

---

# CAMBIOS FÍSICOQUÍMICOS EN MASA CONGELADA Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DEL PAN: UNA REVISIÓN

MARÍA IRENE SILVAS GARCÍA, BENJAMÍN RAMÍREZ WONG,  
PATRICIA ISABEL TORRES CHÁVEZ, ELIZABETH CARVAJAL MILLAN,  
LUIS ARTURO BELLO-PÉREZ Y JESÚS MANUEL BARRÓN HOYOS

---

## RESUMEN

Se revisaron los principales cambios fisicoquímicos que ocurren en la masa congelada y que afectan la calidad del pan. El pan elaborado de masa congelada generalmente tiene menor calidad que el de masa no congelada o fresca, ya que la masa se debilita y se obtiene un menor volumen. La calidad de los productos de masa congelada es afectada por factores tales como la formulación de la masa, el tiempo de almacenamiento, y las condiciones de congelación y descongelación. Además,

cuando el sistema de la masa se modifica en su formulación, mediante la adición de crioprotectores, de fibras y eliminación del gluten, la masa se torna completamente diferente. Es importante estudiar los mecanismos por los que la masa pierde su calidad y cómo evaluarlos, con la finalidad de entender los cambios y así poder evitarlos o modificarlos para obtener un producto de la mejor calidad.

A partir de la década de los años 50 los productores de pan han incluido el uso de la masa congelada con el fin de diversificar y modernizar su tecnología (Madrid, 1999; Rosell y Gómez, 2007). Asimismo, con la finalidad de congelar y almacenar las masas sin hornear o 'crudas', cuando no se dispone de suficiente tiempo para hornearlas (Cox, 1987). El proceso general de la elaboración de masa congelada consiste en el mezclado de los ingredientes, moldeo y almacenamiento en congelación; después del almacenamiento se

procede a fermentar y a hornear la pieza de pan (Wolt y D'Appolonia, 1984; Phimosiripol, 2009). Este proceso permite ofrecer al consumidor un producto recién elaborado en cualquier momento. Estos productos han alcanzado popularidad debido a la conveniencia de estar 'listos para hornear' (Mondal y Datta, 2007), lo que permite a personas no entrenadas la elaboración final del pan, además de su fácil distribución. Incluso, la descongelación, fermentación en piezas y el horneado se pueden llevar a cabo en los hogares o en puntos de venta, en la medida que el producto

vaya a ser consumido (Giannou *et al.*, 2003; Rosell y Gómez, 2007).

Todas esas conveniencias y ventajas han permitido que la masa congelada y los panes prehorneados congelados se hagan cada día más populares (Li *et al.*, 2011). De acuerdo a datos reportados por *Euromonitor International*, ha habido un incremento de la venta de productos de panadería congelados a nivel mundial de  $3,16 \times 10^9$  USD en el año 2004 a  $3,71 \times 10^9$  USD en 2008 (tomado de Matuda *et al.*, 2011). Esto nos da un panorama de la importancia de dichos

---

**PALABRAS CLAVE / Fermentación / Masa Congelada / Panificación / Reología /**

Recibido: 27/03/2012. Modificado: 17/05/2013. Aceptado: 22/05/2013.

**María Irene Silvas García.** Alumna del Doctorado en Ciencias de los Alimentos, Universidad de Sonora (UNISON), México.

**Benjamín Ramírez Wong.** Ph.D. en Ingeniería Agrícola, Texas A&M University, EEUU. Profesor-Investigador, UNISON, México. Dirección: Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, Col. Centro C.P. 83000. Sonora, México. e-mail: bramirez@guaymas.uson.mx

**Patricia Isabel Torres Chávez.** Doctora en Ciencias de los Alimentos, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), México. Profesora-Investigadora, UNISON, México.

**Elizabeth Carvajal Millan.** Ph.D. en Ciencia de los Alimentos, École Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier (ENSAM), Francia. Investigadora, CIAD, México.

**Luis Arturo Bello Pérez.** Doctor en Ciencias en Biotecnología de Plantas, CINVESTAV-IPN, México. Profesor-Investigador, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, IPN, México.

**Jesús Manuel Barrón Hoyos.** Ph.D., Queen Elizabeth College of London, RU. Profesor-Investigador, UNISON, México.

---

productos para la economía mundial, la industria panadera y por lo tanto de los consumidores.

A pesar de su aceptación, los productos de masa congelada, generalmente tienen menor volumen que los de masas frescas, debido principalmente a un deterioro de la levadura y la estructura de la masa (Sharadant y Khan, 2003; Panadero *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2008; Matuda *et al.*, 2008). El proceso de producción de masa congelada tiene como objetivo preservar la integridad de la masa y de las células de levadura (Serna, 2001). Sin embargo, en este proceso sigue habiendo diversos problemas para la obtención de productos de buena calidad. El almacenamiento de la masa en congelación por varias semanas causa problemas en el producto final, como lo son un decremento de la producción de gas y debilidad de la masa. Esto se ve reflejado en el volumen final del pan (Varriano-Marston *et al.*, 1980; Hosomi *et al.*, 1992; Aibara *et al.*, 2005). De acuerdo a Sahlström *et al.*, (1999), son varios los factores que juegan un papel importante en la calidad de pan producido de masa congelada, entre los que se encuentran la calidad de la materia prima, la formulación de la masa, la prefermentación, la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento en congelación. Todos estos factores afectan directamente los cambios que ocurren en el sistema relacionados con la producción de gas por la levadura, las proteínas del gluten, la viscoelasticidad de la masa y la calidad del pan. Con el fin de mejorar dicha calidad, se han buscado formas de mejorar el proceso de panificación en masa congelada a través de modificar las formulaciones, cambiar los procesos y añadir aditivos (Baier *et al.*, 2005).

Selomulyo y Zhou (2007) elaboraron un compendio de los efectos del almacenamiento en congelación sobre la estructura de la masa y la calidad del pan; además, abordaron el tema de aditivos que ayudan a la masa a mejorar su calidad, principalmente usando polisacáridos como gomas hidrocoloides, emulsificantes y oxidantes. Rossel y Gómez (2007) también recopilaron información acerca de los ingredientes y el proceso de congelación de masa para pan, así como de panes parcialmente horneados y congelados. Además de lo estudiado por dichos autores, la nueva tendencia para mejorar la calidad de productos de masa congelada es el uso de aditivos que controlen el problema de la redistribución de agua en su estructura du-

rante el almacenamiento (Asghar *et al.*, 2011). Entre los aditivos recientemente utilizados se encuentran harina de papa, miel de abeja (Kotoki y Deka, 2010), leche de soya en polvo (Simmons *et al.*, 2012), proteínas de suero de leche (Asghar *et al.*, 2011), fibras solubles (Filipovic y Filipovic, 2010), enzimas (Steffolani *et al.*, 2012), productos sin gluten, con sustitutos de azúcar, y la modificación de los procesos de la congelación de productos de panadería y prefermentaciones (Gabric *et al.*, 2011), además del uso de crioprotectores, que serán discutidos en esta revisión.

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión de los cambios fisicoquímicos que sufre la masa durante la congelación y el almacenamiento, y los efectos en la levadura, el gluten y la calidad del pan. Además, revisar cómo el uso de aditivos en masa congelada puede ayudar a la crioprotección de la levadura y a mejorar la calidad del pan.

### Cambios Fermentativos

Durante la elaboración de masa congelada ocurren cambios en la producción de CO<sub>2</sub> que determinan el volumen final del pan. Los cambios dependen tanto del potencial de fermentación de la levadura, como de la cantidad de células viables. El potencial de fermentación depende del tipo de levadura y de su capacidad para adaptarse a las bajas temperaturas (Ando *et al.*, 2005). Existen varios factores que intervienen para que la levadura se adapte a las condiciones de congelación (Hsu *et al.*, 1979). Entre esos factores se encuentran la temperatura durante la preparación de la masa, la velocidad de congelación, la presión osmótica durante la concentración de solutos en el almacenamiento en congelación (Lu y Grant, 1999; Rouille *et al.*, 2000; Selomulyo y Zhou, 2007), y la presencia o ausencia de sustancias crioprotectoras de levaduras (Tanghe *et al.*, 2004). La cantidad de células viables depende del tipo de cepa y del número de células de levadura vivas e íntegras, es decir, el estado fisiológico de la levadura. La reproducción de las células también difiere con la cantidad de azúcares fermentables disponibles para las células.

Después de un prolongado almacenamiento en congelación, la viabilidad de la levadura decrece dramáticamente (Oda *et al.*, 1986; Codrón *et al.*, 2003). En general, la viabilidad de la levadura en masa congelada

depende del estado físico del sistema: en el estado vítreo se observa una supervivencia más alta. A temperaturas por arriba de la temperatura de transición vítreo (T<sub>g</sub>, por sus siglas en inglés), los factores cinéticos y osmóticos rigen la subsistencia. El primer factor predomina durante la congelación y el segundo durante el almacenamiento (Stecchini *et al.*, 2002; Gómez *et al.*, 2008).

La producción de gas es muy importante a la hora de la fermentación de las masas para pan. Sin embargo, existe otro factor muy importante que es la capacidad de retención del gas producido, que depende de la estabilidad de la burbuja, la cual está dada por los componentes que forman su interface, y por otro lado, a la estabilidad de la matriz gluten-almidón-agua (MacRitchie, 2003; Aibara *et al.*, 2005). Durante la fermentación ocurre también el colapso de las burbujas de gas, debido a cambios en la estructura de los compuestos químicos que la forman, y por lo tanto el gas producido escapa y el volumen de pan disminuye.

En un estudio realizado por Ribotta *et al.* (2003a) incorporaron levadura comprimida a la masa y la congelaron, y encontraron que al aumentar el tiempo de almacenamiento en congelación disminuyeron las células viables en un 52,4% a los 90 días. La retención en la producción de CO<sub>2</sub> también disminuyó en 27,7% en el mismo periodo. Resultados similares fueron obtenidos por otros investigadores (Wolt y D'Appolonia, 1984; Inoue *et al.*, 1994; El-Hady *et al.*, 1996). Lorenz y Kulp (1995), sugiriendo que el aumento en el daño celular podría ser debido a que la levadura en un sistema de masa está bajo presión osmótica y en un estado de fermentación activa. Durante la fermentación activa, las células tienen una membrana plasmática más delgada que las células inactivas y, en consecuencia, son más susceptibles al daño (Bank y Mazur, 1973). Además, los compuestos orgánicos se concentran durante el tiempo de almacenamiento en congelación formando una solución concentrada en la fase acuosa, lo que puede causar la autólisis de las levaduras (Stauffer, 1993). Es importante proteger a las levaduras del daño que causan estos fenómenos.

Algunos investigadores hacen uso de levaduras crioresistentes para tratar de obtener la mayor cantidad de células viables al término del proceso (Baguena *et al.*, 1991; Ribotta *et al.*, 2003b). Pepe *et al.* (2005) observaron una gran cantidad de levadu-

ras supervivientes después de la congelación cuando incorporaron levaduras crioresistentes. Además, obtuvieron un pan con características similares a las del pan fresco.

### **Aditivos Crioprotectores de Levaduras**

En los sistemas biológicos, las dos fuentes principales de las lesiones por congelación son: ruptura por el hielo y efectos de solución, esta última provocada por la excesiva concentración de solutos intracelulares (Mazur *et al.*, 1972; Meryman *et al.*, 1977). Por ello se han utilizado nuevas formulaciones y aditivos crioprotectores, como la trealosa, prolina y glicerol, con la misma finalidad de preservar las levaduras viables, evitando el daño de las células (Wolt y D'Appolonia, 1984; Hirasawa, 2001; Stecchini *et al.*, 2002; Takano *et al.*, 2002; Codón *et al.*, 2003; Tange *et al.*, 2004; Ando *et al.*, 2005; Selomulyo y Zhou, 2007; Kim *et al.*, 2008). Los requisitos principales de la criopreservación de un cultivo de levadura son el almacenamiento a largo plazo y una alta tasa de supervivencia después de la descongelación (Bond, 1995).

#### *Trealosa*

Se ha observado que al añadir trealosa en las formulaciones de masa congelada, esta protege las levaduras y por lo tanto aumenta la producción de gas, proporcionando panes con mejor volumen y textura (Giannou y Tzia, 2008; Silvas-García, 2010). Otros estudios se han enfocado en los rangos de prefermentación, donde se ha observado que al aplicar un tiempo corto de prefermentación antes de la congelación ayuda a minimizar la pérdida de volumen de pan (Rasanen *et al.*, 1997; Le-Bail *et al.*, 2010; Gabric *et al.*, 2011). Morimoto y Seguchi (2011) propusieron añadir azúcar y levadura después de la descongelación de la masa con el fin de restaurar las levaduras perdidas durante la congelación. Esto ayudó a la fermentación de las levaduras y la calidad del pan.

El uso de trealosa exógena en bajas concentraciones es una alternativa propuesta por Giannou y Tzia (2008) para preservar la integridad de las células de levaduras. Este disacárido es naturalmente un carbohidrato de almacenamiento de las células de levadura. Asimismo, se considera un eficaz crioprotector, debido a que reduce el punto de congelación, ayu-

dando a la protección contra lesiones por deshidratación y desnaturalización de las proteínas y levaduras (Gancedo y Flores, 2004). Además, puede mejorar la asimilación de la glucosa, fructosa y sacarosa en células de levadura, con la resultante de la mejora en la capacidad de fermentación (Gancedo y Flores, 2004; Giannou y Tzia, 2008; Kim *et al.*, 2008). Huang *et al.* (2008) también encontraron que la adición de la trealosa exógena mejora la supervivencia de la levadura y la producción de CO<sub>2</sub> en masa congelada. Por otro lado, existen cultivos de levaduras que acumulan una gran cantidad de trealosa intracelular, la cual estabiliza las membranas lipídicas y protege las células de la deshidratación y del daño por congelación (Oda *et al.*, 1986). Por otro lado, un nivel entre 4-5% o menor de trealosa endógena es suficiente para garantizar la protección de la membrana celular y el citoplasma; además ayuda a recuperar la actividad metabólica y la posible reparación de los daños por la congelación. Concentraciones mayores son inefectivas; sin embargo, debería considerarse también la funcionalidad de las membranas celulares después de la congelación (Meric *et al.*, 1995).

La capacidad de proteger a las membranas durante la deshidratación, radica en la interacción con éstas, favoreciendo la permanencia del estado fluido de los lípidos, evitando así la fusión, la separación de fases y el rompimiento de las membranas (Crowe *et al.*, 1984). Las evidencias sugieren que la trealosa retarda la transición de líquido a gel mediante el reemplazo de las moléculas de agua por las de trealosa, manteniendo a las membranas en forma de cristal líquido. La trealosa funciona en este sentido incluso mejor que la sacarosa, ya que encaja entre los grupos polares de las cabezas de los fosfolípidos con los que interactúa mediante sus hidroxilos (Weisburd, 1988; Crowe *et al.*, 2001).

#### *Prolina*

Otro aditivo que funciona como crioprotector y también como osmoprotector, es la prolina (Nolte y Hanson, 1997). El efecto ocurre cuando el aminoácido se acumula en la célula de levadura de manera natural, y actúa como defensa contra el estrés. En masa congelada es importante su uso debido a que hay que cuidar a la levadura del daño por exposición a la concentración de solutos. Las

células crioprotectadas con prolina tienen mayor potencial de recuperación, comparado con otros crioprotectores tales como el glicerol. El mecanismo de acción sugerido es que las células de levadura biosintetizan prolina a partir de glutamato en el citoplasma a través de la misma vía que usan las bacterias y plantas, y también convirtiendo el exceso de prolina en glutamato en la mitocondria (Takagi, 2008).

La ingeniería genética puede hacer que los niveles de ese compuesto incrementen en las células para mejorar su resistencia al estrés (Nolte y Hanson, 1997). Se han perfilado células de *S. cerevisiae* que acumulan prolina mediante la disrupción de los genes que degradan la prolina y expresando los genes que la sintetizan a partir de glutamato para mejorar su actividad biosintética. Estas cepas modificadas presentan mayor tolerancia al estrés, incluyendo la congelación, deshidratación, oxidación y etanol. Sin embargo, la crioprotección por acumulación de prolina de forma artificial está condicionada por su concentración y localización dentro de la célula (Takagi, 2008). Aplicando prolina exógena, también puede conferir tolerancia al estrés; por ejemplo, se ha reportado que aumenta la tolerancia al enfriamiento a -7°C en diferentes microorganismos y plantas, evitando el sobre enfriamiento (Withers y King, 1979).

#### *Glicerol*

El contenido de glicerol intracelular en las levaduras *S. cerevisiae*, afecta la tolerancia al estrés por la congelación y descongelación. Las células de levadura cultivadas en medios enriquecidos con glicerol, adquieren tolerancia al estrés por congelación, al tiempo que mantienen una actividad fermentativa alta, incluso en la masa después del almacenamiento en congelación (Izawa *et al.*, 2004). Así mismo, mediante la mutación de los genes de estas células se puede aumentar la acumulación de glicerol dentro de la célula sin un suministro exógeno. El glicerol es un efectivo crioprotector en un intervalo de -196 a -20°C (Brougham y Johnson, 1981).

La adición de glicerol disminuye el efecto de rigidez de las células durante la congelación, debido a que aumenta la viscosidad progresivamente a medida que se aumenta su concentración alrededor de las células. Los resultados de crioprotección obtenidos de este modo pueden ser explica-

dos por el supuesto de que las células se vuelven rígidas a bajas temperaturas y podrían someterse a daños mecánicos cuando se somete a compresión (Nei, 1981). Por tal motivo, el glicerol es un compuesto útil a la hora de congelar las masas, para evitar el daño de las levaduras.

### Cambios en las Proteínas del Gluten y Propiedades Reológicas

Otro aspecto importante que debe considerarse para determinar la calidad de la masa son las propiedades de sus proteínas, principalmente las que forman el gluten (Shewry *et al.*, 1995). La red de gluten está formada por las proteínas gluteninas (poliméricas) y gliadinas (monoméricas). Estas proteínas al unirse entrelazadamente confieren propiedades viscoelásticas únicas en la masa, las cuales son un equilibrio entre extensibilidad y elasticidad (Tatham *et al.*, 1985; Shewry *et al.*, 2002). Además, es el gluten quien permite que la masa se expanda atrapando los gases de la fermentación, logrando una estructura esponjosa que se convertirá en la miga de pan durante la cocción (Tatham *et al.*, 1985; MacRitchie, 2003; Mondal y Datta, 2007). Cualquier cambio en estas propiedades se ve reflejado en el producto final y en su calidad.

En masa congelada se ha reportado que el daño en su estructura y los cambios en sus propiedades reológicas son debidos a cambios en la red de gluten. Los cambios están relacionados con la interrupción de las cadenas del polímero por la acción mecánica de corte durante la formación de los cristales de hielo (Varriano-Marston *et al.*, 1980, Berglund *et al.*, 1991). La ruptura y pérdida de entrecruzamiento de las cadenas de proteínas facilita la pérdida de gas en la masa durante la fermentación (Hsu *et al.*, 1979; Varriano-Marston *et al.*, 1980; Autio y Sinda, 1992; Ribotta *et al.*, 2001). Es importante analizar el tamaño de los polímeros de proteínas en la masa congelada con el fin de determinar el daño causado. Zhao *et al.* (2012) reportaron que durante el almacenamiento en congelación el contenido de grupos sulfhidrilos libres del gluten incrementó de  $9,8\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  del control a  $12,87\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  a los 120 días de almacenamiento, atribuyéndoselo a una despolimerización y deshidratación del gluten debido a la redistribución de agua y una recristalización del hielo, lo que ocasiona una ruptura en el polímero. Al

afectarse las proteínas de gluten durante la congelación y almacenamiento, se ven modificadas las propiedades viscoelásticas de las masas. La expansibilidad de la masa de pan se reduce (Aibara *et al.*, 2005), lo que da como resultado propiedades reológicas y de panificación pobres, con un debilitamiento de la masa. Una despolimerización, en consecuencia, afecta la calidad general de la masa y el pan. Es importante tomar en cuenta qué factores afectan a las proteínas durante la congelación, para cuantificarlos y buscar técnicas que ayuden a evitar esos cambios a fin de preservar la calidad de las proteínas de gluten y su funcionalidad en la masa, y por consiguiente mejorar el pan.

Las propiedades reológicas de la masa, tales como la viscoelasticidad, la adhesividad, la extensibilidad, la fuerza y la resistencia que opone cuando es sometida a una deformación, están estrechamente relacionadas con las interacciones moleculares entre los componentes de la masa, y entre las más importantes se encuentran las que se dan entre agua y proteínas (Aminlari y Majzoubi, 2002). En el caso de la masa congelada, estas interacciones se ven afectadas por los procesos de congelación y descongelación, relacionados principalmente con los cambios en las proteínas del gluten y la redistribución del agua. Después de la congelación y descongelación, las propiedades reológicas se modifican (Nicolas *et al.*, 2003). Yi y Kerr (2009) encontraron que la fuerza para la extensión de la masa congelada decrece con el tiempo de almacenamiento, el cual tiene una mayor influencia sobre la extensibilidad que la temperatura de congelación. Este efecto puede ser atribuido a un deterioro de la red de gluten, ya que la extensibilidad está relacionada con la estructura del gluten, en particular con las gluteninas de alto peso molecular. Por otro lado, esos investigadores observaron que la adhesividad aumenta durante el tiempo de almacenamiento, y que esto podría estar relacionado con una separación del agua de la red de gluten y una redistribución de ésta por la recristalización del hielo. El agua puede quedar adherida libremente a la superficie y causar el aumento en la adhesividad. En general, al estudiar las propiedades reológicas de masa congelada se ha observado que la fuerza de extensibilidad decrece y la adhesividad aumenta con el tiempo de almacenamiento en congelación, lo que en consecuencia tre-

sulta en masas débiles y menores volúmenes de pan (Autio y Sinda, 1992; Inoue *et al.*, 1994; Kenny *et al.*, 1999; Angioloni *et al.*, 2008).

La pérdida de la resistencia a la extensión de las masas indica un debilitamiento de la red de gluten. De acuerdo a Steffolani *et al.* (2012), el uso de enzimas como la glucosa oxidasa y la transglutaminasa ayuda a aumentar la resistencia a la extensión debido a que inducen la formación de puentes disulfuro entre las proteínas del gluten. Por el contrario, la enzima pentosanasa disminuye la resistencia a la extensión debido a la formación de pentosanos de menor tamaño que interactúan con las gliadinas del gluten, aumentando la viscosidad de la masa. Por otro lado, el módulo de elasticidad ( $G'$ ) evaluado con el método dinámico decrece con el almacenamiento en congelación de la masa. Sin embargo, las enzimas glucosa oxidasa y transglutaminasa ayudan a que el módulo elástico aumente, mientras que la enzima pentosanasa hace que disminuya. La adhesividad en masa congelada aumenta con el tiempo de almacenamiento, lo cual se atribuye a un incremento del agua libre por efecto de la redistribución de agua después de la congelación. El uso de pentosanasa aumenta la adhesividad debido a que decrece el tamaño de los pentosanos en la masa, provocando que se vuelva más pegajosa.

Como se ha discutido, el agua juega un papel muy importante tanto para los cambios en las proteínas como para las propiedades reológicas de la masa. Algunos autores han estudiado el uso de aditivos que aumenten la capacidad de enlazar el agua a las proteínas y mejorar su redistribución en la matriz. El uso de proteínas de suero de leche puede controlar la redistribución de agua en la estructura de la masa durante el almacenamiento. Además, protege la red de gluten en el sistema congelado, eliminando así el debilitamiento indeseable de la masa y mejorando la calidad de los productos (Asghar *et al.*, 2011).

Entre los aditivos recientemente utilizados se encuentran harina de papa, miel de abeja (Kotoki y Deka, 2010), leche de soya en polvo (Simmons *et al.*, 2012), proteínas de suero de leche (Asghar *et al.*, 2011), fibras solubles (Filipovic y Filipovic, 2010) y el uso de enzimas. Todos estos aditivos actúan enlazando agua y así evitando el deterioro de la red de gluten, la concentración de solutos y la deshidratación de las proteínas.

## Cambios en la Calidad del Pan

Además de las evaluaciones en la masa, es importante evaluar la calidad del pan. Entre los parámetros más importantes que se determinan en el pan se tienen el volumen específico, la textura, el color de la miga y el aroma. Los tres últimos parámetros pueden ser determinados tanto sensorial como instrumentalmente. En el caso de la textura, principalmente se miden los atributos de firmeza o suavidad y la masticabilidad (Giannou y Tzia, 2007). Existen varios estudios que demuestran que en masa congelada, el volumen específico de pan y las propiedades de aroma disminuyen durante el almacenamiento (Giannou y Tzia, 2007), mientras que la firmeza se incrementa (Bárceñas *et al.*, 2003). La disminución del volumen del pan no solo se debe a la pobre producción de gas por parte de las células de levadura, sino también se debe al debilitamiento de la red de gluten de la masa y la pérdida de la capacidad de retención de las burbujas de gas.

En un estudio realizado por Giannou y Tzia (2007), en panes elaborados de masa congelada, observaron un aumento en el color instrumental proporcional al almacenamiento en congelación. En la corteza el promedio incrementó de 64,5 a 71,4 durante el almacenamiento de 0 a 300 días. En la miga el color incrementó de 69,6 a 73. Los autores atribuyen los cambios en la coloración a la formación de manchas blancas en la superficie de la corteza y un color más oscuro de la miga. En contraste, afirman que el aspecto de las muestras es aceptable, según un panel entrenado, incluso después de nueve meses de almacenamiento en congelación.

Ribotta *et al.* (2003a) encontraron evidencia suficiente de que las propiedades del almidón son modificadas durante el almacenamiento en congelación. Esas modificaciones fueron evidentes durante la gelatinización del almidón después de la descongelación. Al mismo tiempo, encontraron una mayor susceptibilidad a la retrogradación del almidón por parte de las masas que fueron congeladas y descongeladas que la de masa fresca. Esto podría explicar el porqué de la pérdida de la suavidad del pan de masa congelada y que podría existir una correlación entre el almidón dañado y el aumento de la firmeza durante el tiempo de almacenamiento.

Simmons *et al.* (2012) agregaron proteínas de soya en la for-

mulación de masas para prevenir la migración de agua durante el almacenamiento en congelación; observaron que los panes que contenían dichas proteínas presentaban valores menores de dureza del pan comparados con los panes de masas de trigo congeladas. Steffolani *et al.*, (2012) utilizaron las enzimas pentosanasa, glucosa oxidasa y transglutaminasa para minimizar el daño por la congelación en masas; encontraron que tanto los panes de masas sin enzimas como los que contenían enzimas presentaron una disminución de volumen a las 3 y a las 9 semanas de almacenamiento. Sin embargo, los panes que contenían la enzima pentosanasa en diferentes concentraciones, presentaron los valores más altos de volumen de pan comparados a los de otros tratamientos. En general, el uso de enzimas mejoró la calidad del pan, pero pentosanasa fue la mejor. En cuanto a la textura del pan, todos los tratamientos de masa congelada con enzimas presentaron atributos de textura mejores comparados con el control.

Al final, los atributos de volumen y textura del pan son los principales parámetros para determinar la calidad general de este producto de masa congelada. Es importante considerar los factores que intervienen durante la congelación y el almacenamiento en congelación de las masas para preservar los atributos de calidad del pan, además de modificar los procesos y formulaciones a fin de obtener un producto mejor.

## Conclusiones

Para determinar la calidad de masa congelada y así obtener un pan con buen volumen y textura es importante considerar sus propiedades fisicoquímicas, como son las fermentativas, de las proteínas de gluten y viscoelásticas de la masa. Todas estas propiedades están relacionadas entre sí y, en conjunto, determinan la calidad del pan. Las masas congeladas sufren cambios negativos significativos en su estructura y en sus componentes que dan como resultado un producto de pobre calidad. Como se discutió en este trabajo, es importante considerar cómo es que el proceso de congelación afecta estos componentes para poder buscar estrategias que ayuden a preservar la calidad de las masas y sus productos. El estudio de la calidad de masa congelada es muy amplio y día a día se implementan nuevas formulaciones y mejoras en los procesos. Como se discutió,

la viabilidad y potencial de fermentación de las levaduras depende tanto del tipo que se utilice como de la formulación, aditivos y procesos a los que estas sean sometidas. Es importante tomar en cuenta cada uno de estos elementos a la hora de la elaboración de las masas, con la finalidad de obtener los mejores resultados en cuanto a la producción de gas después de la congelación y como consecuencia un mejor volumen de pan. En esta revisión se ha concluido que después de la descongelación la masa se debilita. Este cambio es debido principalmente, a la deshidratación de las proteínas del gluten y ruptura de su estructura, lo que afecta la calidad de los productos de panificación. Es importante preservar la funcionalidad de las proteínas para evitar el debilitamiento de la masa. También se discutió que lo más importante es la calidad del pan, considerando los factores que intervienen durante la congelación y almacenamiento de la masa, para preservar los atributos de volumen y textura de este producto.

## REFERENCIAS

- Aibara S, Ogawa N, Hirose M (2005) Microstructures of bread dough and the effects of shortening on frozen dough. *Biosci. Biotech. Biochem.* 69: 397-402.
- Aminlari M, Majzoobi M (2002) Effect of chemical modification, pH change, and freezing on the rheological, solubility, and electrophoretic pattern of wheat flour properties. *J. Food Sci.* 67: 2502-2506.
- Ando A, Suzuki C, Shima J (2005) Survival of genetically modified and self-cloned strains of commercial baker's yeast in simulated natural environments: environmental risk assessment. *Appl. Env. Microbiol.* 71: 7075-7082.
- Angioloni A, Balestra F, Pinnavaia GG, Dalla Rosa M (2008) Small and large deformation tests for the evaluation of frozen dough viscoelastic behavior. *J. Food Eng.* 87: 527-531.
- Asghar A, Anjum FM, Allen JC (2011) Utilization of dairy byproduct proteins, surfactants, and enzymes in frozen dough. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51: 374-382.
- Autio K, Sinda E (1992) Frozen doughs: rheological changes and yeast viability. *Cereal Chem.* 69: 409-413.
- Baguena R, Soriano MD, Martínez-Anaya MA, Benedito-de-Barber C (1991) Viability and performance of pure yeast strains in frozen wheat dough. *J. Food Sci.* 56: 1690-1694.
- Baier A, Handschin S, Conde B (2005) Ice in prefermented frozen bread dough—an investigation based on calorimetry and microscopy. *Cereal Chem.* 82: 251-255.
- Bank H, Mazur P (1973) Visualization of freezing damage. *J. Cell Biol.* 57: 729-742.
- Bárceñas ME, Haros M, Benedito C, Rosell CM (2003) Effect of freezing and frozen

- storage on the staling of part-baked bread. *Food Res. Int.* 36: 863-869.
- Berglund PT, Shelton DR, Freeman TP (1991) Frozen bread dough ultrastructure as affected by duration of frozen storage and freeze-thaw cycles. *Cereal Chem* 68: 105-107.
- Bond CJ (1995) Cryopreservation of yeast cultures. *Meth. Mol. Biol.* 38: 39-47.
- Brougham MJ, Johnson DB (1981) Glycerol,  $\alpha$ -glycerophosphate and other compounds as stabilizers of alcohol dehydrogenase from yeast. *Enz. Microbiol. Technol.* 3: 225-228.
- Codón AC, Rincón AM, Moreno-Mateos MA, Delgado-Jarana J, Rey M, Limón C, Rosado IV, Cubero B, Peñate C, Castrejón F, Benítez T (2003) New *Saccharomyces cerevisiae* baker's yeast displaying enhanced resistance to freezing. *J. Agric. Food Chem.* 51: 483-491.
- Cox PM (1987) *Ultracongelación de Alimentos. Guía de la Teoría y Práctica*. Acibia. Zaragoza, España. pp 374-378.
- Crowe J, Crowe L, Chapman D (1984) Preservation of membranes in anhydrobiotic organisms. The role of trehalose. *Sci.* 223: 209-217.
- Crowe JH, Crowe LM, Oliver AE, Tsvetkova N, Wolkers W, Tablin F (2001) The trehalose myth revisited: introduction to a symposium on stabilization of cells in the dry state. *Cryobiology* 43: 89-105.
- El-Hady EA, El-Samahy SK, Seibel W, Brummer JM (1996) Changes in gas production and retention in non-prefermented frozen wheat doughs. *Cereal Chem.* 73: 472-477.
- Filipovic J, Filipovic N (2010) Fibres in the dough influencing freezing and thawing kinetics. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45: 1-6.
- Gabric D, Ben-Aissa A, Le-Bail A, Monteau JY, Curic D (2011) Impact of process conditions on the structure of pre-fermented frozen dough. *J. Food Eng.* 105: 361-366.
- Gancedo C, Flores CL (2004) The importance of a functional trehalose biosynthetic pathway for the life of yeasts and fungi. *FEMS Yeast Res.* 4: 351-359.
- Giannou V, Kessoglou V, Tzia C (2003) Quality and safety characteristics of bread made from frozen dough. *Trends Food Sci. Technol.* 14: 99-108.
- Giannou V, Tzia C (2007) Frozen dough bread: quality and textural behavior during prolonged store- prediction of final product characteristics. *J. Food Eng.* 79: 929-934.
- Giannou V, Tzia C (2008) Cryoprotective role of exogenous trehalose in frozen dough products. *Food Bioprocess Technol.* 1: 276-284.
- Gómez M, Oliete B, Pando V, Ronda F, Caballero PA (2008) Effect of fermentation conditions on bread staling kinetics. *Eur. Food Res. Technol.* 226: 1379-1387.
- Hirasawa R, Yokoigawa K, Isobe Y, Kawai H (2001) Improving the freeze tolerance of baker's yeast by loading with trehalose. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65: 522-526.
- Hosomi K, Nishio K, Matsumoto H (1992) Studies on frozen dough baking. I. Effects of egg yolk and sugar ester. *Cereal Chem.* 69: 89-92.
- Hsu KH, Hoseney RC, Seib PA (1979) Frozen dough. I. Factors affecting stability of yeast doughs. *Cereal Chem.* 56: 419-424.
- Huang W, Kim Y, Li X, Rayas-Duarte P (2008) Rheofermentometer parameters and bread specific volume of frozen sweet dough influenced by ingredients and dough mixing temperature. *J. Cereal Sci.* 48: 639-646.
- Inoue Y, Sapirstein H, Takayanagi S, Bushuk W (1994) Studies on frozen doughs. III. Some factors involved in dough weakening during frozen storage and thaw-freeze cycles. *Cereal Chem.* 71: 118-121.
- Izawa S, Ikeda K, Maeta K, Inoue Y (2004) Deficiency in the glycerol channel Fps1p confers increased freeze tolerance to yeast cells: application of the *fps1Δ* mutant to frozen dough technology. *Appl Microbiol Biotechnol.* 66: 303-305.
- Kenny S, Wehrle K, Dennehy T, Arendt EK (1999) Correlations between empirical and fundamental rheology measurements and baking performance of frozen dough. *Cereal Chem.* 76: 421-425.
- Kim YS, Huang W, Guocheng D, Zhengxing P, Chung O (2008) Effect of trehalose, transglutaminase, and gum on rheological, fermentation, and baking properties of frozen dough. *Food Res. Int.* 41: 903-908.
- Kotoki D, Deka SC (2010) Baking loss of bread with special emphasis on increasing water holding capacity. *J. Food Sci. Technol.* 47: 128-131.
- Le-Bail A, Nicolitch C, Vuillod C (2010) Fermented frozen dough: impact of pre-fermentation time and of freezing rate for a pre-fermented frozen dough on final volume of the bread. *Food Bioproc. Technol.* 3: 197-203.
- Li Z, Tang X, Huang W, Liu JG, Yao Y (2011) Rheology microstructure, and baking characteristics of frozen dough containing *Rhizopus chinensis* lipase and transglutaminase. *Cereal Chem.* 88: 596-601.
- Lorenz K, Kulp K (1995) Doughs for bread and rolls in the United States. En Kulp K, Lorenz K, Brummer J (Eds.) *Frozen & Refrigerated Doughs and Batter*. Am. Assoc. Cereal Chem. St. Paul, MN, EEUU. pp. 135-153.
- Lu W, Grant LA (1999) Effects of prolonged storage at freezing temperatures on starch and baking quality of frozen doughs. *Cereal Chem.* 76: 656-662.
- MacRitchie F (2003) Fundamentals of dough formation. *Cereal Food World* 48: 173-176.
- Madrid A (1999) *Confitería y panadería: Manual de Formación*. AMV. Madrid, España. pp. 174-184.
- Matuda TG, Chevallier S, Pessôa Filho P, Le-Bail A, Tadini CC (2008) Impact of guar and xantan gums on proofing and calorimetric parameters of frozen bread dough. *J. Cereal Sci.* 48: 741-746.
- Matuda TG, Pessoa Fhilo PA, Tadini CC (2011) Experimental data and modeling of the thermodynamic properties of bread dough at refrigeration and freezing temperatures. *J. Cereal Sci.* 53: 126-132.
- Mazur P, Leibo SP, Chu HER (1972) A two-factor hypothesis of freezing injury. *Exp. Cell Res.* 71: 345-355.
- Meric L, Lambert-Guilois S, Neyfeneuf O, Richard-Molard D (1995) Cryoresistance of baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* in frozen dough: Contribution of cellular trehalose. *Cereal Chem.* 72: 609-615.
- Meryman HT, Williams RI, Douglas MSJ (1977) Freezing injury from "solution effects" and its prevention by natural or artificial cryoprotection. *Cryobiology* 14: 287-302.
- Mondal A, Datta AK (2007) Bread baking- a review. *J. Food Eng.* 86: 465-474.
- Morimoto N, Seguchi M (2011) Restoration of breadmaking properties to frozen dough by addition of sugar and yeast and subsequent processing. *Cereal Chem.* 88: 409-413.
- Nei T (1981) Mechanism of freezing injury to erythrocytes: Effect of initial cell concentration on the post-thaw hemolysis. *Cryobiology* 18: 229-237.
- Nicolas Y, Smit RJM, Van Aalst H, Esselink FJ, Weegels PL, Agterof GM (2003) Effect of storage time and temperature on rheological and microstructural properties of gluten. *Cereal Chem.* 80: 371-377.
- Nolte KD, Hanson AD (1997) Proline accumulation and methylation to proline betaine in citrus: implications for genetic engineering of stress resistance. *JASHS* 122: 18-13.
- Oda Y, Uno K, Ohta S (1986) Selection of yeasts for breadmaking by the frozen-dough method. *Appl. Env. Microbiol.* 52: 941-943.
- Panadero J, Randez-Gil F, Prieto JA (2005) Heterologous expression of type I antifreeze peptide GS-5 in baker's yeast increases freeze tolerance and provides enhanced gas production in frozen dough. *J. Agric. Food Chem.* 53: 9966-9970.
- Pepe O, Anastasio M, Villani F (2005) Improvement of frozen dough stability using a cryoresistant yeast strain and refreshment. *Cereal Chem.* 82: 239-241.
- Phimolsiripol Y (2009) Shelf life determination of frozen bread dough stored under fluctuating temperature conditions. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 43: 187-197.
- Rasanen J, Laurikainen T, Autio K (1997) Fermentation stability and pore size distribution of frozen prefermented lean wheat doughs. *Cereal Chem.* 74: 56-62.
- Ribotta PD, León A E, Añón MC (2001) Effect of freezing and frozen storage of doughs on bread quality. *J. Agric. Food Chem.* 49: 913-918.
- Ribotta PD, León AE, Añón MC (2003a), Effect of freezing and frozen storage on the gelatinization and retrogradation of amylopectin in dough baked in a differential scanning calorimeter. *Food Res. Int.* 36: 357-363.
- Ribotta PD, León AE, Añón MC (2003b) Effect of yeast freezing in frozen dough. *Cereal Chem.* 80: 454-458.
- Rosell CM, Gómez M (2007) Frozen dough and partially baked bread: an update. *Food Rev. Int.* 23: 303-319.
- Rouille J, Le Bail A, Coucoux P (2000) Influence of formulation and mixing conditions on bread making qualities of French frozen dough. *J. Food Eng.* 43: 197-203.
- Sahlstrøm S, Nielsen AO, Faergestad EM, Lea P, Park WJ, Ellekjaer MR (1999) Effect of dough processing conditions and DATEM on Norwegian hearth bread prepared from frozen dough. *Cereal Chem.* 76: 38-44.

- Selomulyo VO, Zhou W (2007) Frozen bread dough: effects of freezing storage and dough improvers. *J. Cereal Sci.* 45: 1-17.
- Serna SO (2001) *Química, Almacenamiento e Industrialización de los Cereales*. AGT. México. pp. 247-248.
- Sharadanant R, Khan K (2003) Effect of hydrophilic gums on the quality of frozen dough: II. Bread characteristics. *Cereal Chem.* 80: 773-780.
- Shewry PR, Tatham AS, Barro F, Barcelo P, Lazzari P (1995) Biotechnology of breadmaking: unravelling and manipulating the multi-protein gluten complex. *Bio/Technol.* 13: 1185-1190
- Shewry PR, Harford NG, Belton PS, Tatham AS (2002) The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Trans. R. Soc. Lond. B.* 357: 133-142.
- Silvas-García MI (2010) *Efecto de la Adición de Trealosa sobre las Propiedades Viscoelásticas y de Panificación de Masa Congelada y Calidad de Pan Tipo Bolillo*. Tesis. Universidad de Sonora. México. 120 pp.
- Simmons AL, Smith KB, Vodovotz Y (2012) Soy ingredients stabilize bread dough during frozen storage. *J. Cereal Sci.* 56: 232-238.
- Stauffer CE (1993) Frozen dough production. En Kamel B, Stauffer C (Eds.) *Advances in Baking Technology*. Blackie. Glasgow, RU. pp. 88-106
- Stecchini ML, Maltini E, Venir E, Del Torre M, Prospero L (2002) Properties of wheat dough at sub-zero temperatures and freeze tolerance of a baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *J. Food Sci.* 67: 2196-2201.
- Steffolani ME, Ribotta PD, Perez GT, Puppo MC (2012) Use of enzymes to minimize dough freezing damage. *Food Bioproc. Technol.* 5: 2242-2255.
- Takagi H (2008) Proline as a stress protectant in yeast: physiological functions, metabolic regulations and biotechnological applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 81: 211-223.
- Takano H, Naito S, Ishida N, Koizumi M, Kano H (2002) Fermentation process and grain structure of baked breads from frozen dough using freeze-tolerant yeasts. *J. Food Sci.* 67: 2725-2733.
- Tanghe A, Van Dijck P, Colavizza D, Thevelein JM (2004) Aquaporin mediated improvement of freeze tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* is restricted to rapid freezing conditions. *Appl. Env. Microbiol.* 70: 3377-3382.
- Tatham AS, Mifflin BJ, Shewry PR (1985) The beta-turn conformation in wheat gluten proteins: relationship to gluten elasticity. *Cereal Chem.* 62: 405-412
- Varriano-Marston E, Hsu H, Mahdi J (1980) Rheological and structural changes in frozen dough. *Baker's Dig.* 54: 32-34.
- Weisburd S (1988) Death-defying dehydration. *Sci. News* 133: 107-110.
- Withers L A, King P, (1979), Proline: A novel cryoprotectant for the freeze preservation of cultured cells of *Zea mays* L. *Plant Physiol.* 64: 675-678.
- Wolt M, D'Appolonia B (1984) Factors involved in the stability of frozen dough. II. The effects of yeast type, and dough additives on frozen-dough stability. *Cereal Chem.* 61: 213-221.
- Yi J, Kerr W (2009) Combined effects of freezing rate, storage temperature and time on bread dough and baking properties. *Food Sci. Technol.* 42: 1474-1483.
- Zhao L, Lin L, Guo-Qin L, Xing-Xun L, Bing L (2012) Effect of frozen storage on molecular weight, size distribution and conformation of gluten by saxs and sec-malls. *Molecules* 17: 7169-7182.

## PHYSICOCHEMICAL CHANGES IN FROZEN DOUGH AND THE EFFECT ON BREAD QUALITY: A REVIEW

María Irene Silvas García, Benjamín Ramírez Wong, Patricia Isabel Torres Chávez, Elizabeth Carvajal Millan, Luis Arturo Bello-Pérez and Jesús Manuel Barrón Hoyos

### SUMMARY

Main physicochemical changes that occur in frozen dough affecting the bread quality are reviewed. Generally, bread made from frozen dough has a lower quality than that made of non-frozen or fresh dough, since dough is weakened and a smaller volume is obtained. The quality of products made of frozen dough is affected by factors such as dough formulation, storage time, and freezing and thawing process conditions. These factors induce physicochemical changes in the dough, which reduce the

production of gas, damage gluten proteins, alter the visco-elasticity and decrease bread quality. Furthermore, when the dough system is modified in formulation by adding cryoprotectants such as fiber and by removal of gluten, the dough becomes completely different. It is important to study the mechanisms by which the dough loses its quality, and how to evaluate them, in order to understand the changes and be able to modify them so as to obtain a product of the highest quality.

## MUDANÇAS FÍSICO-QUÍMICAS EM MASSA CONGELADA E SEU EFEITO NA QUALIDADE DO PÃO: UMA REVISÃO

Maria Irene Silvas García, Benjamín Ramírez Wong, Patricia Isabel Torres Chávez, Elizabeth Carvajal Millan, Luis Arturo Bello-Pérez e Jesús Manuel Barrón Hoyos

### RESUMO

Revisam-se as principais mudanças físico-químicas que ocorrem na massa congelada e que afetam a qualidade do pão. O pão elaborado de massa congelada geralmente tem menor qualidade do que o pão de massa não congelada ou fresca, já que a massa se debilita obtendo-se um menor volume. A qualidade dos produtos de massa congelada é afetada por fatores tais como a formulação da massa, o tempo de armazenamento, e as condições de congelamento e descongelamento. Além dis-

so, quando o sistema da massa se modifica na sua formulação, mediante a adição de crioprotetores, de fibras e eliminação do glúten, a massa se torna completamente diferente. É importante estudar os mecanismos pelos que a massa perde sua qualidade e como avaliá-los, com a finalidade de entender as mudanças e assim poder evitá-los ou modificá-los para obter um produto da melhor qualidade.