado (proporcional a la cantidad de nitrógeno presente) se titula con solución valorada de ácido clorhídrico o sulfúrico (Bradley, 2010; Park y Bell, 2004).

El contenido en proteína de la muestra se calcula teniendo en cuenta el contenido medio en nitrógeno de la proteína en cuestión (se utilizó un factor igual a 6,25 en este caso). La presencia de compuestos nitrogenados no proteicos (aminas, cafeína, urea, nitrógeno inorgánico) ocasiona la sobreestimación del contenido de proteínas medido con este método (Greenfield y Southgate, 2003).

Se ha discutido sobre esa sobreestimación en alimentos que poseen cantidades apreciables de compuestos nitrogenados no proteicos. Algunos autores han sugerido utilizar factores de corrección menores a los tabulados, en especial para alimentos ricos en nitrógeno no amínico y no proteico como algunos peces cartilaginosos, moluscos y crustáceos, ciertas hortalizas y, sobre todo, la leche materna humana, que contiene una concentración sustancial de urea. También se han perfeccionado varios métodos directos, basados en reacciones en las que intervienen grupos funcionales específicos de los aminoácidos presentes. No obstante, la mayor parte de estos métodos depende de la calibración frente al método de Kjeldahl (Sosulski y Imafidon, 1990; Greenfield y Southgate, 2003).

El contenido de proteínas se determinó sobre muestras de pan secas y molidas. Los resultados son expresados como porcentaje de proteína total, en base seca (g de proteínas cada 100 g de sólido seco).

III.2.3 – Propiedades físicas

Las propiedades físicas que se describen a continuación se realizaron sobre los panes recién elaborados, enteros o rebanados, según corresponda. Antes de la realización de las determinaciones, los panes se dejaron reposar hasta que alcanzaron la temperatura ambiente.

III.2.3.a – Parámetros de color

La medición del color de la miga de los panes se realizó empleando el sistema CIELab (*International Commission of Illumination*). Se determinaron los parámetros L* (luminosidad, de 0 para negro a 100 para blanco), a* (rojo para valores positivos; verde para valores negativos) y b* (amarillo para valores positivos; azul para valores negativos).

Se utilizó un instrumento *Technydine Color Touch modelo ISO* con las siguientes especificaciones:

- Fuente de iluminación: lámpara halógena (QTH), de tipo incandescente.
- Iluminante: D65, representa la luz de día promedio e incluye el rango de longitudes de onda del ultravioleta.
- Ángulo observador: 10°, comúnmente empleado ya que correlaciona mejor con las observaciones visuales hechas con un campo de visión más amplio.

El instrumento fue previamente calibrado con un papel blanco estándar. La medición del color de los panes se realizó en la miga y no en la corteza debido a que los productos de las reacciones de Maillard y de caramelización contribuyen en gran medida al color de la corteza de los panes, mientras que las variaciones del color de la miga puede suponerse que son ocasionadas por el polvo de hojas agregado (Das y col., 2012; Gómez y col., 2003).

Se tomaron dos rebanadas de pan por hogaza y se realizó una determinación de color por cada lado y para cada rebanada en el centro. Se colocó una lámina de polipropileno transparente entre la rebanada de pan y la abertura para medición del instrumento para evitar el desprendimiento de migas durante la medición.

III.2.3.b – Volumen específico

La determinación del volumen específico de los panes se realizó mediante el método denominado de *Desplazamiento de Semillas* que consiste en la medición del volumen de las semillas desplazadas por el espacio ocupado por el pan en un recinto de volumen conocido

(Cauvain, 2015). En la medición se emplearon semillas de mijo, aunque pueden usarse semillas de colza, mostaza u otras (Sęczyk y col., 2017; Ribotta y col., 2001; Abdul Hamid y Luan, 2000).

En la Figura III-1 (a y b) se observa el dispositivo medidor del volumen, compuesto por una cuba de vidrio y semillas de mijo. El recipiente fue llenado con las semillas de mijo al máximo de su capacidad y luego se determinó el peso de las semillas. Por otro lado, se determinó el volumen de la cuba midiendo la cantidad de agua que es capaz de albergar. El peso de las semillas de mijo fue 3,36 kg y el volumen de la cuba fue 4,54 L.

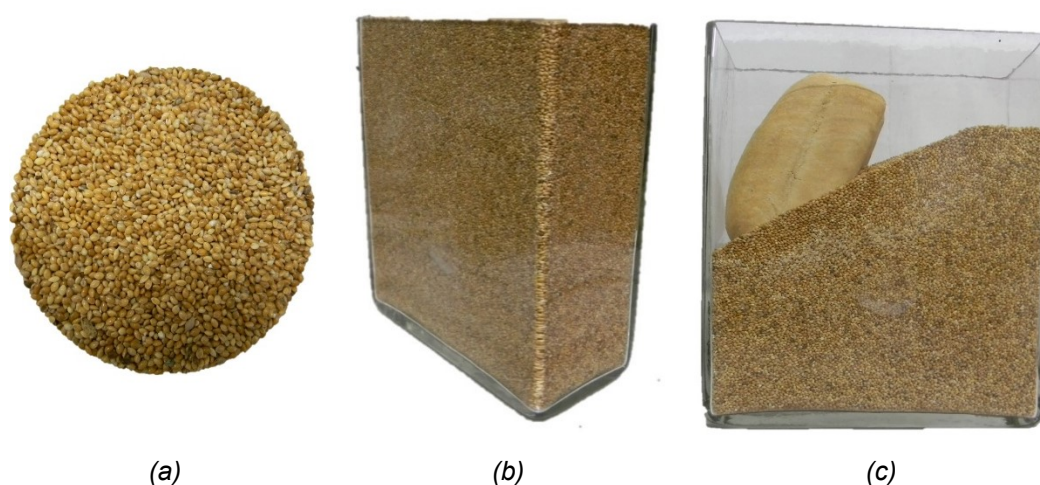


Figura III-1. Semillas de mijo (a), cuba de vidrio llena de semillas de mijo (b) y cuba de vidrio conteniendo el pan dentro y parcialmente cargada con semillas de mijo (c).

Seguidamente, se vació la cuba y se introdujo el pan dentro de ella (véase Figura III-1 c). Se rellenó el espacio libre con las semillas de mijo, hasta llenar la cuba. Se pesaron las semillas que no entraron en la cuba (del total de 3,36 kg) y a continuación se calculó el volumen específico del pan con la siguiente ecuación:

$$\text{Volumen específico, cm}^3/\text{g} = \frac{\text{peso del mijo desalojado} \times \text{volumen de la cuba}}{\text{peso del mijo (cuba llena)} \times \text{peso del pan}}$$

III.2.3.c – Parámetros de textura

El análisis del perfil de textura (*Texture Profile Analysis*, o *TPA*) ha sido creado para imitar lo que sucede en la boca al masticar el alimento, analizar el comportamiento del alimento cuando es manipulado y predecir la percepción acerca de su textura. Consiste en dos compresiones sucesivas sobre el alimento, con el objetivo de simular el proceso de masticación humana. El ensayo de textura de los panes se realizó mediante un texturómetro o analizador de textura *TA.XT Plus* (*Stable Micro Systems*), exhibido en la Figura III-2.



Figura III-2. Analizador de textura y posición del émbolo sobre dos rebanadas superpuestas.

Los resultados del análisis proporcionan un gráfico de fuerza vs. tiempo, como el que se observa en la Figura III-3. A partir del análisis del gráfico surgen los parámetros que se detallan a continuación (Nishinari y col., 2013; Trinh y Glasgow, 2012; Rathnayake y col., 2018):

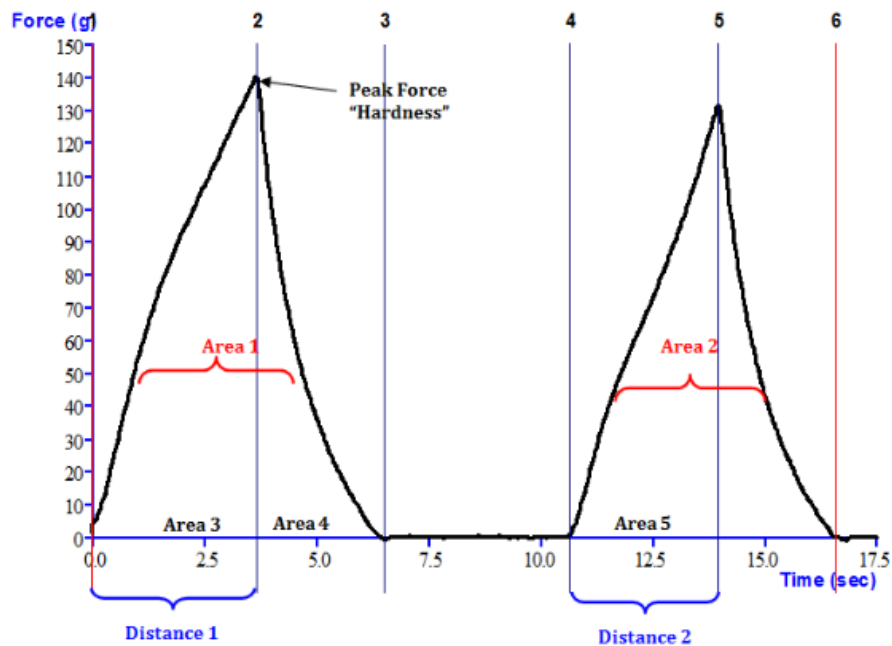
Dureza (N): se define como la fuerza necesaria para morder el alimento y se cuantifica en el pico de la curva obtenida en la primera compresión.

Elasticidad: se expresa como un porcentaje de la altura original de la muestra, o como un cociente. Describe la habilidad del producto para recuperar su forma luego de haber sido deformado por primera vez, dejándolo reposar unos segundos entre las dos compresiones. Se determina como el cociente entre la altura detectada del producto durante la segunda compresión y la distancia original de compresión (distancia 2 / distancia 1). Si se emplean tiempos de reposo excesivos se le permite a la muestra recuperarse más de lo que podría en otras condiciones. Por ejemplo, un consumidor no esperaría 60 s para masticar otra vez.

Cohesividad: describe cuánto soporta la muestra una segunda deformación, relacionada a su resistencia tras la primera deformación (área 2 / área 1). Una rebanada de pan es cohesiva cuando puede soportar el desgarro al untar manteca sobre él. Es la capacidad de mantener su integridad física cuando se lo somete a fuerzas de tensión o compresión.

Masticabilidad (N): se aplica solamente a productos sólidos, y se calcula como el producto de dureza, elasticidad y cohesividad. Indica la energía requerida para masticar un alimento sólido hasta alcanzar el estado de deglución, o cuánto tiempo lleva.

Resiliencia: indica cuán capaz es el producto de mantener su altura original. Se mide cuando se retrae el émbolo luego de la primera deformación y antes del tiempo de espera para el segundo ciclo (área 4 / área 3). Puede confundirse con elasticidad, pero no son lo mismo; la elasticidad implica recuperar la altura, mientras que la resiliencia indica la energía ejercida para recuperar la forma.



Fuente: texturetechnologies.com

Figura III-3. Gráfico ilustrativo obtenido en el ensayo de TPA.

Firmeza (N): se refiere a la fuerza necesaria para comprimir al alimento una distancia predeterminada. Es otro parámetro que puede ser medido con el mismo instrumento pero que no forma parte del ensayo de TPA. En cambio, se realiza siguiendo la norma AACC 74-09 (AACC, 1999), la cual es específica para panificados.

Las determinaciones de firmeza y análisis del perfil de textura (TPA) se efectuaron sobre el pan recién elaborado, que fue previamente cortado en rebanadas de 12,5 mm de espesor.

La prueba de TPA consta de dos ciclos de compresión uniaxial, llevados a cabo con una sonda cilíndrica de 36 mm de diámetro hasta el 50% de su altura, con una velocidad de descenso de 4 mm/s y 2 segundos de reposo entre ciclos. En cada ensayo se utilizaron dos rebanadas de pan. La compresión se realizó sobre dos círculos de miga superpuestos y del mismo tamaño que la sonda (36 mm de diámetro), obtenidos del centro de cada rebanada.

El ensayo de firmeza se realizó siguiendo la norma AACC 74-09 (AACC, 1999), sobre dos rebanadas de 12,5 mm de espesor, enteras y superpuestas. Consistió en una sola compresión uniaxial con 40% de deformación realizada en el centro de las rebanadas.

III.2.3.d – Porosidad de la miga

La porosidad de la miga se define como la fracción de huecos o espacios vacíos de un determinado volumen. Se determina sobre una superficie plana de pan (una rebanada) y se calcula como el cociente entre las sumas de las áreas de las celdas o alvéolos de la miga y el área total de la rebanada (Rathnayake y col., 2018).

La determinación de la porosidad se realizó mediante análisis de imágenes, con el programa *Image J* (National Institutes of Health, USA, 2018), un software de procesamiento de imagen digital de dominio público. Es utilizado con diversos tipos de imágenes, como células en 3D, imágenes radiológicas, metalográficas, etc. Se encuentra disponible para su descarga gratuita en <http://rsb.info.nih.gov/ij/> o en <https://imagej.net/>.

Se partió de una imagen en colores de cada muestra, tomada con una cámara fotográfica *Nikon D90*. Una sección de la imagen fue transformada en una imagen en escala de grises y luego se fijaron manualmente los umbrales para transformarla en una imagen binaria en 8 bits. La Figura III-4 muestra el procesamiento de las imágenes. La imagen binaria tiene sólo dos niveles (dados en píxeles): 0 para las áreas vacías (se observan de color blanco y corresponden a los alvéolos o huecos) y 255 para las áreas llenas (se observan de color negro y corresponden a la miga del pan).

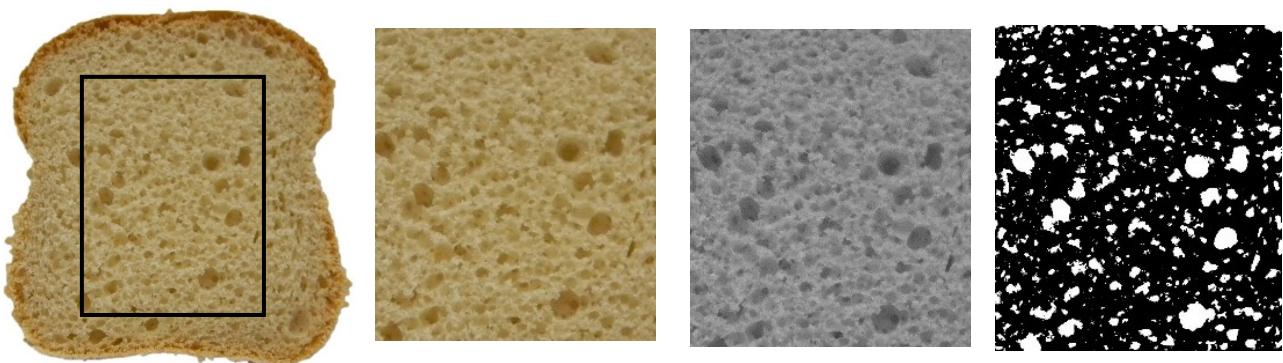


Figura III-4. Conversión de la imagen seleccionada en la rebanada de pan a una imagen binaria.

El programa determinó la porosidad de cada imagen midiendo la cantidad de píxeles de los poros y lo tradujo a porcentaje de área que ocupan sobre la imagen. Debido a que la distribución de las burbujas no es uniforme en todo el volumen de la miga del pan, se realizaron determinaciones de porosidad en 6 rebanadas de cada hogaza.

III.2.4 – Análisis sensorial

Se realizaron ensayos sensoriales afectivos, que permitieron medir la respuesta de los consumidores ante los cambios introducidos en los panes. Este tipo de ensayos obliga a los

panelistas a elegir una muestra sobre otra, de acuerdo a un determinado atributo. Para este producto se eligieron los atributos de color y sabor.

Se realizó un ensayo sensorial de preferencia general de los panes frescos, con no más de 24 h desde su elaboración. El objetivo de la prueba fue establecer las concentraciones de polvo y extracto añadidas a los panes que son preferidas por los consumidores. A partir de esta prueba no puede inferirse si los productos resultaron agradables o no, simplemente se conocerá el orden de preferencia de las muestras (Meilgaard y col., 2016).

Estas pruebas se realizan con consumidores habituales de pan blanco. En este caso participaron estudiantes de segundo y tercer año de las carreras de la FCEQyN y parte del personal estable, formando un grupo de jueces con edades comprendidas entre 20 y 57 años. Se realizaron dos sesiones con 74 y 75 panelistas respectivamente, una para cada tipo de pan, con espacio de una semana entre una sesión y otra. El pan blanco fue incluido en ambos ensayos.

Las hogazas de pan fueron rebanadas y luego cada rebanada fue cortada en cuadrados de 2 cm de lado. Las piezas de pan obtenidas fueron las muestras de este ensayo. En cada sesión, los panelistas recibieron seis muestras sobre una bandeja pequeña de poliestireno: cinco correspondientes a las concentraciones de polvo o extracto, más el control. Las muestras fueron codificadas con números aleatorios de tres dígitos, con un orden de presentación al azar. En la Figura III-5 se muestra la disposición de las muestras en la bandeja. Además, se les entregó una planilla, como se muestra en la Figura III-6 junto a las instrucciones para realizar la degustación. Los panelistas tuvieron a su disposición agua y galletitas saladas para utilizar como neutralizantes entre muestras.

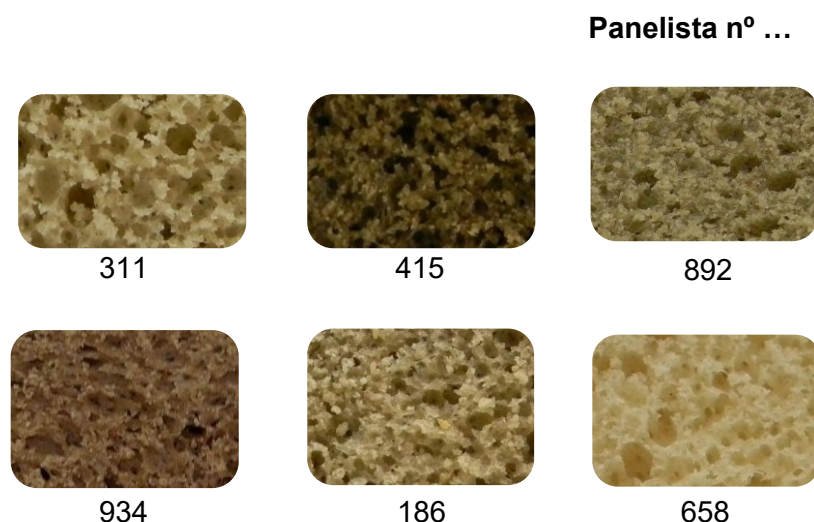


Figura III-5. Bandeja con muestras para los ensayos de preferencia.

Tabla III-3. Criterios microbiológicos obligatorios para la harina de trigo.

Parámetro	Criterio de aceptación	Metodología ⁽¹⁾
Recuento de aerobios mesófilos (UFC/g)	n=5, c=2, m=10 ⁵ , M= 10 ⁶	ISO 4833: 2003 BAM-FDA: 2001, capítulo 3 ICMSF
Recuento de hongos y levaduras (UFC/g)	n=5, c=2, m=3.10 ³ , M=10 ⁴	ISO 21527-2:2008 BAM-FDA: 2001, capítulo 18 APHA: 2001
Recuento de coliformes (UFC/g)	n=5, c=2, m=10 ² , M=10 ³	ISO 4832:2006 ICMSF (método 4) BAM-FDA: 2001 (capítulo 4 método I. G.)
Recuento de presuntos <i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)	n=5, c=1, m=10 ³ , M=10 ⁴	ISO 7932:2004

(1) o su versión más actualizada. Fuente: Código Alimentario Argentino.

Referencias: **n:** número de muestras que deben analizarse; **c:** número máximo de muestras para aceptar el lote, que puede contener un número de microorganismos comprendido entre **m** y **M**; **m:** valor límite hasta el cual se puede admitir el lote; **M:** valor máximo por encima del cual se rechaza el lote.

III.2.6 – Análisis estadístico

III.2.6.a – Determinaciones físicas y químicas

El análisis estadístico de los datos de los ensayos fisicoquímicos y texturales se realizó con el programa *Statgraphics Centurion XV.II* (Statpoint Technologies, Inc., 2009). Los resultados fueron evaluados mediante un análisis de la varianza de una vía (ANOVA) considerando el porcentaje de reemplazo de harina o agua como factor. El test de comparaciones múltiples de LSD de Fischer y las pruebas de múltiples rangos se realizaron con un nivel de significación del 5%. Se analizaron por separado los panes elaborados con polvo de yerba mate y los formulados con extractos acuosos del polvo.

Las determinaciones de los parámetros físicos y químicos (color, porosidad, humedad, proteínas, fibra, cenizas) se realizaron por triplicado y en las determinaciones del análisis instrumental de textura se realizaron ocho réplicas.

III.2.6.b – Análisis sensorial

Cuando no se puede suponer normalidad en los resultados del análisis sensorial, se recomienda utilizar un análisis estadístico no paramétrico. En este caso se aplicó el test de Friedman, equivalente al análisis de la varianza, utilizado para ensayos de ordenamiento. La fórmula del estadístico F de Friedman es la siguiente (ecuación 14.14 de Meilgaard y col., 2016):

$$F = \frac{12}{N \cdot k \cdot (k + 1)} \cdot (R_1^2 + R_2^2 + \dots + R_k^2) - 3 \cdot N \cdot (k + 1)$$

Donde N es el número de panelistas, k es el número de muestras y R_1, R_2, \dots , son las sumatorias de los ordenamientos de cada muestra. Las hipótesis de esta prueba son:

Hipótesis nula:

$H_0 =$ no existen diferencias significativas en el ordenamiento de las muestras.

Hipótesis alternativa:

$H_1 =$ existen diferencias significativas en el ordenamiento de las muestras.

El estadístico F calculado debe compararse con el estadístico X^2 para $\alpha = 0,05$ y $k-1$ grados de libertad (Tabla 19.5 de Meilgaard y col., 2016). Si el valor de F calculado excede el valor de X^2 , se rechaza la hipótesis nula de no diferencia. Si esto sucede, debe realizarse a continuación un test de comparaciones múltiples para saber qué muestras difieren significativamente y cuáles son estadísticamente iguales.

Se empleó el test LSD (*least significant difference*) de Fischer modificado para ordenamientos, cuya ecuación es la siguiente (ecuación 14.15 de Meilgaard y col., 2016):

$$LSD_{\text{ordenamientos}} = z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{N \cdot k \cdot (k + 1)}{6}}$$

Donde N es el número de panelistas y k es el número de muestras. Para dos muestras A y B, las hipótesis de esta prueba son:

Hipótesis nula:

$H_0 =$ no existen diferencias significativas entre las muestras A y B.

Hipótesis alternativa:

$H_1 =$ existen diferencias significativas entre las muestras A y B.

El valor calculado de LSD debe compararse con el valor absoluto de la diferencia de los R de ambas muestras. Si ese valor excede a $LSD_{\text{ordenamientos}}$, se rechaza la hipótesis nula y las muestras A y B son significativamente diferentes. Como se trata de ordenamientos, esto implica que el orden dado a las muestras (por ejemplo, B es preferida sobre A) es debido a diferencias percibidas por los consumidores según el atributo considerado, es decir que no son producto del azar.

Las pruebas estadísticas mencionadas deben realizarse separadamente, tanto para los atributos sensoriales en cuestión (color y sabor) como para ambos tipos de muestra (panes elaborados con polvo de yerba mate y panes formulados con extracto).

III.3 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.3.2 – Descripción del pan control y de los panes formulados

Los panes elaborados con subproductos de la yerba mate se hornearon de manera pareja, sin hundimientos visibles, corteza crujiente y miga uniforme. El pan control también tuvo un buen aspecto general. A diferencia de los panes con reemplazo de ingredientes, presentó una corteza superior dorada, característica del pan blanco. El peso promedio fue $217 \pm 2,8$ g por hogaza.

En la Figura III-7 puede verse el pan blanco y en la Figura III-8 se muestran los panes elaborados con polvo de yerba mate y con sus extractos acuosos.



Figura III-7. Pan blanco (control) desmoldado y rebanado.

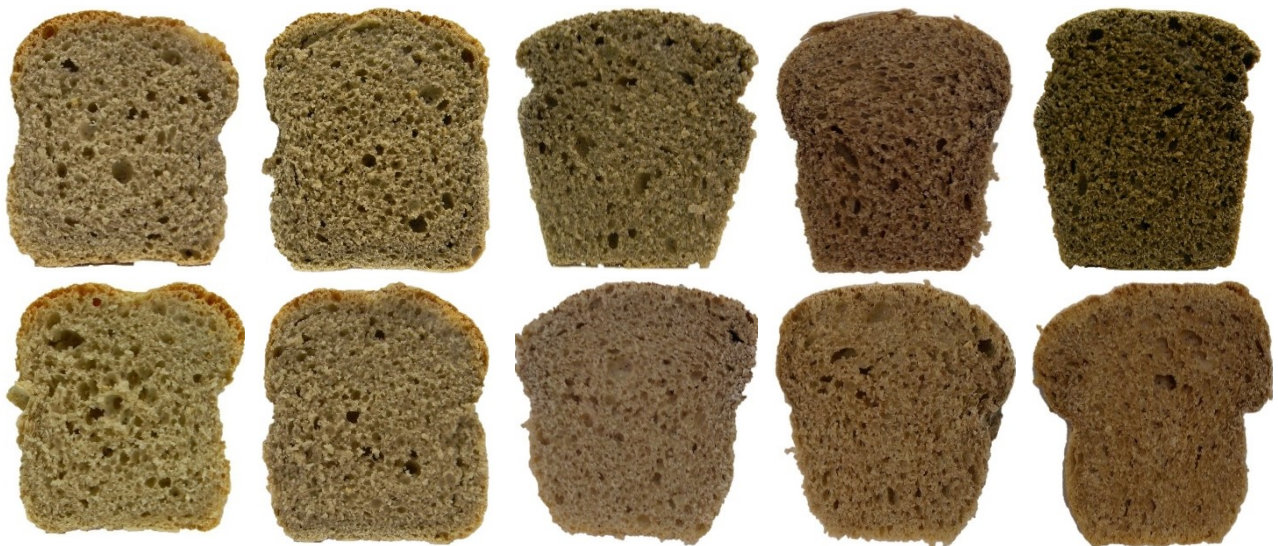


Figura III-8. Panes elaborados con polvo de yerba mate (*sup*) y su extracto (*inf*), con las cantidades: 0,5; 1,5; 2,5; 5 y 10% (de izq a der).

III.3.3 – Propiedades químicas

III.3.3.a – Contenido de humedad

Los resultados del contenido de humedad de los panes recién elaborado se muestran en la Tabla III-4 y están expresados en g de agua /100 g sobre base seca (bs).

Tabla III-4. Contenido de humedad de panes formulados.

Producto	Contenido de polvo / extracto	Humedad (g/100g) *
Pan elaborado con polvo de yerba mate	0,5%	55,01 ± 2,75 ^A
	1,5%	53,59 ± 2,71 ^A
	2,5%	61,40 ± 2,90 ^{AB}
	5%	60,66 ± 3,06 ^B
	10%	64,09 ± 3,04 ^C
Pan elaborado con extracto de polvo de yerba mate	0,5%	54,67 ± 2,78 ^a
	1,5%	54,64 ± 2,35 ^a
	2,5%	57,75 ± 1,28 ^b
	5%	60,20 ± 2,63 ^c
	10%	60,33 ± 2,65 ^c
Pan blanco	-	53,97 ± 1,10 ^{Aa}

**en base seca. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con polvo; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con extracto.*

No se encontraron diferencias significativas en el contenido de humedad de las muestras con el mismo porcentaje de reemplazo de polvo o extracto de yerba mate.

Sin embargo, hubo diferencias significativas en los valores de humedad respecto a la cantidad de polvo o extracto en ambos productos. Los valores hallados fueron aumentando paulatinamente conforme aumentaba la cantidad de subproductos añadidos al pan. El contenido de humedad aumentó significativamente en muestras con porcentajes de adición (de polvo o extracto) superiores al 1,5%. Los panes con adiciones menores presentaron contenidos de humedad similares al pan blanco, tomado como control.

En otras investigaciones se han informado resultados similares en panes formulados con fracciones de salvado de trigo duro de composición variable según el grado de molienda del grano. Se registraron aumentos de hasta el 10% del contenido de humedad con esta suplementación (Curti y col., 2013).

El mismo comportamiento se observó en panificados elaborados con productos no convencionales, en especial cuando se trataba de compuestos sólidos, molidos o

pulverulentos, y se fundamenta en la capacidad de dichos polvos para retener cantidades sustanciales de agua, aun cuando no hayan ocurrido cambios apreciables en la apariencia del pan.

En panes suplementados con hojas de coriandro en polvo se registró un aumento en el contenido de humedad para todos los niveles de adición ensayados. El reemplazo de la harina de trigo por harina de lino (semillas tostadas y molidas) incrementó la humedad del pan y se la relacionó con la capacidad de retención de agua de las gomas y fibra soluble de las semillas (Das y col., 2012; Marpalle y col., 2014).

La adición de extracto de té verde microencapsulado también incrementó la humedad en panes. Esto se debe probablemente a la capacidad de la fibra y los polifenoles de retener más agua durante el horneado, como consecuencia de las interacciones entre el agua y los grupos hidroxilo, carbonilo y amino de la fibra y los polifenoles (Pasrija y col., 2015).

Es probable que esta humedad adicional contenida en los panes quede distribuida irregularmente por las alteraciones en el grado de gelatinización de los gránulos de almidón, tras el agregado de componentes que interactúen con los granos de almidón (Rathnayake y col., 2018).

La presencia de compuestos fenólicos en el polvo de yerba mate estaría asociada a la mayor retención de agua en los panes.

III.3.3.b – Solvente de extracción y contenido de compuestos fenólicos

Se observó que aquellos extractos de solventes al 70% y 100% de etanol o metanol se tornaban opalescentes. Este comportamiento se puede asociar a diferencias en la solubilidad de las proteínas del gluten en soluciones hidroalcohólicas.

Basándose en el comportamiento de solubilidad en solución de etanol al 70%, desarrollado como criterio de clasificación en el año 1924 por Thomas Osborne, las proteínas del trigo pueden dividirse en albúminas, globulinas, gliadinas y gluteninas. Estas proteínas son biológica y funcionalmente diferentes.

Las albúminas y globulinas representan el 15 a 20% del total de las proteínas del trigo; son principalmente enzimas (α - y β -amilasas), solubles en agua y en soluciones salinas neutras. Las gliadinas son solubles en etanol al 70% u otros alcoholes de bajo peso molecular, como metanol. Las gluteninas son solubles en soluciones diluidas de ácidos y bases e insolubles en soluciones salinas neutras y en etanol (Belitz y col., 2009; Badui Dergal, 2006).

De modo que la opalescencia observada se debió principalmente a la solubilidad de las gliadinas y de las fracciones de gluteninas de bajo peso molecular en los solventes mencionados: fueron solubilizadas y extraídas en etanol o metanol al 70 o 100% y luego precipitaron al añadir el agua de enrase, causando una apreciable turbidez.

Para contrarrestar el efecto de la opalescencia sobre las lecturas de absorbancia, se midió también la absorbancia de un blanco de muestra. La absorbancia corregida para cada muestra se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Absorbancia}_{\text{corr}} = \text{Abs}_{\text{muestra}} - \text{Abs}_{\text{blanco de muestra}}$$

Para cuantificar el contenido de fenoles totales se utilizó el método de patrón externo. El patrón utilizado fue el ácido gálico en un rango de concentraciones desde 20 a 120 µg/mL. A ecuación de la recta de calibración se obtuvo por el método de los mínimos cuadrados, expresada como:

$$\text{Abs} = 0,0106 \cdot [\text{Estándar}]_{\text{en mg AG/l}} + 0,0036$$

El contenido de fenoles totales obtenidos con los diferentes sistemas de solventes se muestra en la Tabla III-5.

Tabla III-5. Contenido de fenoles totales según el solvente de extracción.

Producto	Solvente	Fenoles Totales (mg AG/g _{ss})	Solvente	Fenoles Totales (mg AG/g _{ss})
Panes elaborados con 5% de polvo de yerba mate	agua	2,957 ± 0,009 ^C	metanol 30%	3,863 ± 0,100 ^D
	etanol 30%	4,044 ± 0,203 ^E	metanol 50%	4,088 ± 0,113 ^E
	etanol 50%	4,334 ± 0,144 ^F	metanol 70%	4,152 ± 0,014 ^E
	etanol 70%	4,354 ± 0,089 ^C	metanol	1,342 ± 0,037 ^B
	etanol	0,637 ± 0,025 ^A		
Panes elaborados con extracto al 5% de polvo de yerba mate	agua	1,806 ± 0,088 ^c	metanol 30%	2,340 ± 0,054 ^d
	etanol 30%	2,752 ± 0,028 ^f	metanol 50%	2,460 ± 0,105 ^{de}
	etanol 50%	2,942 ± 0,145 ^g	metanol 70%	2,499 ± 0,012 ^e
	etanol 70%	3,036 ± 0,036 ^g	metanol	0,672 ± 0,031 ^b
	etanol	0,396 ± 0,004 ^a		

Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con polvo; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con extracto.

En la Tabla puede observarse que las extracciones con agua, etanol y metanol no fueron satisfactorias para ninguno de los dos tipos de panes (elaborados con polvo de yerba mate o con su extracto), presentando valores de fenoles totales significativamente menores que los hallados con los demás sistemas de solventes.

Con las soluciones etanol-agua y metanol-agua hubo un aumento significativo en la extracción de los compuestos fenólicos. Las soluciones etanol-agua tuvieron, en general, un mejor desempeño que las soluciones metanol-agua. En ambos casos, las soluciones de mayor concentración de alcohol permitieron extraer mayor cantidad de fenoles que las soluciones más diluidas.

El comportamiento de los solventes fue similar para ambos tipos de panes como puede verse en la Tabla III-5. La solución elegida fue la de etanol-agua en una relación 70:30. A continuación se realizó la extracción de los compuestos fenólicos de las muestras restantes empleando únicamente este solvente.

Se realizaron extracciones de las muestras de pan elaboradas con diferentes concentraciones de polvo y de extracto. La extracción de los compuestos fenólicos se realizó empleando la solución de etanol al 70% como único solvente de extracción. Se lograron 25 mL de extracto para cada muestra. En la Tabla III-6 pueden verse los resultados del contenido de fenoles totales para ambos tipos de pan, incluyendo al pan control, expresados como mg AG/g_{SS}.

Tabla III-6. Contenido de fenoles totales de panes formulados.

Producto	Contenido de polvo / extracto	Fenoles Totales (mg AG/g _{SS})
Panes elaborados con polvo de yerba mate	0,5%	1,442 ± 0,024 ^B
	1,5%	2,158 ± 0,046 ^C
	2,5%	2,816 ± 0,075 ^D
	5%	4,795 ± 0,079 ^E
	10%	8,619 ± 0,282 ^F
Panes elaborados con extracto de yerba mate	0,5%	1,328 ± 0,071 ^b
	1,5%	1,814 ± 0,090 ^c
	2,5%	2,174 ± 0,073 ^d
	5%	3,005 ± 0,052 ^e
	10%	5,519 ± 0,244 ^f
Pan blanco	-	1,002 ± 0,023 ^{Aa}

Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con polvo; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con extracto.

El contenido de fenoles totales se incrementó considerablemente al aumentar la cantidad de subproductos de la yerba mate presentes en los panes elaborados.

Las muestras elaboradas con 0,5 y 1,5% de polvo de yerba mate arrojaron valores de fenoles totales similares a los hallados en muestras de panes con extractos de las mismas concentraciones. Sin embargo, las muestras con adiciones mayores de subproductos registraron incrementos variables en el contenido de fenoles. Por ejemplo, la incorporación de un 10% de polvo en los panes incrementó el contenido de fenoles en más del 200%, con respecto al 2,5% de adición. Cuando se incorporó el extracto al 10%, el contenido de fenoles aumentó un 154% con respecto al 2,5% de adición.

Los resultados obtenidos son coherentes con lo reportado por diferentes autores. Se ha visto una mejora significativa en el contenido de compuestos fenólicos de panificados a los cuales se añadió desde 1 a 5% de semillas de lino molidas. El aumento observado se encontró entre 12 y 93% con respecto al pan blanco o control, cuyo contenido de fenoles totales fue 0,42 mg GAE/g ss (Sęczyk y col., 2017).

De igual manera, se observó un incremento en la cantidad de fenoles dependiente del porcentaje de suplementación en panes adicionados con hojas de quinoa. Para un 5% de reemplazo de la harina de trigo se obtuvieron 2,9 veces más compuestos fenólicos que en el pan control (Świeca y col., 2014).

El contenido de fenoles totales de un extracto acuoso al 10% de hojas de yerba mate puede alcanzar los 62,9 mgGAE/g de sólido seco y 96,1 mgGAE/g de sólido seco cuando se realiza una extracción exhaustiva (Bravo y col., 2007; González y col., 2010; Hartwig y col., 2012). Esto hace suponer que el aporte de los subproductos de la yerba mate a los panes es pequeño con respecto a la cantidad de compuestos fenólicos que la yerba es capaz de albergar.

Resultados similares se han reportado en adiciones de extracto de té negro en panificados, donde los panes presentaron una concentración de compuestos fenólicos menor al 50% del valor hallado en el extracto de té negro (Zhu y col., 2016).

La degradación térmica que puedan sufrir los compuestos fenólicos durante la cocción del pan puede ocasionar, al menos parcialmente, diferencias entre los valores hallados y los esperados para los fenoles totales. Por ejemplo, la degradación del ácido clorogénico depende de las condiciones de cocción. No es degradado por microondas, vapor o ebullición, pero es completamente destruido durante la cocción de papas a 212°C durante 45 min (Ezekiel y col., 2013; Świeca y col., 2018).

De manera similar, en otra investigación se informó que sólo el 50% de la cantidad de fenoles incorporados al pan mediante extractos de té verde fue retenida tras el horneado. Las temperaturas de horneado (que ascienden a los 100°C en 30 min) pueden degradar, oxidar o descomponer los polifenoles termolábiles (Pasrija y col., 2015).

Contrariamente, pueden aparecer nuevos compuestos fenólicos como consecuencia del procesado del alimento. Algunos autores sostienen que la molécula sufre una descarboxilación rápida durante el tostado de los granos de café para dar fenoles simples, como el catecol, 4-metilcatecol, 4-etilcatecol y 4-vinilcatecol (Nunes y Coimbra, 2010).

En panes elaborados con harina de cebada se ha registrado un aumento del contenido de fenoles ligados o insolubles y una disminución de fenoles libres. Esto probablemente es causado por reacciones favorecidas por las temperaturas de cocción (Holtekjølen y Knutsen, 2011; Chai y col., 2013).

El método de extracción de compuestos fenólicos también puede modificar el contenido de fenoles totales del extracto. Algunos autores sugieren el empleo de técnicas combinadas

para obtener extractos de mayor contenido de fenoles (González Coria y Horianski, 2018; Dugo y col., 2009).

En todo caso, el empleo de cualquiera de los subproductos de la yerba mate en la elaboración de los panes resulta favorable, en términos de aporte de compuestos fenólicos al alimento. Tan sólo reemplazando el 1,5% del agua o la harina por extracto o polvo de yerba mate se logra un incremento promedio del 100% en el contenido de fenoles totales del pan.

III.3.3.c – Contenido de cenizas

La determinación del contenido de cenizas de los panes elaborados con subproductos de la yerba mate se realizó mediante la incineración de 5 g de muestra a 550°C durante 24 h. Los resultados se muestran en la Tabla III-7 y se expresan en g de cenizas /100 g de sólido seco.

Tabla III-7. Contenido de cenizas de panes formulados.

Producto	Contenido de polvo / extracto	Cenizas (g/100g) *
Panes elaborados con polvo de yerba mate	0,5%	3,97 ± 0,16 ^A
	1,5%	4,13 ± 0,03 ^B
	2,5%	4,52 ± 0,02 ^C
	5%	4,90 ± 0,01 ^E
	10%	4,73 ± 0,04 ^D
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	0,5%	3,86 ± 0,01 ^a
	1,5%	3,74 ± 0,11 ^a
	2,5%	4,44 ± 0,13 ^b
	5%	4,57 ± 0,03 ^c
	10%	4,69 ± 0,05 ^c
Pan blanco	-	3,88 ± 0,02 ^{Aa}

**en base seca. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con polvo; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con extracto.*

Puede observarse en los resultados una variación leve pero significativa en el contenido de cenizas conforme aumenta la cantidad de polvo de yerba mate o la concentración del extracto en la composición de los panes.

En el caso de panes formulados con polvo, para todas las adiciones se produjeron aumentos significativos en el contenido de cenizas. No se registraron diferencias en los valores de cenizas en los panes elaborados con concentraciones de extracto menores al 2,5% con respecto al control.

Por otro lado, los panes elaborados con reemplazo del 10% de la harina de trigo por polvo tuvieron valores análogos a los registrados en muestras de pan elaborados con un extracto de la misma concentración. En ambos casos, el incremento del contenido de cenizas al comparar con el pan blanco fue cercano al 20%.

Un comportamiento similar de los valores del contenido de cenizas se ha informado en panificados elaborados con semillas de lino molidas, en reemplazo de hasta el 15% de la harina de trigo. El porcentaje de aumento del contenido de cenizas fue mucho mayor, llegando a triplicar el valor promedio del control (Marpalle y col., 2014).

El Código Alimentario Argentino, en el capítulo IX, artículo 726 (ANMAT, 2012a) establece un máximo de 3,25% de cenizas totales calculadas sobre base seca para el pan blanco o pan francés. Los valores obtenidos para los panes elaborados con los diferentes contenidos de polvo y extracto, al igual que el pan blanco, excedieron a los fijados por esta reglamentación. No se cuantificaron las cenizas de la harina utilizada, que podrían justificar el mayor contenido observado en el pan control. Otra causa asignable podría ser el error experimental cometido durante la realización de las determinaciones.

El aumento en el contenido de cenizas con el agregado de polvo o extracto puede atribuirse a las cenizas aportadas por la propia yerba mate (Scipioni y col., 2007).

Este valor también se encuentra regulado por el Código Alimentario Argentino. En el capítulo XV, artículo 1195 (ANMAT, 2012b) se establece que la yerba mate puede contener hasta el 9,0% (bs) de cenizas, porcentaje que varía dependiendo de las condiciones de elaboración de la yerba mate (Holowaty y col., 2016; Esmelindro y col., 2002).

El agregado de extractos de yerba mate a otros productos no panificados (barras de cereal) ocasionó aumentos más pronunciados en el porcentaje de cenizas que los observados en esta investigación (Chiesa y col., 2012; Gutkoski y col., 2001).

III.3.3.d – Contenido de fibra dietaria

El contenido de fibra se determinó mediante el método enzimático-gravimétrico. Los resultados se listan en la Tabla III-8 y se expresan como fibra dietaria total (%), correspondiente a la suma de los contenidos de fibra dietaria soluble e insoluble.

No se observó una tendencia clara en el contenido de fibra dietaria total de los panes en función del incremento en el porcentaje de los ingredientes reemplazados. Contrariamente a lo esperado, la adición de extracto o polvo de la yerba mate en la formulación de los panes causó descensos significativos en el contenido de fibra, con respecto al control. Este efecto fue observado en todas las formulaciones ensayadas, excepto en los panes con 10% de polvo en los cuales se registró un incremento del 63%

El contenido de fibra del pan blanco resultó similar a los valores hallados en la bibliografía (Morales y col., 2012).

Tabla III-8. Contenido de fibra de panes formulados.

Producto	Contenido de polvo / extracto	Fibra dietaria total (%)
Panes elaborados con polvo de yerba mate	0,5%	4,48 ± 0,11 ^B
	1,5%	3,53 ± 0,25 ^A
	2,5%	4,42 ± 0,29 ^B
	5%	5,71 ± 0,55 ^C
	10%	9,86 ± 0,03 ^D
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	0,5%	4,18 ± 0,45 ^a
	1,5%	4,71 ± 0,18 ^b
	2,5%	4,09 ± 0,18 ^a
	5%	4,45 ± 0,21 ^{ab}
	10%	5,39 ± 0,06 ^c
Pan blanco	-	6,02 ± 0,05 ^{Cd}

Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con polvo; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con extracto.

Por otra parte, se ha reportado que los extractos de yerba mate poseen, en promedio 1,6% de fibra dietaria total (bs). Esos extractos fueron obtenidos simulando el acto de tomar mate, lográndose 500 mL de extracto a partir de 50 gramos de yerba mate (Brumovsky y col., 2005; Brumovsky y col., 2008; Scipioni y col., 2010; Bravo y col., 2007). Esta metodología es considerada más exhaustiva que la técnica de extracción empleada en esta investigación y explicaría que no se hayan alcanzado niveles mayores de fibra en los panes formulados con extractos.

Algunos autores sugieren que la fibra añadida en formulaciones de panes puede ser hidrolizada por las enzimas de las levaduras o incluso degradada durante la cocción, principalmente la fracción soluble.

Esto podría explicar la disminución de la fibra total con respecto al pan control en ambos tipos de panes, con excepción del pan que contiene 10% de polvo.

En ensayos de suplementación de panes con fibras de diferentes orígenes, los resultados hallados en ocasiones no se correspondían con los valores esperados (Wang y col., 2002; Abdul Hamid y Luan, 2000).

III.3.3.e – Contenido de proteínas

El contenido de proteínas fue determinado mediante el método de Kjeldahl. Los resultados se muestran en la Tabla III-9.

Tabla III-9. Contenido de proteínas de panes formulados.

Producto	Contenido de polvo / extracto	Proteínas (%) [*]
Panes elaborados con polvo de yerba mate	0,5%	10,9 ± 0,1 ^A
	1,5%	10,9 ± 0,1 ^A
	2,5%	11,0 ± 0,1 ^A
	5%	11,7 ± 0,3 ^B
	10%	12,9 ± 0,1 ^C
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	0,5%	10,9 ± 0,1 ^a
	1,5%	11,0 ± 0,1 ^a
	2,5%	11,0 ± 0,1 ^a
	5%	11,8 ± 0,1 ^b
	10%	12,8 ± 0,1 ^c
Pan blanco	-	10,8 ± 0,2 ^{Aa}

** en base seca. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con polvo; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con extracto.*

Puede apreciarse que los valores hallados en los panes elaborados con polvo de yerba mate fueron similares a los obtenidos para panes formulados con extractos en las mismas proporciones.

Los panes formulados con las cantidades más altas de subproductos presentaron incrementos pequeños pero significativos en el contenido de proteínas. La presencia de 5 y 10% de polvo o extractos de estas concentraciones en la composición del pan causó un incremento en el contenido de proteínas, aunque no supera el 20% respecto del pan blanco. Los resultados correspondientes a las demás formulaciones fueron similares al contenido de proteínas hallado en el pan blanco. Los valores hallados en los panes suplementados podrían estar sobreestimados debido a la presencia de compuestos nitrogenados no proteicos en el polvo de yerba mate. En particular, la presencia de alcaloides provenientes de la yerba mate podría interferir. Se han encontrado 0,089 g de cafeína en un extracto acuoso al 10% obtenido a partir de polvo de yerba mate. Asimismo, las hojas de la yerba mate contienen cantidades apreciables de cafeína y teobromina, en concentraciones comprendidas entre 0,5 y 2,5% de cafeína y entre 0,3 y 0,7% de teobromina, valores que pueden variar según la localización de la plantación (Marx y col., 2003; Holowaty y col., 2016).

Variaciones similares en el contenido de proteínas han sido encontradas en barras de cereal adicionadas con extractos de yerba mate, siendo de 9,13% en barras adicionadas de 10% de yerba mate, y 9,66% para las barras sin agregado de yerba mate (Chiesa y col., 2012).

El agregado de harina de semillas de lino en la elaboración de panes mejoró el contenido de proteínas del pan. El reemplazo de 5% de la harina de trigo incrementó la proporción de proteínas en un 13% (Marpalle y col., 2014).

En otra investigación se informó que la adición en conjunto de fibra de manzana, limón y trigo en la elaboración de muffins (magdalenas) redujo el contenido de proteína, a partir del 4% de reemplazo de la harina de trigo. Se propuso que esa disminución se debió probablemente al efecto de dilución sobre las proteínas de trigo. El gluten se diluye cuando se modifica parcialmente su estructura y ocurre el adelgazamiento de las paredes de los alveolos de la miga del pan (Collar y col., 2007; Sivam y col., 2010).

El agregado de polvo de guayaba en reemplazo de la harina de trigo provocó un efecto similar, con una disminución del contenido de proteínas en el pan (Pico y col., 2015; Castelo Branco y col., 2016).

III.3.4 – Propiedades físicas

III.3.4.a – Parámetros de color de la miga

En la Figura III-9 pueden verse los resultados obtenidos para cada parámetro de color en los dos tipos de panes.

Las variaciones observadas en los valores de los parámetros de color de los panes elaborados con polvo de yerba mate fueron similares a las halladas en los panes con extracto en su composición. Como puede verse, conforme aumentó la cantidad de cualquiera de los ingredientes no convencionales añadidos al pan, se registraron aumentos en el parámetro a^* y disminuciones en los parámetros b^* y L^* .

La pérdida de luminosidad se debe a que el polvo y los extractos de yerba mate son muy coloreados. Los valores promedios de L^* descendieron aproximadamente al 50% en los panes elaborados con 10% de polvo de yerba mate. En los panes elaborados con extractos al 10%, la disminución registrada en el parámetro L^* fue de un 34% con respecto al control.

Los valores de luminosidad fueron similares a los hallados en panes adicionados con extracto de té verde, si bien las cantidades de extracto fueron menores a las ensayadas en este trabajo (Wang y col., 2007; Pourabedin y col., 2017).

También se observó la aparición de matices pardos de diferente intensidad en la miga. Esto se corresponde con el aumento del parámetro a^* , indicando la aparición de tonos rojizos o pardos, según el porcentaje de adición de subproductos de yerba mate. En los panes adicionados con extractos registraron incrementos de este parámetro hasta un 78% con respecto al promedio del pan blanco. En los panes que contenían polvo también aumentaron los valores de a^* pero en menor cuantía, sin alcanzar el 60% del promedio del control.

La pérdida del color blanco, pajizo, levemente amarillento característico del pan blanco se corroboró con la disminución del parámetro b^* . El reemplazo del 10% de la harina por polvo

de yerba mate redujo en un 40% el valor de b^* con respecto al control. De manera similar, la adición de un extracto concentrado ocasionó mermas en el parámetro b^* inferiores al 25%.

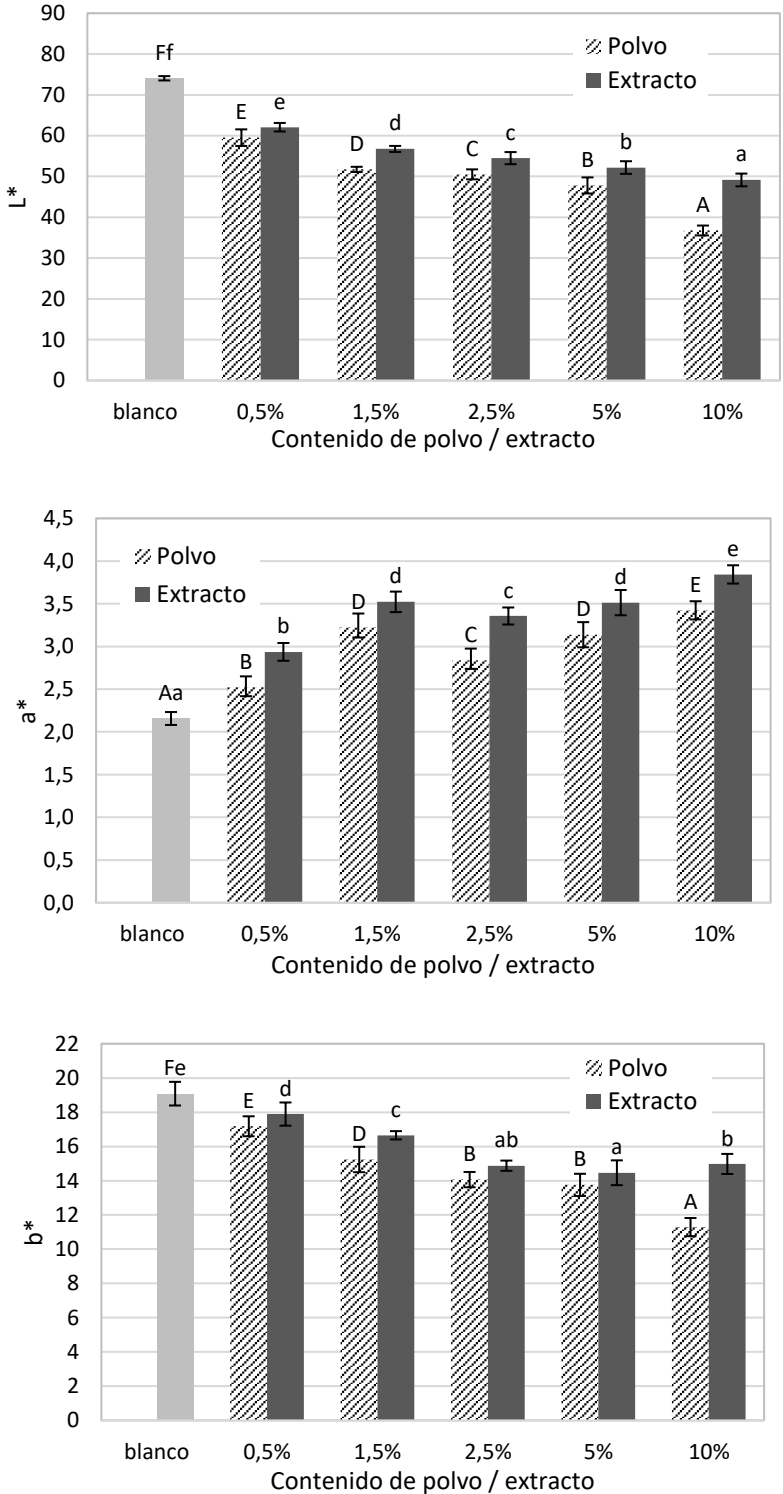


Figura III-9. Parámetros de color de panes formulados: L , a^* y b^* (de arriba hacia abajo).

Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con polvo; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con extracto.

Los cambios de color observados coinciden con las modificaciones causadas por los compuestos fenólicos en diversos alimentos. Por ejemplo, los ácidos clorogénico y cafeico contribuyeron al color pardo-rojizo del tabaco; las quinonas del ácido clorogénico o sus reacciones con las proteínas contribuyen a la formación de pigmentos verdes en galletitas adicionadas con semillas de girasol (Liang y Were, 2018). Además, tanto el extracto como el polvo de yerba mate adquieren color pardo por degradación de las clorofilas a feofitinas y otras reacciones de pardeamientos que involucran a azúcares, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados presentes en la yerba mate (Isolabella y col., 2010; Manzocco y col., 2000; Schmalko y col., 2005).

Por otra parte, el agregado de extracto de té negro en panificados causó variaciones similares en el color de los panificados, dependiendo de la concentración del extracto agregado. Si bien esos cambios en la coloración del pan se apreciaban fácilmente, no fueron considerados como atributos necesariamente negativos por los autores (Zhu y col., 2016).

En el caso de panes adicionados con granos de café verde molido, el color no fue determinado con el sistema CIELab sino que era un ítem del análisis sensorial. Los analistas detectaron un color verde muy tenue en los panes con concentraciones mayores de café. La aceptabilidad del producto fue levemente negativa debido al cambio de color (Zain y col., 2017).

Los parámetros de color a^* y b^* , por lo general, no siguen una tendencia fija de disminución o aumento con el agregado de ingredientes no convencionales. Un ejemplo de ello es la disminución registrada de a^* y b^* en panes adicionados con extracto de té verde en polvo. Contrariamente, la incorporación de un extracto similar previamente microencapsulado ocasionó incrementos en ambos parámetros (Ning y col., 2017; Pasrija y col., 2015).

III.3.4.b – Volumen específico

En la Tabla III-10 se encuentran los resultados de volumen específico de los panes, expresados como cm^3/g .

Puede decirse que ambos tipos de panes tuvieron comportamientos variables en sus resultados. No existió una tendencia clara en los valores de volumen específico, conforme aumentó el porcentaje de reemplazo del ingrediente.

El valor promedio de volumen específico correspondiente al pan blanco fue superado solamente por los panes con 5% de extracto en su formulación. Esto prueba que el agregado de polvo o extracto provocó una disminución en este parámetro.

Resultados similares se han encontrado en panes con sustitución parcial de harina por otros ingredientes no convencionales, como polvo de hojas de coriandro y harina de semillas de lino. Más aún, el agregado de la harina de semillas de lino en concentraciones iguales o menores al 3% no influyó en el volumen específico del pan. Adiciones mayores redujeron el volumen del pan de manera leve pero significativa. Una de las causas propuestas fue la

interferencia de los lignanos presentes en la harina (Das y col., 2012; Sęczyk y col., 2017; Marpalle y col., 2014).

Tabla III-10. Volumen específico de panes formulados.

Producto	Contenido de polvo / extracto	Volumen específico (cm ³ /g)
Panes elaborados con polvo de yerba mate	0,5%	2,39 ± 0,11 ^B
	1,5%	2,35 ± 0,07 ^B
	2,5%	1,83 ± 0,09 ^A
	5%	2,39 ± 0,12 ^B
	10%	1,80 ± 0,03 ^A
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	0,5%	2,25 ± 0,05 ^{ab}
	1,5%	2,19 ± 0,07 ^a
	2,5%	2,13 ± 0,10 ^a
	5%	2,88 ± 0,15 ^d
	10%	2,40 ± 0,12 ^b
Pan blanco	-	2,64 ± 0,13 ^{Cc}

Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con polvo; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con extracto.

Por otro lado, se observó una disminución marcada del volumen específico en el caso de panes adicionados con té verde en polvo. Los autores consideran que la fibra aportada por el té deterioró la red de gluten, disminuyendo la capacidad de retención de gas de la masa, y por ende reduciendo el volumen resultante (Ning y col., 2017).

Se ha observado también que el agregado de extracto de té verde rico en polifenoles a ciertos panificados causó la reducción del volumen final del pan, debido a la ruptura temprana de las burbujas de gas durante la cocción. Cuando las paredes de las celdas de gas son debilitadas por la presencia de compuestos fenólicos, las burbujas se vuelven inestables y colapsan. Esa inestabilidad se atribuye a la formación de grupos tiol en detrimento de los enlaces disulfuro (Ananingsih y Zhou, 2012; Ananingsih y col., 2013).

Sin embargo, puede suceder lo contrario, es decir, que prevalezca la formación de enlaces cruzados entre proteínas y polifenoles. Esto provoca que la red de gluten en vez de debilitarse se fortalezca demasiado. Este fenómeno también ocasiona panificados con menor volumen y puede deberse a que la red es tan rígida que no puede expandirse apropiadamente a pesar de que el desarrollo de gas durante la fermentación sea la adecuada (Koh y Ng, 2009; Wang y col., 2007).

La distribución irregular de los valores de volumen específico en este tipo de productos, sin seguir un orden de variación, no implica que los resultados sean desfavorables, puesto

que las diferencias existentes en el volumen de los panes probablemente no son percibidas a simple vista.

III.3.4.c – Parámetros de textura

En la Tabla III-11 se muestran los resultados del ensayo de TPA para los siguientes parámetros: dureza, elasticidad, cohesividad, masticabilidad y resiliencia.

No fue posible establecer un orden de incremento en este parámetro siguiendo un criterio, como el tipo de ingrediente o el porcentaje de reemplazo.

Sin embargo, el rango de los resultados para panes elaborados con polvo de yerba mate fue mucho más amplio que el registrado en los panes con extracto en su composición. Esto indica que la dureza del pan se vio modificada en mayor extensión por los componentes sólidos de la yerba mate, como restos de tejido y otros compuestos que no se encuentran en los extractos acuosos.

La elasticidad registrada presentó resultados variables con la cantidad de polvo o extracto agregados. El agregado de 10% de polvo registró la menor elasticidad entre las muestras. En cambio, la elasticidad de los panes formulados con extractos al 10% no resultó significativamente diferente de los panes con extractos al 1,5%. Las diferencias encontradas podrían atribuirse a la dispersión de los datos, considerando que no se trata de la medición de un parámetro, sino que se trata de una operación matemática entre dos valores de distancia en el gráfico fuerza vs. tiempo.

Los resultados para cohesividad tuvieron el mismo comportamiento que los correspondientes a elasticidad. Se registraron tendencias distintas en los panes elaborados con ambos ingredientes no convencionales. Los panes elaborados con 10% de polvo registraron los menores valores de cohesividad, mientras que los panes con agregado de extractos al 10% tuvieron los valores más altos de cohesividad para ese tipo de producto.

Los rangos de variación de los valores fueron del mismo orden de magnitud que la dispersión de los datos, y probablemente se deban a errores experimentales.

En cuanto a la masticabilidad, se observó una variación un poco más marcada en los resultados conforme aumentó el contenido de polvo de yerba mate o la concentración de extracto en la composición de los panes.

No se observaron diferencias significativas en los valores para panes elaborados con las adiciones más bajas, es decir, menores al 2,5% con respecto al control. Se registraron aumentos en los valores de masticabilidad a partir de panes con 5% de polvo o con extracto al 5%. Estos incrementos alcanzaron el 130% para los panes elaborados con polvo y el 40% para los panes que contenían extractos. Estos resultados hacen suponer que ciertos componentes de la yerba mate (que no forman parte del extracto pero que sí se encuentran en el polvo) influyen en mayor medida en la masticabilidad del alimento.

Tabla III-11. Parámetros de TPA de panes formulados.

Producto	Contenido de polvo / extracto	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad (N)	Resiliencia
Panes elaborados con polvo de yerba mate	0,5%	20,79 ± 2,33 ^C	0,90 ± 0,02 ^C	0,66 ± 0,02 ^C	11,72 ± 1,13 ^{BC}	0,32 ± 0,02 ^C
	1,5%	21,17 ± 2,09 ^C	0,85 ± 0,02 ^B	0,61 ± 0,01 ^{AB}	10,57 ± 1,19 ^{BC}	0,29 ± 0,01 ^{AB}
	2,5%	15,11 ± 1,85 ^A	0,87 ± 0,04 ^{BC}	0,65 ± 0,02 ^{BC}	8,24 ± 0,92 ^A	0,34 ± 0,02 ^D
	5%	28,61 ± 3,31 ^D	0,89 ± 0,03 ^C	0,68 ± 0,01 ^C	18,83 ± 2,34 ^D	0,34 ± 0,01 ^D
	10%	29,72 ± 3,12 ^D	0,73 ± 0,06 ^A	0,58 ± 0,04 ^A	12,28 ± 2,66 ^C	0,28 ± 0,02 ^A
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	0,5%	20,99 ± 1,74 ^c	0,88 ± 0,03 ^a	0,66 ± 0,02 ^b	12,13 ± 1,21 ^{bc}	0,33 ± 0,02 ^b
	1,5%	18,30 ± 1,66 ^b	0,90 ± 0,02 ^{ab}	0,67 ± 0,02 ^b	11,10 ± 0,96 ^{ab}	0,34 ± 0,02 ^{bc}
	2,5%	20,29 ± 2,29 ^{bc}	0,89 ± 0,02 ^a	0,64 ± 0,03 ^a	11,78 ± 1,15 ^{abc}	0,33 ± 0,03 ^{bc}
	5%	21,49 ± 2,43 ^c	0,89 ± 0,02 ^a	0,68 ± 0,01 ^b	14,37 ± 2,85 ^d	0,35 ± 0,01 ^c
	10%	19,79 ± 1,33 ^{abc}	0,91 ± 0,02 ^b	0,71 ± 0,01 ^c	12,84 ± 1,09 ^{cd}	0,38 ± 0,01 ^d
Pan blanco	-	18,05 ± 1,97 ^{Ba}	0,88 ± 0,02 ^{BCa}	0,64 ± 0,02 ^{BCa}	10,14 ± 1,05 ^{Ba}	0,30 ± 0,02 ^{Ba}

Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias.

El último parámetro del ensayo de TPA analizado fue la resiliencia. Análogamente a lo encontrado para elasticidad y cohesividad, los resultados de resiliencia fueron en algunos casos similares entre sí y en otros mostraron variaciones significativas. Podría decirse que la distribución de los valores fue azarosa y no representaba cambios genuinos de este parámetro con las adiciones de los nuevos ingredientes.

También se realizó la determinación de la firmeza, cuyos resultados pueden verse en la Tabla III-12.

Tabla III-12. Firmeza de panes formulados.

Producto	Contenido de polvo / extracto	Firmeza (N)
Panes elaborados con polvo de yerba mate	0,5%	2,15 ± 0,09 ^A
	1,5%	2,59 ± 0,26 ^{AB}
	2,5%	2,91 ± 0,33 ^B
	5%	3,63 ± 0,34 ^C
	10%	3,61 ± 0,30 ^C
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	0,5%	3,30 ± 0,26 ^d
	1,5%	2,65 ± 0,29 ^b
	2,5%	2,85 ± 0,31 ^{bcd}
	5%	3,14 ± 0,28 ^{cd}
	10%	2,79 ± 0,27 ^{bc}
Pan blanco	-	2,18 ± 0,21 ^{Aa}

Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con polvo; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con extracto.

En general, los valores de firmeza registrados en los panes elaborados fueron superiores a los encontrados en el pan blanco. Las diferencias entre los valores de firmeza del pan control y los valores máximos fueron de 1,45 N para panes elaborados con polvo y 1,12 N en los panes con extracto, representando el 70 y 50% de aumento, respectivamente.

Los valores de firmeza correspondientes a los panes adicionados con polvo demostraron una dependencia con el porcentaje de reemplazo. Sin embargo, no pudo estimarse una relación entre los valores de firmeza y el aumento de la concentración de extracto.

Los parámetros que tuvieron valores de dispersión considerables (coeficientes de variación en torno al 10%) fueron la dureza, la masticabilidad y la firmeza. Estas determinaciones fueron las más afectadas por el reemplazo de ingredientes, especialmente cuando se trataba de polvo.

Los parámetros restantes, que tuvieron coeficientes de variación inferiores al 5%, no demostraron modificaciones sustanciales en sus valores con el agregado de diferentes

cantidades de polvo o extracto a los panes. Más aún, los resultados del pan blanco se ubicaron con frecuencia en posiciones intermedias, sin relación con el aumento de los porcentajes de reemplazo.

Luego del análisis de todos los parámetros calculados a partir de TPA y de firmeza, es posible afirmar que todas las muestras de pan, incluido el control, son igualmente capaces de mantener su integridad física y de recuperar su forma tras la deformación. Por otro lado, las muestras de pan formuladas con polvo de yerba mate requieren mayor fuerza para morderlas; incluso requieren mayor tiempo para alcanzar el estado de deglución.

Se han reportado resultados similares en la bibliografía. Por ejemplo, se ha observado un aumento gradual en la masticabilidad de panes con el agregado de polvo de té verde, mientras que la resiliencia no fue afectada por la adición del polvo. Análogamente, la firmeza del pan se vio incrementada solamente a partir de agregados de extracto de té verde al 0,75%. Estos panes fueron además los que tuvieron menor volumen. Para el caso del té negro, pequeñas adiciones de extracto tuvieron poca o ninguna influencia sobre las características texturales del pan, medidos mediante TPA (Ning y col., 2017; Ananingsih y Zhou, 2012; Zhu y col., 2016). En algunas investigaciones se presentaron alternativas para restringir el acceso de los polifenoles a la masa del pan, de manera de minimizar su influencia sobre la firmeza del pan (Pasrija y col., 2015).

La dureza de panes suplementados con cáscara de lino molidas alcanzó un mínimo cuando se utilizaron concentraciones menores al 2%. Por encima de ese valor, la dureza de la miga fue de 8,8 N (control: 7,1 N). También se observaron aumentos en los valores de firmeza, acompañados por reducciones en el volumen de los panificados (Sęczyk y col., 2017). Cabe aclarar que la magnitud de los valores hallados depende de las condiciones del ensayo, además de las características del alimento.

El empleo de diferentes fracciones de salvado de trigo (obtenidas mediante molienda selectiva del grano) para suplementar panes también fue responsable del aumento en la dureza del pan, registrándose hasta el 100% de aumento. Este aumento fue atribuido a la presencia de la fibra añadida. De hecho, el contenido de humedad de los panes también fue en aumento conforme aumentaba la fracción de salvado en la receta (Curti y col., 2013).

La composición de los componentes no habituales agregados también ha influido en la textura de los panes. En ensayos donde se utilizaron fibras de papa ricas en celulosa, se registraron aumentos en la dureza del pan, mientras que el agregado de fibras de papa ricas en lignina tuvo el efecto contrario. No obstante, la elasticidad no se vio afectada (Kaack y col., 2006).

Se han estudiado también los efectos del agregado de 3% de inulina de achicoria, fibra de zanahorias y fibra de arvejas. Se obtuvieron registros variables para cada parámetro, según el tipo de fibra de que se tratara. El agregado de inulina causó incrementos en firmeza y masticabilidad, mientras que las fibras de zanahoria y arvejas tuvieron tendencias opuestas. No se registraron cambios apreciables en los atributos de elasticidad, cohesividad y resiliencia (Wang y col., 2002).

Asimismo, el agregado de ingredientes con alto contenido de grasas, como las harinas de semillas, impide que el almidón absorba agua en exceso y evita modificaciones en la firmeza del pan, con respecto al control. Se estipula que la movilidad del agua también puede ser controlada gracias a la viscosidad de los mucílagos aportados por la harina de semillas de lino. Se supone que dicha sustancia podría enlazarse con las cadenas de amilosa y así evitar que se aproximen. Esto preserva al almidón del envejecimiento y evita un incremento en la dureza del pan (Pourabedin y col., 2017; Pohjanheimo y col., 2006).

III.3.4.d – Porosidad de la miga

La porosidad de la miga de los panes se determinó mediante análisis de imágenes, con el programa *Image J* (*National Institutes of Health, USA*). Los resultados hallados se encuentran en la Tabla III-13. Los valores de porosidad de cada muestra se expresan como el porcentaje del área que ocupan las celdas de la miga sobre la superficie de una rebanada de pan.

Tabla III-13. Porosidad de panes formulados.

Producto	Contenido de polvo / extracto	Porosidad (% de huecos)
Panes elaborados con polvo de yerba mate	0,5%	68,99 ± 1,88 ^A
	1,5%	70,75 ± 2,72 ^{AB}
	2,5%	69,34 ± 3,59 ^A
	5%	73,34 ± 2,29 ^{BC}
	10%	71,44 ± 2,64 ^{ABC}
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	0,5%	63,17 ± 2,12 ^a
	1,5%	65,56 ± 2,01 ^a
	2,5%	74,98 ± 2,28 ^b
	5%	73,35 ± 2,55 ^b
	10%	73,79 ± 1,97 ^b
Pan blanco	-	73,78 ± 3,51 ^{Cb}

Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con polvo; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre medias de muestras elaboradas con extracto.

La porosidad en los panes elaborados con polvo de yerba mate registró valores entre 68,99 y 73,34%, mientras que en los panes con extractos se registraron en el rango de 63,17 y 74,98%.

No se observó una dependencia clara de los resultados con respecto al porcentaje de adición de subproductos. Solamente pudo corroborarse que los valores de porosidad de los panes formulados con las adiciones más bajas no fueron significativamente diferentes entre sí.

En cuanto al pan blanco, el porcentaje de huecos fue similar a los valores correspondientes a los panes que contenían con 5 y 10% de polvo o extracto.

Se ha observado que el aumento de la porosidad (o de fracción de huecos) en la miga del pan provoca la aparición de celdas de gas más grandes (> 1 mm de diámetro) y la consecuente reducción del grado de uniformidad de los alvéolos (Rathnayake y col., 2018).

En concordancia con los resultados de este trabajo de investigación, se ha registrado un aumento de la porosidad en panes elaborados con extractos de té verde. Sin embargo, los valores encontrados no demostraron variaciones según la concentración de esos extractos. Cuando el té verde fue añadido al pan en forma de polvo, los resultados fueron similares (Wang y col., 2007; Ning y col., 2017).

Las variaciones encontradas en esta investigación indican que el agregado de polvo de yerba mate modifica levemente la porosidad de los panes.

III.3.4.e – Aspectos destacados sobre los parámetros texturales del pan

Las modificaciones referidas a la estructura física fueron determinadas a partir de las mediciones de volumen específico, parámetros del análisis del perfil de textura (TPA), firmeza y porosidad. Los cambios descritos, en general, resultan en algunos casos leves y en otros estadísticamente significativos. Los cambios más sobresalientes incluyeron disminuciones en el volumen del pan, mayor firmeza, variaciones referidas a la masticación y deglución, y distribución irregular de las celdas de gas de la miga.

Los resultados obtenidos respaldan la hipótesis de que el polvo de yerba mate provoca modificaciones equivalentes a las encontradas en alimentos suplementados con componentes ricos en fibra, aunque los resultados del contenido de fibra no se correspondan con las proporciones de polvo o extracto agregadas.

Se ha visto que el agregado de ingredientes fibrosos de diferente naturaleza puede disminuir la capacidad de retención de gas debido a que compiten por el agua con el gluten y el almidón y causan la disrupción de la matriz formada por la asociación almidón-gluten. Consecuentemente, las paredes de los alvéolos del pan se afinan o adelgazan. Esto restringe la correcta expansión de las celdas de gas durante la fermentación y el horneado y las obliga a crecer en una determinada dirección (Ning y col., 2017; Collar y col., 2007; Sivam y col., 2010; Das y col., 2012).

Las burbujas de gas formadas en estas condiciones coalescen, formando grandes poros en la miga. Este fenómeno se ha observado en los panes elaborados en esta investigación, aunque los valores numéricos de porosidad no hayan mostrado variaciones cuando se cuantificó sobre toda la rodaja de pan (véase Figura III-10).

Algunos autores han ensayado con agregados superiores al 2% de fibras de distinto origen (fibra de trigo, de naranja, de pera, de cacao, de café, celulosa microcristalina) en la elaboración de panes. Ellos sugieren que los aumentos registrados en la firmeza de dichos

panes se deben, contrariamente, al engrosamiento de las paredes de las celdas de gas (Gómez y col., 2003).

Esa reducción en la capacidad de retención de gas causa deficiencias en el leudado, estructuras de miga más compactas y deformidades en el pan, como las observadas en la Figura III-11. El agregado de componentes sólidos a los panes acentuó este efecto. Se estima que las partículas de polvo de hojas, al ser rígidas y estar hinchadas, rigidizan la matriz del alimento, contribuyendo al aumento de la firmeza del pan (Das y col., 2012).



Figura III-10. Alvéolos en la miga del pan blanco y panes con extracto al 2,5% y 10% de polvo en su composición (*izq a der*).

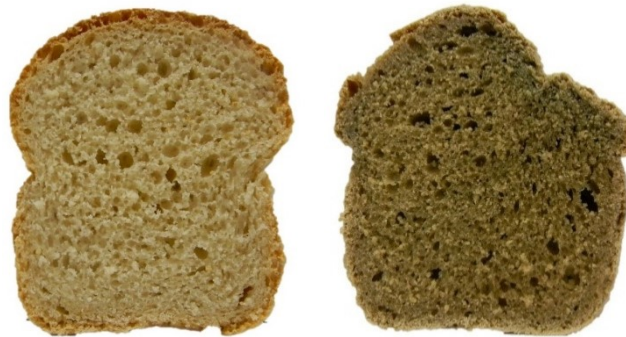


Figura III-11. Estructura y deformación en el pan causados por el agregado de ingredientes no convencionales: pan blanco (*izq*) y pan con extracto al 10% (*der*).

La suplementación de panificados con extractos ricos en polifenoles también puede provocar la reducción de la capacidad de gasificación gracias a su habilidad para inhibir la actividad de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Esto provoca que los panes presenten mayor dureza, masas más pegajosas y deficiencias en la fermentación. Además, el reemplazo parcial de la harina por ciertos ingredientes reduce el contenido de almidón, que es la principal fuente de azúcares fermentables por la levadura, generando los defectos físicos que han sido discutidos (Wang y col., 2007; Turehetti y col., 2005; Castelo Branco y col., 2016).

Una manera de contrarrestar los cambios perjudiciales en la apariencia física del pan consiste en aumentar el contenido de grasas aportado al pan, de tal forma que excedan la

cantidad de moléculas lipídicas capaces de formar enlaces hidrofóbicos con los componentes de la masa. Ese excedente se localizará generalmente entre las capas proteicas, suavizando la textura. De este modo pueden lograrse reducciones en la firmeza del pan (Pourabedin y col., 2017; Ferrari y col., 2013).

III.3.5 – Análisis sensorial

De acuerdo a los resultados de las planillas, se asignó el puntaje 1 (uno) a la muestra ubicada en el primer casillero (*Me gusta más*), 2 (dos) a la muestra colocada en el segundo casillero y así hasta la última muestra (*Me gusta menos*), a la cual se le asignó un puntaje de 6 (seis). Esto se realizó para los dos atributos evaluados.

A continuación, se sumaron los puntajes otorgados para cada muestra. Los resultados de esas sumas de los puntajes según el orden asignado fueron llamados *sumatorias de los ordenamientos*, y se visualizan en la Tabla III-14. La letra R representa las sumatorias para cada contenido de polvo o extracto (R₁ corresponde al blanco, R₂ al 0,5%, y así sucesivamente).

Tabla III-14. Sumatorias de los ordenamientos según los atributos de color y sabor.

ATRIBUTO: COLOR						
	<i>Blanco</i>	<i>0,5%</i>	<i>1,5%</i>	<i>2,5%</i>	<i>5%</i>	<i>10%</i>
Panes elaborados con polvo de yerba mate	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
	159	173	222	279	333	388
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
	155	248	260	288	289	335
ATRIBUTO: SABOR						
	<i>Blanco</i>	<i>0,5%</i>	<i>1,5%</i>	<i>2,5%</i>	<i>5%</i>	<i>10%</i>
Panes elaborados con polvo de yerba mate	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
	220	196	203	238	313	384
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
	241	264	236	242	285	307

Seguidamente, se calculó el puntaje promedio alcanzado por cada muestra de pan a partir de las sumatorias de la tabla anterior y del número de panelistas en cada sesión. Los resultados graficados se muestran para cada atributo de manera separada. La Figura III-12 contiene los puntajes promedio obtenidos para los panes elaborados con polvo y extracto de polvo de yerba mate según su color, mientras que en la Figura III-13 se observan los puntajes promedio según el sabor.

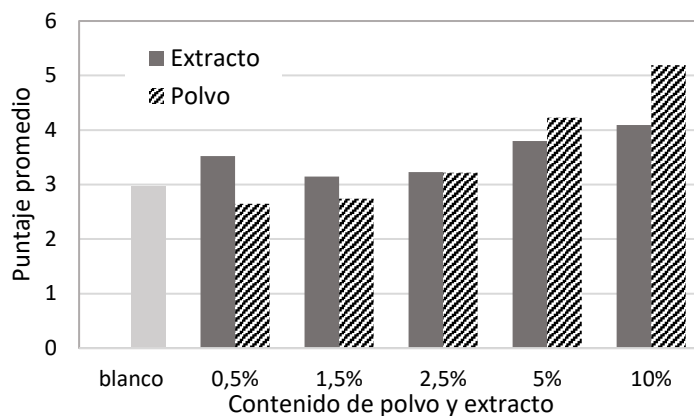


Figura III-12. Puntajes promedio para el atributo COLOR.

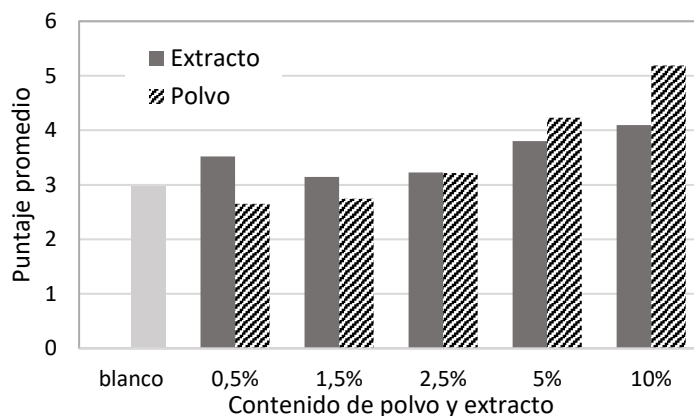


Figura III-13. Puntajes promedio para el atributo SABOR.

A continuación, se calculó el estadístico F de Friedman para cada tipo de pan para los atributos de color y sabor. Estos valores de F calculados deben ser comparados con el estadístico X^2 . Según la Tabla 19.5, de Meilgaard y col., (2016), dicho valor es:

$$X^2 = 11,1 \text{ para } \alpha = 0,05 \text{ y } k - 1 = 5 \text{ (} k = 6 \text{ muestras: 5 concentraciones + control)}$$

Seguidamente, los valores de F calculados fueron comparados con el estadístico X^2 . Es de interés saber si los valores de F son mayores o menores que X^2 .

En la Tabla III-15 se registraron los valores de N (nº de consumidores), los grados de libertad, el valor tabulado de X^2 , los valores de F calculados y el resultado de la comparación.

Tabla III-15. Valores empleados en el test de Friedman.

Producto	N_{jueces}	$k - 1$ grados de libertad	X^2 tabulado	F (color) calculado	F (sabor) calculado	resultado de la comparación
Panes elaborados con polvo de yerba mate	74	5	11,1	159,4	106,6	$F_{(\text{COLOR})} > X^2$ $F_{(\text{SABOR})} > X^2$
Panes elaborados con extracto de yerba mate	75	5	11,1	70,0	15,5	$F_{(\text{COLOR})} > X^2$ $F_{(\text{SABOR})} > X^2$

Puede observarse que los valores de F calculados resultaron mayores que el estadístico X^2 para todos los casos analizados. Se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existen diferencias significativas en los ordenamientos de las muestras. Esto implica que las diferencias en la preferencia de los panes se debieron a variaciones percibidas en el color y el sabor de los panes, es decir que no fueron azarosas.

Además, puede notarse que los valores de F para los panes elaborados con extractos de yerba mate no distan en gran medida del valor de X^2 como sí lo hacen los valores correspondientes a panes formulados con polvo, en particular para el atributo sabor. Podría pensarse que las diferencias significativas halladas en esas muestras no fueron pronunciadas, ya que se encontraron cerca del límite de aceptación-rechazo.

El siguiente paso fue conocer cuáles muestras fueron percibidas como diferentes por los consumidores. Para esto se realizó el test de comparaciones múltiples LSD de Fischer. El análisis se realizó para cada grupo de panes de manera separada.

El valor de LSD para ordenamientos fue calculado con la ecuación indicada en la página 34. El valor de Z empleado fue seleccionado para $\alpha = 0,05$ y $k - 1 = 5$ ($k = 6$ muestras: cinco concentraciones más el control) de la Tabla A.1 de Miller y Miller (2002) es igual a 1,96.

En la Tabla III-16 se observan el valor de N (n° de jueces), los grados de libertad y el valor de LSD calculado.

Tabla III-16. Valores empleados en el test de comparaciones múltiples.

Producto	N_{jueces}	$k - 1$ grados de libertad	LSD ordenamientos
Panes elaborados con polvo de yerba mate	74	5	44,6
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	75	5	44,9

El valor de LSD varía según se trate de polvo o extracto en la formulación del pan, pero no depende del atributo, ya que no incluye a R en la ecuación.

En esta prueba deben compararse, de a pares, todos los porcentajes de adición entre sí y con el blanco. En primer lugar, se calculó la diferencia entre las sumatorias de los ordenamientos (valores de R en la Tabla III.15) de cada par de muestras cotejadas.

Luego se comparó el valor absoluto de la diferencia para cada par de muestras enfrentadas con el valor calculado del intervalo LSD para ordenamientos.

Si el valor absoluto de la diferencia de R para dos muestras es mayor a LSD, se rechaza la hipótesis nula; las muestras son significativamente diferentes y los consumidores prefieren una muestra sobre otra. De lo contrario, se concluye que no existen diferencias significativas entre las muestras; los panelistas aceptan de igual manera las dos muestras con respecto a un determinado atributo sensorial.

Por ejemplo, si se comparan las muestras de pan elaboradas con extractos al 5 y 10% se obtiene el siguiente resultado con respecto al color:

$$|R_5 - R_6|_{\text{COLOR}} = |289 - 335| = 46 > \text{LDS}_{\text{ordenamiento}} = 44,9$$

Se rechaza la hipótesis nula. Los consumidores prefirieron los panes con extracto al 5% antes que los panes con extracto al 10% tras comparar el color de ambos. En cambio, para el atributo de sabor, se obtiene lo siguiente:

$$|R_5 - R_6|_{\text{SABOR}} = |285 - 307| = 22 < \text{LDS}_{\text{ordenamiento}} = 44,9$$

Se acepta la hipótesis nula. Luego de probarlas, la aceptabilidad de los panes elaborados con extractos al 5 o 10% fue similar. Los consumidores encontraron el sabor de ambos panes igualmente agradable/desagradable. Ambas muestras pertenecen al mismo grupo homogéneo ya que no hay distinción entre los R de ambas muestras.

Se procedió de la misma manera para las muestras restantes. En la Tabla III-17 se muestran los resultados de este test, agrupados en grupos homogéneos según los atributos evaluados.

A partir de los datos obtenidos para ambos atributos se puede inferir que tuvieron mayor preferencia aquellos panes adicionados con los menores contenidos de polvo o extracto. El pan blanco obtuvo, en general, valoraciones similares a los porcentajes de adición menores, entre 0,5 y 2,5%. Esto indica que los potenciales consumidores prefirieron de igual manera estas muestras, sin rechazar o elegir a ninguna en particular debido a su color o sabor.

Sin embargo, fue notable el modo en que la preferencia fue descendiendo conforme aumentaba el porcentaje de polvo de yerba mate. Esto confirma que la intensidad creciente del color conferido por el polvo fue provocando el rechazo de las muestras. En cambio, las variaciones en la tonalidad de los panes con extracto en su composición no fueron percibidas de igual manera por los consumidores; la preferencia fue similar para todas las muestras.

Tabla III-17. Grupos homogéneos para el test LSD según los atributos de color y sabor.

Producto	ATRIBUTO: COLOR		ATRIBUTO: SABOR		
Panes elaborados con polvo de yerba mate	Blanco	X	0,5%	X	
	0,5%	X	1,5%	X	
	1,5%	X	Blanco	X	
	2,5%	X	2,5%	X	
	5%	X	5%	X	X
	10%	X	10%	X	X
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	Blanco	X	1,5%	X	
	0,5%	X	Blanco	X	X
	1,5%	X	2,5%	X	X
	2,5%	X	0,5%	X	X X
	5%	X	5%	X	X
	10%	X	10%	X	X

Con respecto al sabor, los resultados mostraron que los jueces encontraron menos agradables a los panes elaborados con 5 y 10% de polvo; estas muestras estuvieron ubicadas por último en el orden de preferencia. Se observó un comportamiento similar en los panes formulados con extractos. Los panelistas manifestaron preferencia hacia los panes con concentraciones más diluidas de extracto, pero que no distaba mucho de la aceptación asignada a las concentraciones mayores. Esto corrobora las suposiciones hechas a partir de los resultados del test de Friedman.

Se cree que la astringencia y el amargor conferidos a los panes por el polvo o el extracto son responsables del rechazo de los consumidores, como ha sucedido en panificados elaborados con productos derivados del té (Lesschaeve y Noble, 2005; Pasrija y col., 2015).

No obstante, la adición de extractos en barras de cereal, en concentraciones mayores a las agregadas a los panes en esta investigación, logró mejores puntajes de aceptabilidad. Se cree que el sabor dulce, característico de este alimento, pudo enmascarar el sabor amargo del extracto, resultando más agradable (Chiesa y col., 2012).

Por otro lado, no se detectaron problemas de aceptabilidad en panes elaborados con hojas de té verde molidas en reemplazo de hasta el 4% de la harina de trigo. Los panes con porcentajes mayores fueron rechazados por ser muy diferentes en apariencia y sabor, con respecto al control; los panelistas percibieron aumentos en la astringencia (El Megeid y col., 2009).

El agregado de otros ingredientes en la formulación de panificados ocasionó resultados similares a los expuestos. Por ejemplo, el agregado de cáscara molida de semillas de lino les confirió a los panes una clara tonalidad parda, aunque no tuvo influencia significativa en la aceptación general debido al aspecto. La aceptabilidad general de los panes con cáscaras de

lino molidas fue garantizada hasta el 4% de agregado. Agregados mayores afectaron negativamente el sabor y la aceptabilidad global (Sęczyk y col., 2017).

También se realizaron evaluaciones sensoriales de aceptación de panes suplementados con hojas de coriandro en polvo. En cuanto al color, las adiciones de polvo de 3% y 5% tuvieron la mayor aceptación debido a que poseían un agradable tono verde. Las adiciones mayores fueron rechazadas por ser demasiado oscuras (Das y col., 2012).

Algunos autores han evaluado el efecto del enmascaramiento del color del pan sobre la percepción de los panelistas, empleando luz roja tenue en la sala donde se desarrolló la prueba y envolviendo las muestras en bolsas opacas de polietileno. Al cabo del ensayo se observó una disminución en la dispersión de los datos obtenidos (Wang y col., 2007).

Otra alternativa propuesta fue la encapsulación de extractos liofilizados de té verde en panes para disminuir la astringencia y amargor típicos de esa infusión. Las valoraciones de los panelistas fueron mejores que las halladas en los panes adicionados con subproductos de la yerba mate (Pasrija y col., 2015).

En el presente trabajo no fueron evaluados el aroma o los descriptores del sabor de los panes. Sin embargo, fue apreciable la pérdida del aroma tradicional del pan blanco con el agregado de polvo o extracto, aún en las concentraciones más bajas.

Se ha demostrado que los fenoles inhiben el aroma característico del pan horneado posiblemente de tres formas: gracias a su capacidad para atrapar compuestos dicarbonilos derivados de la fermentación de los azúcares (generados en reacciones de Maillard y oxidación de los lípidos); reaccionando con algunos componentes aromáticos; y por último porque pueden inhibir la formación de compuestos del flavor derivados de la reacción de Maillard al actuar como inhibidores de radicales libres (Ou y col., 2019).

Por otra parte, algunos consumidores manifestaron que algunos panes les resultaron astringentes y amargos, atributos conferidos por los compuestos fenólicos de la yerba mate (Lesschaeve y Noble, 2005; Pico y col., 2015).

En general, los participantes del análisis sensorial prefirieron el pan blanco por su inconfundible sabor y color (Wang y col., 2002).

III.3.6 – Recuentos microbiológicos

De acuerdo con los resultados del análisis sensorial, los panes que tuvieron mayor aceptación fueron aquellos elaborados con los contenidos menores de polvo y extracto de polvo de yerba mate. Teniendo en cuenta esto, se realizaron los recuentos de microorganismos en las siguientes muestras: pan blanco o control y panes adicionados con 0,5 y 1,5% de extracto y polvo de yerba mate.

Se realizaron las siguientes determinaciones: bacterias aerobias mesófilas totales (BAM), mohos, levaduras, coliformes totales y coliformes fecales. En la Tabla III-18 se listan los resultados del análisis microbiológico.

Tabla III-18. Análisis microbiológico de panes formulados.

Producto		BAM	MOHOS	LEVAD.	COLIF. TOT.	COLIF. FEC.
		UFC/g	UFC/g	UFC/g	NMP/g	NMP/g
Panes elaborados con polvo de yerba mate	0,5%	200	10	Ausencia	< 2	Ausencia
	1,5%	300	ausencia	Ausencia	< 2	Ausencia
Panes elaborados con extracto de polvo de yerba mate	0,5%	200	10	20	< 2	Ausencia
	1,5%	220	ausencia	Ausencia	< 2	Ausencia
Pan blanco	-	900	10	Ausencia	< 2	Ausencia

Puede observarse que los resultados se encontraron dentro de los límites de aceptación reglamentarios establecidos. La adición de los subproductos de la yerba mate no ha aumentado apreciablemente la carga microbiana del pan.

III.4 – CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en su conjunto permiten afirmar que la sustitución en el pan blanco de una parte de los ingredientes tradicionales por un subproducto de la yerba mate o su extracto ocasiona un incremento en el contenido de cenizas, proteínas y fibra dietaria en los panes.

El empleo de estos ingredientes no convencionales resulta favorable en términos del aporte de compuestos fenólicos al alimento. Se observa un incremento en el contenido de fenoles totales a medida que aumenta el porcentaje de polvo o extracto de yerba mate en los panes.

Por otro lado, la variabilidad de los resultados en los parámetros físicos y texturales de los panes indican que las diferencias existentes entre los panes con reemplazo parcial de la harina o el agua y el pan control no son percibidas por los consumidores.

El análisis sensorial demuestra que los consumidores no rechazan el nuevo producto por el color conferido y que la aceptabilidad debida al sabor es relativa al porcentaje de adición de subproducto. Resta determinar la intención de compra de este producto para inferir cómo se comportaría en el mercado.

Capítulo IV - PROPUESTA DE TRABAJOS FUTUROS

La sustitución de la harina y el agua en el pan blanco por polvo de yerba mate y sus extractos acuosos incrementó los contenidos de proteínas, fenoles y cenizas totales del sin cambios sustanciales en volumen, porosidad y textura. Para lograr una buena aceptación sensorial, se recomienda la suplementación del pan con cantidades inferiores al 2,5% de polvo de yerba mate o de sus extractos.

La realización de ensayos discriminativos permitirá establecer con mayor exactitud a partir de qué concentración de extracto o contenido de polvo el producto es rechazado por los consumidores, es decir, establecer la cantidad máxima que es posible adicionar. Otro aspecto a evaluar es la intención de compra del producto y estudiar si existe una correlación entre las medidas instrumentales de textura y el análisis sensorial. Este tipo de análisis requiere una fase de entrenamiento de los panelistas.

REFERENCIAS

- Abdul Hamid, A., y Luan, Y. (2000). Functional properties of dietary fibre prepared from defatted rice bran. *Food Chemistry*, 68(1), 15–19.
- Achiwa, Y., Furuichi, Y., y Komiya, T. (2001). The improving effects of tea catechin on rheological properties of wheat flour dough. *Bulletin of the Faculty of Bioresources*, 25–26, 31–35.
- Acosta Estrada, B., Gutiérrez Uribe, J., y Serna Saldívar, S. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152, 46–55.
- Allemandi, L., Tiscornia, M., Castronuovo, L., y Guarnieri, L. (2018). Etiquetado frontal de productos alimenticios en Argentina. *Salud Colectiva*, 14(3).
- Amoako, D., y Awika, J. (2016a). Polymeric tannins significantly alter properties and in vitro digestibility of partially gelatinized intact starch granule. *Food Chemistry*, 208, 10–17.
- Amoako, D., y Awika, J. (2016b). Polyphenol interaction with food carbohydrates and consequences on availability of dietary glucose. *Current Opinion in Food Science*, 8, 14–18.
- Ananingsih, V., Gao, J., y Zhou, W. (2013). Impact of green tea extract and fungal alpha-amylase on dough proofing and steaming. *Food and Bioprocess Technology*, 6(12), 3400–3411.
- Ananingsih, V., y Zhou, W. (2012). Effects of green tea extract on large-deformation rheological properties of steamed bread dough and some quality attributes of steamed bread. *11th International Congress of Engineering and Food*, 3–8.
- Andreasen, M., Kroon, P., y Williamson, G. (2001). Esterase activity able to hydrolyze dietary antioxidant hydroxycinnamates is distributed along the intestine of mammals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5679–5684.
- Anesini, C., Turner, S., Cogoi, L., y Filip, R. (2012). Study of the participation of caffeine and polyphenols on the overall antioxidant activity of mate (*Ilex paraguariensis*). *LWT - Food Science and Technology*, 45(2), 299–304.
- ANMAT. (2012a). Capítulo IX: Alimentos farináceos, cereales, harinas y derivados. En *Código Alimentario Argentino* (Art 643-766).
- ANMAT. (2012b). Capítulo XV: Productos estimulantes o frutivos. En *Código Alimentario Argentino* (Art 1193-1198bis).
- ANMAT. (2012c). Capítulo XVII: Alimentos de régimen o dietéticos. En *Código Alimentario Argentino* (Art 1385).
- ANMAT, y ReNaLOA. (2013a). *Criterios microbiológicos para alimentos - Código Alimentario Argentino y sus últimas actualizaciones*.
- ANMAT, y ReNaLOA. (2013b). *Metodología analítica oficial, vol II - Microorganismos patógenos*.
- ANMAT, y ReNaLOA. (2014). *Metodología analítica oficial, vol III - Microorganismos indicadores*.
- AOAC. (1998). Total dietary fiber enzymatic-gravimetric (method 985-29). *Official Methods of Analysis*.
- Badui Dergal, S. (2006). Capítulo 2: Hidratos de carbono. En *Química de los Alimentos*. Pearson.
- Barrett, A., Farhadi, N., y Smith, T. (2018). Slowing starch digestion and inhibiting digestive enzyme activity using plant flavanols/tannins— A review of efficacy and mechanisms. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 394–399.

- Belitz, H., Grosch, W., y Schieberle, P. (2009). Carbohydrates. En *Food Chemistry* (4^o). Springer.
- Boz, H. (2015). Ferulic acid in cereals - A review. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(1), 1–7.
- Bradley, R. (2010). Moisture and total solids analysis. En *Food analysis* (Cuarta ed., pp. 88–91). Springer.
- Bravo, L., Goya, L., y Lecumberri, E. (2007). LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Research International*, 40(3), 393–405.
- Brumovsky, L., Hartwig, V., y Aguirre, T. (2008). Evaluación del contenido de polifenoles totales en distintas formas de consumo de yerba mate producidas en argentina. *Informe INYM - FCEQyN - UNaM*, 1–12.
- Brumovsky, L., Peralta, J., y Fretes, R. (2005). Contenido de fibra alimentaria en infusiones de yerba mate en diferentes épocas del año. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 7, 30–33.
- Brumovsky, L., Sanchez Boado, L., y Thea, A. (2015a). Aportes nutricionales y propiedades biológicas de la yerba mate. En *La yerba mate: tecnologías de la producción y propiedades* (1^o ed, p. 438). Editorial Universitaria.
- Brumovsky, L., Sanchez Boado, L., y Thea, A. (2015b). Capítulo 12: Aportes nutricionales y propiedades biológicas de la yerba mate. En *La yerba mate: tecnología de la producción y propiedades* (p. 438). Editorial Universitaria.
- Burris, K., Harte, F., Davidson, P., Stewart, C., y Zivanovic, S. (2012). Composition and bioactive properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.): a review. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(2), 268–275.
- Carocho, M., y Ferreira, I. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51(1), 15–25.
- Castelo Branco, V., Lago, M., Minuzzo, D., Moura Nunes, N., Torres, A., Nunes, J., y Monteiro, M. (2016). Bread formulated with guava powder was enriched in phenolic and aroma compounds, and was highly acceptable by consumers. *Journal of Food Science and Technology*, 53(12), 4168–4178.
- Cauvain, S. (2015). Bread: the product. En *Technology of Breadmaking* (pp. 1–22).
- Cereals y Grains Association. (1999). Method 74-09. Measurement of bread firmness by universal testing machine. En *AACC Approved Methods of Analysis* (Vols. 74–09, pp. 7–10).
- Chai, Y., Wang, M., y Zhang, G. (2013). Interaction between amylose and tea polyphenols modulates the postprandial glycemic response to high-amylose maize starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(36), 8608–8615.
- Chiesa, L., Schlabitz, C., y Volken De Souza, F. (2012). Efeito da adição de erva-mate nas características sensoriais e físico - químicas de barras de cereais. *Revista Do Instituto Adolfo Lutz*, 71(1), 105–110.
- Collar, C., Santos, E., y Rosell, C. (2007). Assessment of the rheological profile of fibre-enriched bread doughs by response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 820–826.
- Cuculiansky, S. (2020, April). Alimentación. Argentina consume más pan que Francia. *Diario La Nación*, 1.
- Curti, E., Carini, E., Bonacini, G., Tribuzio, G., y Vittadini, E. (2013). Effect of the addition of bran fractions on bread properties. *Journal of Cereal Science*, 57(3), 325–332.

- Cutrim, C., y Cortez, M. (2018). A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 71(3), 564–578.
- Das, L., Raychaudhuri, U., y Chakraborty, R. (2012). Supplementation of common white bread by coriander leaf powder. *Food Science and Biotechnology*, 21(2), 425–433.
- De Biasi, B., Grazziotin, N., y Hofmann, A. (2009). Atividade antimicrobiana dos extratos de folhas e ramos da *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19(2 B), 582–585.
- De la Vega Ruiz, G. (2009). Proteínas de la harina de trigo: clasificación y propiedades funcionales. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 13(38), 27–32.
- De Moraes, E., Stefanuto, A., Klein, G., Boaventura, B., De Andrade, F., Wazlawik, E., Di Pietro, P., Maraschino, M., y Da Silva, E. (2009). Consumption of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8316–8324.
- Díaz, R., y Hernández, M. (2012). Propiedades reológicas y de textura de formulaciones para panificación con inclusión de quinua. *Vitae*, 19(1), 270–272.
- Dubeau, S., Samson, G., y Tajmir Riahi, H. (2010). Dual effect of milk on the antioxidant capacity of green, Darjeeling, and English breakfast teas. *Food Chemistry*, 122(3), 539–545.
- Dugo, P., Cacciola, F., Donato, P., Jacques, R., Bastos Caramão, E., y Mondello, L. (2009). High efficiency liquid chromatography techniques coupled to mass spectrometry for the characterization of mate extracts. *Journal of Chromatography A*, 1216(43), 7213–7221.
- Dunn, K., Yang, L., Girard, A., Bean, S., y Awika, J. (2015). Interaction of sorghum tannins with wheat proteins and effect on in vitro starch and protein digestibility in a baked product matrix. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(4), 1234–1241.
- El Megeid, A., Abdallah, I., Elsadek, M., y El Moneim, Y. (2009). The protective effect of the fortified bread with green tea against chronic renal failure induced by excessive dietary arginine in male albino rats. *World Journal of Dairy and Food Sciences*, 4(2), 107–117.
- Esmelindro, M., Toniazzo, G., Waczuk, A., Dariva, C., y Oliveira, D. (2002). Caracterização físico-química da erva mate: influência das etapas do processamento industrial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 22(2), 199–204.
- Ezekiel, R., Singh, N., Sharma, S., y Kaur, A. (2013). Beneficial phytochemicals in potato - a review. *Food Research International*, 50(2), 487–496.
- FAO. (1997). *Carbohydrates in human nutrition - Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation*.
- Ferrari, I., Alamprese, C., Mariotti, M., Lucisano, M., y Rossi, M. (2013). Optimisation of cake fat quantity and composition using response surface methodology. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(3), 468–476.
- Filip, R., Lotito, S., y Ferraro, G. (2000). Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. *Nutrition Research*, 20(10), 1437–1446.
- García Olmedo, F. (1964). Papel de la fermentación en la fabricación del pan. *Cereales*, 173(Sección técnica), 13–15.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W., Courtin, C., Gebruers, K., y Delcour, J. (2005). Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science and Technology*, 16(1–3), 12–30.

- Gómez Juaristi, M., Martínez López, S., Sarria, B., Bravo, L., y Mateos, R. (2018). Absorption and metabolism of yerba mate phenolic compounds in humans. *Food Chemistry*, 240(03–2017), 1028–1038.
- Gómez, M., Ronda, F., Blanco, C., Caballero, P., y Apesteguía, A. (2003). Effect of dietary fibre on dough rheology and bread quality. *European Food Research and Technology*, 216(1), 51–56.
- González Coria, J., y Horianski, M. (2018). Actividad antibacteriana in vitro de extractos hidroalcohólicos secos de yerba mate elaborada procedente de Paraguay. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 30, 1–10.
- González, E., Song, Y., Heck, C., y Ramírez Mares, M. (2010). Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): phenolics, antioxidant capacity and in vitro inhibition of colon cancer cell proliferation. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 23–34.
- Greenfield, H., y Southgate, D. (2003). *Datos de composición de alimentos*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Griffiths, D. (1986). The inhibition of digestive enzymes by polyphenolic compounds. *Nutritional and Toxicological Significance of Enzyme Inhibitors in Food*, 199, 509–516.
- Gugliucci, A. (1996). Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: Induction of decreased oxidability of human LDL in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 224(2), 338–344.
- Gullón, B., Eibes, G., Moreira, M., Herrera, R., Labidi, J., y Gullón, P. (2018). Yerba mate waste: a sustainable resource of antioxidant compounds. *Industrial Crops and Products*, 113(October 2017), 398–405.
- Gutkoski, L., Schulz, J., Sampaio, M., Rodrigues, D., y Silva, D. (2001). Avaliação de parâmetros físicos e químicos de marcas de erva - mate processadas em diferentes épocas. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 19(1), 95–104.
- Hartwig, V., Brumovsky, L., y Fretes, M. (2012). A total polyphenol content of mate (*Ilex paraguariensis*) and other plants - derived beverages. *Journal of Food Research*, 1(3), 58–67.
- Holowaty, S., Martínez, M., Brignardello, A., y Schmalko, M. (2016). Estudio comparativo: secado de yerba mate con leña de bosque implantado vs chip de madera. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 1, 59–64.
- Holtekjølen, A., y Knutsen, S. (2011). Antioxidant Activity and Phenolics in Breads with Added Barley Flour. En *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc.
- IRAM 20505. (1995). *Yerba mate. Determinación de cenizas totales*.
- Ishii, T., Mori, T., Tanaka, T., Mizuno, D., Yamaji, R., Kumazawa, S., Nakayama, T., y Akagawa, M. (2008). Covalent modification of proteins by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate through autoxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(10), 1384–1394.
- Ishikawa, A., Yamashita, H., Hiemori, M., Inagaki, E., Kimoto, M., Okamoto, M., Tsuji, H., Memon, A., Mohammad, A., y Natori, Y. (2007). Characterization of Inhibitors of Postprandial Hyperglycemia from the Leaves of *Nerium indicum*. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 53(2), 166–173.
- Isolabella, S., Cogoi, L., López, P., Anesini, C., Ferraro, G., y Filip, R. (2010). Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. *Food Chemistry*, 122(3), 695–699.
- Iwai, K., Narita, Y., Fukunaga, T., Nakagiri, O., Kamiya, T., Ikeguchi, M., y Kikuchi, Y. (2012). Study on the postprandial glucose responses to a chlorogenic acid-rich extract of decaffeinated green coffee beans in rats and healthy human subjects. *Food Science and Technology Research*, 18(6), 849–

- Jensen, S., Oestdal, H., Clausen, M., Andersen, M., y Skibsted, L. (2011). Oxidative stability of whole wheat bread during storage. *LWT - Food Science and Technology*, 44(3), 637–642.
- Jiménez, M., Amador, A., y Centrángolo, H. (2013). La producción de alimentos funcionales desde el sector primario. Perspectivas y potencialidades. *Agronomía y Ambiente*, 32, 31–47.
- Joye, I., Lagrain, B., y Delcour, J. (2009). Endogenous redox agents and enzymes that affect protein network formation during breadmaking - A review. *Journal of Cereal Science*, 50(1), 1–10.
- Juszczak, L., Fortuna, T., y Krok, F. (2003). Non - contact atomic force microscopy of starch granules surface. Part II: selected cereal starches. *Starch/Starke*, 55, 8–16.
- Kaack, K., Pedersen, L., Laerke, H., y Meyer, A. (2006). New potato fibre for improvement of texture and colour of wheat bread. *European Food Research and Technology*, 224(2), 199–207.
- Kandil, A., Li, J., Vasanthan, T., y Bressler, D. (2012). Phenolic Acids in Some Cereal Grains and Their Inhibitory Effect on Starch Liquefaction and Saccharification. *Journal of Agricultural and ...*, 60, 8444–8449.
- Klekailo, K., Scipioni, G., Silva, y C. (2018). Formulación y caracterización preliminar de una bebida a base de un extracto obtenido de un subproducto de la yerba amte. *VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 292–293.
- Koh, B., y Ng, P. (2009). Effects of ferulic acid and transglutaminase on hard wheat flour dough and bread. *Cereal Chemistry*, 86(1), 18–22.
- Lanzetti, M., Bezerra, S., Romana Souza, B., Brando Lima, A., Koatz, L., Porto, L., y Valenca, S. (2008). Mate tea reduced acute lung inflammation in mice exposed to cigarette smoke. *Nutrition*, 24(4), 375–381.
- Lesschaeve, I., y Noble, A. (2005). Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1 Suppl), 330–335.
- Liang, S., y Were, L. (2018). Chlorogenic acid induced colored reactions and their effect on carbonyls, phenolic content, and antioxidant capacity in sunflower butter cookies. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 16–22.
- Maiocchi, M., Del Vitto, L., Petenatti, M., Marchevsky, E., Avanza, M., Pellerano, R., y Petenatti, E. (2016). Multi elemental composition and nutritional value of “dumosa” (*Ilex dumosa*), “yerba mate” (*I. paraguariensis*) and their commercial mixture in different forms of use. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias*, 48(1), 145–159.
- Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M., y Lerici, C. (2000). Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science and Technology*, 11(9–10), 340–346.
- Marpalle, P., Sonawane, S., y Arya, S. (2014). Effect of flaxseed flour addition on physicochemical and sensory properties of functional bread. *LWT - Food Science and Technology*, 58(2), 614–619.
- Martins, F., Suzan, A., Cerutti, S., Paiva Arçari, D., Lima Ribeiro, M., Markowicz Bastos, D., y De Oliveira Carvalho, P. (2009). Consumption of mate tea (*Ilex paraguariensis*) decreases the oxidation of unsaturated fatty acids in mouse liver. *British Journal of Nutrition*, 101(4), 527–532.
- Marx, F., Janssens, M., Urfer, P., y Scherer, R. (2003). Caffeine and theobromine composition of mate (*Ilex paraguariensis*) leaves in five plantations of Misiones, Argentina. *Plant Foods for Human Nutrition*, 58, 1–8.

- Medina Jaramillo, C., Gutiérrez, T., Goyanes, S., Bernal, C., y Famá, L. (2016). Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers*, 151, 150–159.
- Meilgaard, M., Civille, G., y Carr, B. (2016). Basic statistical methods. En *Sensory evaluation techniques* (5° ed, pp. 394–396). CRC Press.
- Mesas, J., y Alegre, M. (2002). El pan y su proceso de elaboración. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3(5), 307–313. <https://doi.org/10.1080/11358120209487744>
- Miller, N., y Miller, J. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Prentice Hall.
- Mondal, A., y Datta, A. K. (2008). Bread baking - A review. *Journal of Food Engineering*, 86(4), 465–474.
- Morales, C., Nieto, A., Quiroga, L., y Quicazan, M. (2012). Method validation and determination of soluble and insoluble dietary fiber in wheat flour and bread. *Vitae*, 19(1), 340–342.
- Moreno, C. (2012). Un tema complejo. Normativa y alimentos funcionales. *Alimentos Argentinos*, 55(Agrobiotecnología en la Argentina, una nueva etapa), 60–63.
- Narita, Y., y Inouye, K. (2014). Inhibition of porcine pancreas α -amylase by chlorogenic acids from green coffee beans and cinnamic acid derivatives: a focus on kinetic. En *Coffee in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc.
- National Institutes of Health. (2018). *Image J*. Image Processing Analysis in Java. <https://imagej.net/>
- Neis, E., Covinich, M., y Scipioni, G. (2019). Contenido de fenoles totales en conservas artesanales de zanahorias adicionadas de extractos de yerba mate. *XVII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1021–1022.
- Ning, J., Hou, G., Sun, J., Wan, X., y Dubat, A. (2017). Effect of green tea powder on the quality attributes and antioxidant activity of whole-wheat flour pan bread. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 342–348.
- Nishinari, K., Kohyama, K., Kumagai, H., Funami, T., y Bourne, M. (2013). Parameters of texture profile analysis. *Food Science and Technology Research*, 19(3), 519–521.
- Nunes, F., y Coimbra, M. (2010). Role of hydroxycinnamates in coffee melanoidin formation. *Phytochemistry Reviews*, 9(1), 171–185.
- Oliveira Penteadó, J., Martins Volcão, L., Fernandes Ramos, D., Da Silva Júnior, F., y Muccillo Baisch, A. (2016). Atividade antimicrobiana de extratos de *Ilex paraguariensis*. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, 1(Suppl 6), 136–146.
- Ortega, J., Barreyro, A., Reis, T., Bernal, M., y Escobar, K. (2008). Fibra dietética total: métodos de determinación en pastas de oleaginosas. *Horse-Araba*, 8.
- Ou, J., Wang, M., Zheng, J., y Ou, S. (2019). Positive and negative effects of polyphenol incorporation in baked foods. *Food Chemistry*, 284(September 2018), 90–99.
- Ozdam, T., Yalcinkaya, İ., Toydemir, G., y Capanoglu, E. (2018). Polyphenol - protein interactions and changes in functional properties and digestibility. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 566–577.
- Paganini Stein, F., Schmidt, B., Furlong, E., Soares, L., Soares, M., Vaz, M., y Baisch, A. (2005). Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high - cholesterol diets. *Biological Research for Nursing*, 7(2), 146–156.
- Pamplona Mosimann, A., Wilhelm Filho, D., y Da Silva, E. (2006). Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *BioFactors*, 26(1), 59–70.

- Park, Y., y Bell, L. (2004). Determinations of moisture and ash contents of foods. En *Handbook of food analysis* (Segunda ed, pp. 55–76). Marcel Dekker, Inc.
- Pasrija, D., Ezhilarasi, P., Indrani, D., y Anandharamakrishnan, C. (2015). Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 289–296.
- Pereira, C., Souza, A., Oreste, E., Cidade, M., Cadore, S., Ribeiro, A., y Vieira, M. (2016). Acid decomposition of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) using a reflux system for the evaluation of Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Pb and Zn contents by atomic spectrometric techniques. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 27(4), 685–693.
- Pico, J., Bernal, J., y Gómez, M. (2015). Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review. *Food Research International*, 75, 200–215.
- Pluta Kubica, A., Jamróz, E., Kawecka, A., Juszczak, L., y Krzyściak, P. (2020). Active edible furcellaran/whey protein films with yerba mate and white tea extracts: Preparation, characterization and its application to fresh soft rennet-curd cheese. *International Journal of Biological Macromolecules*, 155, 1307–1316.
- Pohjanheimo, T., Hakala, M., Tahvonen, R., Salminen, S., y Kallio, H. (2006). Flaxseed in breadmaking: effects on sensory quality, aging, and composition of bakery products. *Journal of Food Science*, 71(4), 343–348.
- Pourabedin, M., Aarabi, A., y Rahbaran, S. (2017). Effect of flaxseed flour on rheological properties, staling and total phenol of Iranian toast. *Journal of Cereal Science*, 76, 173–178.
- Rathnayake, H., Navaratne, S., y Navaratne, C. (2018). Porous crumb structure of leavened baked products. *International Journal of Food Science*, 2018, 1–15.
- Ribotta, P., León, A., y Añón, M. (2001). Effect of freezing and frozen storage of doughs on bread quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 913–918.
- Rodríguez Vaquero, M., Tomassini Serravalle, L., Manca de Nadra, M., y Strasser de Saad, A. (2010). Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions. *Food Control*, 21(5), 779–785.
- Rohn, S. (2014). Possibilities and limitations in the analysis of covalent interactions between phenolic compounds and proteins. *Food Research International*, 65(PA), 13–19.
- Rohn, S., Rawel, H., y Kroll, J. (2004). Antioxidant activity of protein - bound quercetin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4725–4729.
- Rothwell, J., Madrid Gambin, F., Garcia Aloy, M., Andres Lacueva, C., Logue, C., Gallagher, A., Mack, C., Kulling, S., Gao, Q., Praticò, G., Dragsted, L., y Scalbert, A. (2018). Biomarkers of intake for coffee, tea, and sweetened beverages. *Genes and Nutrition*, 13(1), 1–18.
- Rybka, K., Sitarski, J., y Raczynska Bojanowska, K. (1993). Ferulic acid in rye and wheat grain and grain dietary fiber. *Cereal Chemistry*, 70(1), 55–59.
- Samaras, T., Camburn, P., Chandra, S., Gordon, M., y Ames, J. (2005). Antioxidant properties of kilned and roasted malts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), 8068–8074.
- Saraiva, B., Vital, A., Anjo, F., Ribas, J., y Matumoto Pintro, P. (2019). Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) addition on the functional and technological characteristics of fresh cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 56(3), 1256–1265.
- Scalbert, A., Johnson, I., y Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1 Suppl), 215–217.

- Schmalko, M., Scipioni, P., y Ferreyra, D. (2005). Effect of water activity and temperature in color and chlorophylls changes in yerba mate leaves. *International Journal of Food Properties*, 8(2), 313–322.
- Scipioni, G., Ferreyra, D., Acuña, M., y Schmalko, M. (2010). Rebaudioside A release from matrices used in a yerba maté infusion. *Journal of Food Engineering*, 100(4), 627–633.
- Scipioni, G., Ferreyra, D., y Schmalko, M. (2007). Physicochemical characterization of different trademarks of compound yerba maté and their herbs. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(4), 735–741.
- Secretaría de Regulación y Gestión Sanitaria. (2018a). Res. 2-E/2018: nuevo método análisis de yerba mate elaborada.
- Secretaría de Regulación y Gestión Sanitaria. (2018b). Res. 8/2018: incorporación del art. 1195 tris al Capítulo XV del Código Alimentario Argentino.
- Sęczyk, Ł., Świeca, M., Dziki, D., Anders, A., y Gawlik Dziki, U. (2017). Antioxidant, nutritional and functional characteristics of wheat bread enriched with ground flaxseed hulls. *Food Chemistry*, 214, 32–38.
- Shan, B., Cai, Y., Brooks, J., y Corke, H. (2007). Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): Activity against foodborne pathogenic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), 5484–5490.
- Sharma, S., Sharma, S., Kakkar, R., y Rai, V. (1992). Interference of Gallic and Chlorogenic Acid with Starch-Iodine Reaction. *Biochemie Und Physiologie Der Pflanzen*, 188(4), 267–271.
- Sivam, A., Sun Waterhouse, D., Quek, S., y Perera, C. (2010). Properties of bread dough with added fiber polysaccharides and phenolic antioxidants: A review. *Journal of Food Science*, 75(8), 163–174.
- Sosulski, F., y Imafidon, G. (1990). Amino acid composition and nitrogen - to - protein conversion factors for animal and plant foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(6), 1351–1356.
- Statpoint Technologies Inc. (2009). *Statgraphics Centurion VX.II*.
- Świeca, M., Gawlik Dziki, U., Sęczyk, Ł., Dziki, D., y Sikora, M. (2018). Interactions of green coffee bean phenolics with wheat bread matrix in a model of simulated in vitro digestion. *Food Chemistry*, 258(September 2017), 301–307.
- Świeca, M., Sęczyk, Ł., Gawlik Dziki, U., y Dziki, D. (2014). Bread enriched with quinoa leaves - The influence of protein-phenolics interactions on the nutritional and antioxidant quality. *Food Chemistry*, 162, 54–62.
- Torres, S., Grande, B., del Castillo, Q., Álvarez, F., Guerrero C., y Medina, M. (2011). Procesos de panificación en la industria alimentaria. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 11, 739–745.
- Trinh, T., y Glasgow, S. (2012). On the texture profile analysis test. *Quality of Life through Chemical Engineering, October*, 749–760.
- Turehetti, B., Pinelli, P., Buzzini, P., Romani, A., Heimler, D., Franconi, F., y Martini, A. (2005). En vitro antimycotic activity of some plant extracts towards yeast and yeast-like strains. *Phytotherapy Research*, 19(1), 44–49.
- Vanaclocha, B. V. i. (2000). Fitoterapia - yerba mate. En *Vademecum - Fitoterapia - Plantas medicinales*.
- Vieira, M., Rovaris, A., Maraschin, M., De Simas, K., Pagliosa, C., Podestá, R., Amboni, R., Barreto, P., y Amante, E. (2008). Chemical characterization of candy made of erva mate (*Ilex paraguariensis*

- A. At. Hil.) residue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(12), 4637–4642.
- Villanueva Flores, R. (2014). El gluten del trigo y su rol en la industria de la panificación. *Ingeniería Industrial*, 32, 231–246.
- Wang, J., Rosell, C., y Benedito de Barber, C. (2002). Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*, 79(2), 221–226.
- Wang, R., Zhou, W., y Isabelle, M. (2007). Comparison study of the effect of green tea extract (GTE) on the quality of bread by instrumental analysis and sensory evaluation. *Food Research International*, 40(4), 470–479.
- Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24(2), 115–119.
- Wu, Y., Chen, Z., Li, X., y Li, M. (2009). Effect of tea polyphenols on the retrogradation of rice starch. *Food Research International*, 42(2), 221–225.
- Xiao, H., Lin, Q., Liu, G., Wu, Y., Tian, W., Wu, W., y Fu, X. (2011). Effect of green tea polyphenols on the gelatinization and retrogradation of rice starches with different amylose contents. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4298–4303.
- Xiao, H., Lin, Q., Liu, G., y Yu, F. (2012). Evaluation of black tea polyphenol extract against the retrogradation of starches from various plant sources. *Molecules*, 17(7), 8147–8158.
- Zain, M., Baba, A., y Shori, A. (2017). Effect of polyphenols enriched from green coffee bean on antioxidant activity and sensory evaluation of bread. *Journal of King Saud University - Science*, Article in press, 3–7.
- Zapata, M., Moratal Ibañez, L., y López, L. (2020). Calidad de la dieta según el Índice de Alimentación Saludable: análisis en la población adulta de la ciudad de Rosario, Argentina. *Diaeta*, 38(170), 08–15.
- Zhu, F., Cai, Y., Sun, M., y Corke, H. (2008). Effect of phenolic compounds on the pasting and textural properties of wheat starch. *Starch - Stärke*, 60(11), 609–616.
- Zhu, F., Cai, Y., Sun, M., y Corke, H. (2009). Effect of phytochemical extracts on the pasting, thermal, and gelling properties of wheat starch. *Food Chemistry*, 112(4), 919–923.
- Zhu, F., Sakulnak, R., y Wang, S. (2016). Effect of black tea on antioxidant, textural, and sensory properties of Chinese steamed bread. *Food Chemistry*, 194, 1217–1223.

ANEXO: PRESENTACIONES EN EVENTOS CIENTÍFICOS

Volumen específico, porosidad y propiedades texturales de panes artesanales elaborados con extractos obtenidos de subproductos de la yerba mate. Covinich MM, Neis ER, Scipioni GP. XXI Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos, XVII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Buenos Aires, Argentina, 20 al 22 de noviembre de 2019.

Reemplazo de ingredientes por subproductos de la yerba mate o sus extractos en panes artesanales. Covinich MM, Neis ER, Scipioni GP, Felissia FE. VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Córdoba, Argentina, 1 al 3 de octubre de 2018.

Solventes de extracción de compuestos fenólicos presentes en panes elaborados con subproductos de la yerba mate. Covinich MM, Leguizamón LE, Scipioni GP. Jornadas Científico – Tecnológicas de la Universidad Nacional de Misiones. Posadas, Argentina, 9 al 11 de mayo de 2018.

Color, firmeza y perfil de textura de panes artesanales adicionados con un subproducto de la yerba mate. Covinich MM, Scipioni GP, Felissia, FE. XVI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Mar del Plata, Argentina, 18 al 20 de septiembre de 2017.