



**Director de tesis**

Dr. Pablo Daniel Ribotta

**Miembros de la comisión de tesis**

Dra. Cecilia Álvarez

Dr. Gerardo Fidelio

Dr. Daniel Wunderlin

**Evaluador externo**

Dra. Cecilia Lupano

A Mariano y María Cruz

## Lista de abreviaturas

%BS	Porcentaje en base seca
50A	50% de azúcar
50G	50% de grasa
75A	75% de azúcar
75G	75% de grasa
A	Altura
a*	Equilibrio entre rojo y verde
AD	Almidón dañado
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AM	Altura máxima
ANOVA	Análisis de la varianza
ARII	Almidón resistente tipo II
ARIV	Almidón resistente tipo IV
b*	Equilibrio entre amarillo y azul
$B_1$	Campo magnético oscilante
C	Control
CAA	Código Alimentario Argentino
CPMG	Carr Purcell Meiboom Gill
CRA	Capacidad de retención de agua
D	Diámetro
D	Dimensión fractal
Def	Deformabilidad
DM	Diámetro máximo
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
$E_1$	Módulo elástico 1
$E_2$	Módulo elástico 2
EAG	Equivalente de ácido gálico
EROs	Especies reactivas del oxígeno
F	Fuerza de fractura

FA	Fracción de área
FA	Fibra de avena
FAT	Fibra alimentaria total
FG	Factor galletita
FID	Inducción de caída libre
FM	Fuerza máxima
FS	Fracción soluble
G'	Módulo elástico
G''	Módulo viscoso
h	Altura
HPLC	Cromatografía líquida de alta performance
HTB	Hatina de trigo blando
IN	Inulina
L	Luninosidad
L	Distancia entre los puntos de apoyo
PT	Polifenoles totales
PV	Pico de viscosidad
rf	Radiofrecuencia
ROI	Píxeles con regiones de interés
RVA	Analizador de viscosidad
SEM	Microscopía electrónica de barrido
SRC	Capacidad de retención de solvente
T°F	Temperatura de fijación
T <sub>0</sub>	Temperatura de inicio de gelatinización
T <sub>1</sub>	Tiempo de relajación longitudinal
T <sub>2</sub>	Tiempo de relajación transversal
Tan $\delta$	Tangente del ángulo $\delta$
T <sub>f</sub>	Temperatura de finalización de gelatinización
TF	Tiempo de fijación
T <sub>p</sub>	Temperatura de pico de gelatinización
VF	Viscosidad final

VM	Viscosidad media
$\Delta H$	Entalpía de gelatinización
$\eta$	Viscosidad
$\sigma$	Esfuerzo
$\vec{\mu}$	Momento magnético
$\vec{j}$	Momento de espín
$\vec{i}$	Momento angular
$\gamma$	Constante geomagnética
$\vec{B}_0$	Campo magnético estático

## Índice

<b>Resumen</b>	<b>1</b>
Abstract	3
<b>Capítulo 1: Introducción</b>	<b>5</b>
Objetivo general	18
Objetivos específicos	18
<b>Capítulo 2: Materiales y métodos</b>	<b>19</b>
Caracterización de harinas y fibras alimentarias	20
Elaboración de masas y galletas	24
Evaluación de masas	25
Evaluación de la calidad de las galletitas	31
Caracterización química de las galletitas	33
Evaluación sensorial	37
Análisis estadístico	38
<b>Capítulo 3: Análisis de los efectos de los principales ingredientes sobre las propiedades de las masas y galletitas</b>	<b>39</b>
Introducción	40
Procedimiento experimental	51
Resultados y discusión	54
Conclusión	112
<b>Capítulo 4: Evaluación de los efectos de incorporación de fibra alimentaria sobre las propiedades de las masas y galletitas</b>	<b>113</b>
Introducción	114
Procedimiento experimental	126
Resultados y discusión	128
Conclusión	182
<b>Capítulo 5: Evaluación de los efectos de incorporación de inulina en masas y galletitas formuladas con diferentes harinas</b>	<b>184</b>
Introducción	185
Procedimiento experimental	189
Resultados y discusión	191
Conclusión	205
<b>Capítulo 6: Efecto de la incorporación de fibra alimentaria y pulpas de frutas como reemplazo parcial de grasa y azúcar en masas y galletitas</b>	<b>207</b>
Introducción	208
Procedimiento experimental	217
Resultados y discusión	220
Conclusión	249
<b>Conclusiones generales</b>	<b>250</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>254</b>
Anexo I	282
Anexo II	284
Anexo III	288

## Resumen

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) son un problema creciente a nivel mundial. La mayoría de los factores de riesgo determinantes de estas enfermedades están relacionadas a la alimentación. Por lo tanto, las estrategias para mejorar la calidad de los alimentos apuntan a reducir el consumo de niveles de carbohidratos simples y de grasas saturadas, como también la incorporación de ingredientes saludables en los alimentos que forman parte de la dieta diaria.

Las galletitas o galletas son productos cuyo consumo se distribuye a lo largo del mundo. Sus principales ingredientes son la harina de trigo, el azúcar y la grasa que, combinados en diferentes proporciones, dan lugar a una amplia gama de texturas y sabores. En la Argentina, las galletitas dulces son de consumo masivo, fundamentalmente en niños, y se encuentran en el segundo lugar entre los productos de panificación más consumidos. El alto contenido de azúcar y grasa, hacen que sean productos poco saludables. En función de esto, las mejoras nutricionales que se logren sobre las galletitas dulces tendrán un alto impacto sobre la salud de la población. Sin embargo, las variaciones en las formulaciones generan cambios en el comportamiento de las masas durante los procesos de laminación, formación de las piezas y horneado, los que a su vez repercuten en la calidad de los productos horneados y pueden llevar a la pérdida de aceptabilidad por parte de los consumidores.

En este contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo estudiar las propiedades físico-químicas, reológicas y estructurales de las masas de galletitas con reducción en los niveles de grasa y de azúcar e incorporación de fibras alimentarias y pulpas de frutas, y su relación con la calidad tecnológica y sensorial de los productos horneados.

En una primera etapa se realizó una caracterización del sistema mediante el análisis de la función de los ingredientes principales de la masa de las galletitas y su interacción con el entorno. Se profundizó en el impacto que produce la reducción de grasa y azúcar sobre las propiedades de las masas y las galletitas. Quedó demostrado que tanto la reducción de la grasa como el azúcar modificaron las propiedades de las masas y repercutieron negativamente en la calidad la galletita. Sin embargo, fue posible lograr productos de una calidad aceptable, reduciendo estos ingredientes hasta un determinado nivel.

En la siguiente etapa del estudio, se trabajó en la incorporación de fibras alimentarias con diferentes características físico-químicas. Esto resultó en cambios de las propiedades reológicas de las masas, la calidad de las galletitas y sus características nutricionales y sensoriales. Sin embargo, el grado del efecto dependió del tipo de fibra utilizada y el nivel de

sustitución de harina. La incorporación de inulina impartió características particulares a la masa de galletitas lo que tuvo un efecto mejorador en la calidad de las galletitas. La fibra de avena mostró efectos opuestos y afectó negativamente la calidad de las piezas horneadas. La incorporación de almidones resistentes afectó levemente las propiedades de las masas y las galletitas.

Seguidamente, se incorporó inulina en masas elaboradas con harinas de muy diversas características y se demostró que el efecto mejorador de la inulina va más allá de la calidad de la harina utilizada en la formulación, a pesar de que el grado del efecto fue variado y también dependió del nivel de sustitución y la calidad de la harina utilizada.

Finalmente, en el último capítulo, se analizó el reemplazo parcial de grasa y azúcar, así como la incorporación de ingredientes que presentan un beneficio probado para la salud, como la fibra alimentaria y la pulpa de fruta. Estas variaciones en la formulación resultaron en cambios en las propiedades de las masas y la calidad de las galletitas. Se comprobó que la actividad antioxidante de las galletitas se incrementó por la incorporación de pulpas, como también la concentración y variedad de compuestos polifenólicos.

## Abstract

Chronic non-communicable diseases (NCDs) are a growing problem worldwide. Most of the risk factors that determine these diseases are related to food. Therefore, strategies to improve food quality aim to reduce consumption of simple carbohydrate and saturated fats levels, as well as the incorporation of healthy ingredients into foods that are part of the daily diet. Cookie is a worldwide consumption product. Its main ingredients are wheat flour, sugar and fat which, combined in different proportions, give rise to a wide range of textures and flavors. In Argentina short dough cookies are highly consumed, mainly in children are in the second place among the most consumed bakery products. The high sugar and fat content make them unhealthy products. Based on this, the nutritional improvements achieved on short dough cookies will have a high impact on the population health. However, variations in the formulations generate changes in the behavior of the dough during the rolling, forming and baking processes, which in turn affect the quality of baked product and may lead to loss of acceptability by consumers.

In this context, the present work aims to study the physico-chemical, rheological and structural properties of the cookie doughs with fat and sugar reduction, incorporation of dietary fibers and fruit purees their relation with technological and sensory quality of baked product.

Firstly, a characterization of the system was made by analyzing the function of the main ingredients of the cookie dough and its interaction with the matrix. The impact of the reduction of fat and sugar on the dough properties and the cookies was deepened. It was shown that both fat and sugar reduction modified the properties of the doughs and negatively impacted the quality of the cookie. However, it was possible to achieve products of an acceptable quality, reducing these ingredients to a certain level.

Secondly, we studied the incorporation of dietary fibers with different physicochemical characteristics. This resulted in changes in the rheological properties of the dough, the quality of the cookies and their nutritional and sensory characteristics. However, the degree of effect depended on the type of fiber used and the level of substitution of flour. The incorporation of inulin imparted particular characteristics to the dough which had an improving effect on the quality of the cookies. The oat fiber showed opposite effects and negatively affected the quality of the baked pieces. The incorporation of resistant starches slightly affected the properties of the doughs and the cookies.

Next, inulin was incorporated in batter made with flours of very different characteristics and it was demonstrated that the improvement effect of inulin goes beyond the quality of the

flour used in the formulation, although the effect depended on the level of substitution and the quality of the flour used.

Finally, the improvement of the partial replacement of fat and sugar and the incorporation of ingredients with proven health benefits, such as dietary fiber and concentrated fruit pulp, were analyzed. These variations in formulation resulted in changes in the properties of the dough and the quality of the cookies. It was verified that the antioxidant activity of the cookies increased by the incorporation of pulps, as well as the concentration and variety of polyphenolic compounds.

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

La galletita o galleta es un producto cuyo consumo se distribuye a lo largo del mundo. Sus principales ingredientes son la harina de trigo, el azúcar y la grasa que, combinados en diferentes proporciones, dan lugar a una amplia gama de texturas y sabores. El código alimentario argentino (C.A.A.) define a las galletitas en el Capítulo IX “Alimentos Farináceos-cereales, harinas y derivados”:

- Art. 755: “Con la denominación genérica de Galleta, se entienden los productos obtenidos por la cocción de una masa no fermentada o con escasa fermentación, elaborados en forma mecánica y constituidos por una mezcla de harina y agua, con o sin sal, con o sin manteca y/o grasas alimenticias y/o sustancias permitidas para esta clase de productos. Presentarán una forma geométrica más o menos regular, de espesor variable y se diferenciarán entre sí por los distintos agregados. Se mencionan las siguientes: galleta de molde (Marinera, de Miel, Abizcochadas y otras que se diferencian por los distintos agregados y pueden expendirse con nombre de fantasía), galleta común, galleta de puño (galleta de campo o de piso), galleta de hojaldre u hojaldrada”.

- Art. 760: "Con la denominación genérica de Galletitas y Bizcochos (Cakes, Crackers, Biscuits, etc.), se entienden numerosos productos a los que se les dan formas variadas antes del horneado de una masa elaborada a base de harina de trigo u otras o sus mezclas, con o sin agentes químicos y/o biológicos autorizados”.

Con respecto a la producción en la Argentina, las galletitas dulces se mantienen por encima de las saladas, con una relación de 60% - 40%, respectivamente (Samela G., 2011). Actualmente, en nuestro país se producen 425 mil toneladas de galletitas y bizcochos, de las cuales 35 mil toneladas son utilizadas para exportación (Informe de producto, web-alimentos argentinos). Entre 2005 y 2014 la producción creció 72,3%, alcanzando en 2014 un consumo *per cápita* alrededor de 10 kg anuales, lo que nos posiciona como el país con el mayor consumo de América, duplicando al de países como Estados Unidos y México, siendo solo superado en el mundo por Europa, donde alcanza los 15 kilogramos per cápita en lugares como Bélgica y Holanda. Las galletitas tienen en la Argentina un consumo importante ya que integran la canasta básica de alimentos (específicamente se incluyen las galletitas de agua y las dulces sin relleno), mientras que en otros lugares del mundo son considerados un "*snack*" de consumo ocasional. La categoría galletitas es la segunda más grande del mercado de productos de consumo masivo en la Argentina, ya que son consumidas en el 97% de los hogares. Además, esto se debe en parte al envasado fraccionado desde las industrias, que presenta una serie de beneficios: la prolongación de la vida útil, la mejor calidad visual del producto, la preservación de su integridad, la mayor posibilidad de brindarle calidad y seguridad alimentaria al consumidor, la información sobre ingredientes y composición nutricional, entre otros.

Las galletitas comerciales pueden ser dulces o saladas, surgiendo de esta manera una amplia variedad de productos que se clasifican de acuerdo a los ingredientes y a los procesos de producción. Una forma de clasificación es la siguiente:

➤ Galletitas crackers

Este tipo de galletitas saladas presenta una formulación muy simple: harina, grasa, agua, levadura y sal, y se caracteriza por el desarrollo de una red de gluten bien desarrollada. Las masas llevan una fermentación que se realiza típicamente en dos etapas (etapa de esponja y etapa de masa). La razón de la prolongada fermentación se centra en el desarrollo de sabor y el ablandamiento de las proteínas (Sugihara, 1978).

La masa esponjosa contiene un 55-75% de la harina total a utilizar en la formulación. Aproximadamente la mitad de grasa se añade en la etapa de esponja y generalmente nada de sal. Se amasa suavemente y se deja reposar 18 horas en cámara.

En la etapa de masas se añade más cantidad de harina y nuevos ingredientes, y se continúa con el amasado, debido a que de esta forma se reduce el crecimiento de la galleta, lo que las hace fuertes y duras en lugar de frágiles, tiernas y escamosas. La masa se fermenta nuevamente durante cuatro horas.

La masa madura se extiende, calibra, lamina, calibra nuevamente (todo esto para darle el espesor adecuado) y corta. No hay ningún relleno específico a introducir entre las laminaciones pero con frecuencia se utiliza harina para facilitar el paso por entre los rodillos. Luego de cortadas, las piezas suelen presentar una contracción del 8%.

La cocción generalmente es rápida: entre 2,5 y 3 minutos, se realiza sobre una banda de acero y las temperaturas suelen oscilar alrededor de 300 °C a la entrada, declinando hasta 250 °C al final del horno. Durante el enfriamiento se pierde humedad, quedando en la galletita un 2,5% de humedad final. La pérdida por cocción desde la masa hasta la galletita fuera del horno es alrededor de 28%, lo que implica un alto consumo energético en el horneado.

Con respecto al aspecto final de las galletitas crackers, deben tener un crecimiento uniforme entre los cortes, y las ampollas deben estar tostadas de manera pareja (Manley, 2000).

➤ Galletitas de agua

Pueden ser consideradas como crackers pero son formulaciones más sencillas, ya que sus ingredientes son harina, agua, sal y un poco de grasa. Después de la mezcla puede seguir un periodo de acondicionamiento antes de extender, en el que alguna forma de actividad proteolítica suaviza el gluten para hacerlo un poco más extensible. Se forma una masa dura que después de laminar se divide y cuece en horno muy caliente. Como la masa presenta contracción longitudinal, los cortes deben hacerse de forma rectangular y la forma de las galletitas se controla por relajación de la masa antes de ser cortadas. El tiempo de horneado suele ser de 4-

5 minutos en hornos calentados moderadamente. Las galletitas presentan superficies fuertemente vesiculadas, son bastante duras y frágiles y de sabor suave (Manley, 2000).

➤ Galletas dulces y semidulces

La masa de este tipo de galletita se caracteriza por tener la estructura de gluten bien desarrollada, pero al tener mayor contenido de azúcar y de grasa, el gluten se hace menos elástico y más extensible que en las crackers. La característica primordial de estas galletitas es la superficie lisa, que tiene un ligero brillo y textura abierta y uniforme, que la hace delicada al paladar. La representación actual de este grupo se encuentra en las denominadas “María” (Manley, 2000).

El amasado se realiza a unos 40 °C por lo que la cantidad de grasa no es un factor crítico. Por otro lado, hay suficiente cantidad de agua en la masa para disolver completamente el azúcar por lo que no tiene importancia el tamaño de los cristales. La cantidad de otros ingredientes que están presentes en pequeñas cantidades no es de gran importancia. La variable más importante en la producción de esta variedad es la calidad de la harina utilizada en la formulación (Francis, Hastings, y A., 1962)

Para formar las piezas se lamina la masa en un laminador de rodillos que luego se calibra al espesor final para el corte. Para compactar y formar la lámina continua de masa, se utiliza normalmente una máquina de tres rodillos. Después de la laminación debe haber dos o tres pares de rodillos calibradores para formar una lámina del espesor correcto para ser cortada.

Durante el horneado, la pieza puede aumentar hasta 4-5 veces el espesor y la humedad se reduce de 21% a menos de 1,5%. El proceso de horneado se realiza típicamente sobre bandas de alambre o de acero y los tiempos son entre 5 y 6,5 minutos. Luego pasan a una cinta de enfriamiento para finalmente ser empaquetadas (Manley, 2000).

➤ Obleas

Estas galletitas constituyen un grupo muy particular, ya que se obtienen con un batido simple, que contiene poco o nada de azúcar y se hornean entre un par de placas metálicas calientes. Son un producto más bien insípido, con la superficie lisa (aunque casi siempre están grabadas por las placas) y el interior con estructura celular muy abierta. Normalmente las obleas constituyen el soporte de alguna crema, a modo de “sándwich”. La calidad de las obleas se juzga por su peso, color de la superficie y uniformidad del contenido de humedad (Whiteley, 1965).

➤ Galletas con masa antiaglutinante

Las galletitas con masa antiaglutinante abarcan la gama más amplia de recetas y su producción y venta superan por mucho a todos los demás tipos. La característica principal que distingue a este grupo es la cohesividad y falta de elasticidad y extensibilidad de la masa. Las altas cantidades de grasa y de azúcar permiten la plasticidad y cohesión de la masa sin la

formación de la red de gluten, por lo que la textura de las galletitas horneadas se atribuye a la sobresaturación de azúcar, más que a la estructura proteína-almidón.

Hay un amplio campo para obtener sabores variados en las galletitas de masa sin gluten y existe una serie grande de saborizantes naturales y artificiales asociados a la edulcoración (por ejemplo manteca, caramelo, esencias de limón o cacao). La naturaleza de la masa también permite la inclusión de piezas de chocolate (chips) o de frutas secas.

Las propiedades de las masas antiaglutinantes hacen que las galletitas crezcan en diámetro durante el horneado, en lugar de encogerse como ocurre con las crackers y semidulces. Este incremento en el tamaño de las piezas es un factor muy importante a controlar durante el proceso de producción. La consistencia de la masa permite la impresión de dibujos complejos e intrincados sobre la superficie de las piezas con menor contenido graso y de azúcar. Sin embargo, las recetas más enriquecidas se expanden más durante el horneado y pueden perder algo de definición.

Como las cantidades de grasa y azúcar en estas recetas son mucho mayores, la calidad de los ingredientes adquiere más importancia. En este grupo, no se busca la formación de gluten, por lo que el contenido proteico de la harina es mucho menos significativo. Sin embargo, la capacidad de absorción de agua de la harina adquiere mucha importancia. Para la elaboración de las masas antiaglutinantes se suelen utilizar harinas de trigo blando, debido a que presentan menor contenido proteico y menor porcentaje de almidón dañado, que se traduce en una menor absorción de agua. Los niveles de agua son mucho menores al resto de los grupos, y no permiten la total disolución del azúcar presente, por lo que el tamaño de los cristales del azúcar tiene importancia en la textura de la galletita horneada (Hoseney, 1994a).

El control de calidad de las materias primas para estas masas está relacionado principalmente con la consistencia de la masa y con la expansión, desde el punto de vista del procesamiento, y con el sabor desde el punto de vista del consumidor.

Para conseguir una masa sin gluten, además de las proporciones de los ingredientes, un factor determinante es reducir el amasado al mínimo. De esta manera se plantea el problema de cómo conseguir la dispersión adecuada de los ingredientes con el mínimo de trabajo sobre la harina. Esto, se logra normalmente con un procedimiento de dos o más etapas de amasado, en el que se obtiene una crema para disolver el azúcar y emulsionar la grasa y otros ingredientes minoritarios antes de introducir la harina. Según esto, en un sistema típico en dos etapas, se colocan en la amasadora todos los ingredientes excepto la harina y se mezclan durante varios minutos a una velocidad baja. En esta etapa, denominada cremado, los objetivos son: disolver toda la sacarosa posible en el agua disponible, dispersar y disolver los sólidos de la leche, las sustancias químicas y saborizantes y emulsionar este conjunto con la grasa. El resultado es una

crema blanca semiconsistente. Luego, se añade la harina a esta crema y se procede de nuevo al amasado a velocidad baja durante un período mínimo para conseguir la dispersión uniforme de la crema por toda la harina. Se obtiene una masa más o menos desmenuzable que puede extenderse para formar una pieza adecuada para pasar al horno. En general, la segunda etapa de amasado se realiza en menos de un minuto, esperando que en este tiempo todas las partículas de harina estén recubiertas con la mínima posibilidad de que se haya desarrollado gluten. Al finalizar esta etapa la masa parece más blanda que después del reposo, ya que durante el período de reposo el agua es absorbida pasivamente por el almidón, la proteína, y otros componentes hidrofílicos de la harina, lo que hace que la masa quede menos adherente. Esta fase es muy importante y no debe ser acelerada por amasar excesivamente la harina (Steele, 1977).

Desde el punto de vista de control de proceso, la obtención de la consistencia de la masa es el factor más crítico. Es difícil predecir la consistencia que tendrá la masa luego del reposo, después de acabar el amasado. Si se considera que la masa está demasiado blanda o demasiado seca al final del amasado, no se puede incorporar más harina o más agua en esta etapa, ya que sería necesario amasarla nuevamente y cambiaría por completo las características de la masa.

Lógicamente, la consistencia es fuertemente afectada por la temperatura. La temperatura afecta la disolución del azúcar, la viscosidad del jarabe formado y la cantidad de sólidos presentes en la grasa. Por lo tanto, es necesario acondicionar las instalaciones para que la temperatura al finalizar la etapa de cremado quede constate y no demasiado alta, y también para que después de la incorporación de la harina la temperatura sea de 21 a 24 °C y la variación sea menor a 1 °C.

Con respecto a la maquinaria utilizada en la producción de galletitas antiaglutinantes, en la fase de cremado se obtienen mejores resultados con una amasadora de cizallamiento, mientras que en la segunda etapa, donde el tiempo de amasado es muy crítico, se utiliza una amasadora de velocidad baja, corte agudo y poco golpeteo, para evitar el desarrollo de la red proteica.

Una vez que la masa ha reposado, se procede a formar la pieza. Esto se puede hacer de diferentes formas, siendo las principales (por orden de importancia) (Manley, 2000):

- Moldeo rotatorio
- Laminación, calibrado y corte
- Corte con alambre
- Extrusión continua

Dependiendo de la forma en que se moldea, será la consistencia final que deba tener la masa. Así, los moldeadores pueden trabajar con masa relativamente seca y desmenuzable, pero para los últimos dos tipos se necesita consistencia mucho más blanda. El laminado, calibrado y corte es esencialmente igual que para las masas crackers y semidulces.

El sistema de corte por alambre presenta una serie de inconvenientes en el control del proceso. Generalmente estas masas son más blandas y el proceso implica la extrusión continua a través de boquillas sobre el dispositivo con el alambre cortador. El alambre tensado pasa rápidamente a intervalos, atravesando el borde de la boquilla, para cortar la masa que ha extruido. Las piezas caen en una cinta transportadora que suele ser la que se dirige al horno. La velocidad de extrusión está relacionada con la consistencia de la masa.

La extrusión continua es semejante a la de corte con alambre, con la diferencia de que en este caso, la extrusión procede sin que haya alambres para el corte y que las boquillas están conformadas para producir tiras en lugar de formas redondas. Generalmente, estas tiras se cortan en trozos cortos con un cortador oscilante antes del horneado. La banda del horno separa las piezas pero a veces el corte se realiza después de la cocción.

El moldeo rotatorio presenta varias ventajas. Se necesita menos equipamiento, pero puede haber problemas de extracción de los moldes. Es necesario observar un equilibrio entre la adhesividad de la masa y la naturaleza adhesiva del tejido de extracción del molde. Si la masa no se adhiere al tejido, no saldrá con limpieza del molde; si la masa está muy seca, abandona con facilidad el molde y puede salir por detrás del moldeador antes de que llegue a la cinta transportadora. Una masa demasiado blanda extruirá más allá de la cuchilla del moldeador y al ser comprimida contra el tejido de extracción, se formará una cola de masa aplastada detrás de cada pieza. Además de los inconvenientes que esto provoca en la apariencia de la galletita, puede ocasionar dificultades en el transporte y empaquetado del producto.

Durante el horneado de las masas antiaglutinantes, se produce un gran crecimiento de la pieza, tanto en sentido horizontal como vertical. Sin embargo, hacia el final del horneado la altura suele disminuir abruptamente. Este colapso se debe a que este tipo de galletitas no cuenta con una estructura tridimensional desarrollada para soportar el crecimiento en altura. Asociado al colapso, se produce frecuentemente el agrietamiento de la superficie, sobre todo en las masas ricas en azúcar. El crecimiento en diámetro de las piezas se da porque la viscosidad de la masa se reduce mucho al calentarse y, como la gelatinización del almidón y coagulación de proteínas son insuficientes para mantener la forma, la pieza tiende a fluir o esparcirse en la placa durante el horneado (Hoseney y Rogers, 1994).

Las humedades más frecuentes de las piezas horneadas oscilan entre 2,5 y 3%. Como los niveles de humedad en la masa son inferiores al de las crackers y semidulces, la cantidad de agua

a eliminar es inferior. Los tiempos de cocción varían entre 5 y un máximo de 20 minutos y están relacionados con el espesor de las piezas de masa.

Otro punto crítico de la producción de este tipo de galletitas es la separación de las piezas de la banda. Al salir del horno, la galletita es muy blanda por lo que hay que dejar que se enfríe y repose durante cierto tiempo antes de desprenderla de la banda. Debido a esto, es necesaria una larga carrera fuera del horno y también se puede necesitar ventilación forzada sobre la banda o incluso la refrigeración con agua por debajo de la banda. Si las galletitas se desprenden mientras están calientes, pueden deformarse o romperse.

La Figura 1.1 representa un diagrama de la sección transversal de una moldeadora típica. El rodillo A es el rodillo de presión. Es de acero y está profundamente dentado con dibujos diseñados para retener una capa de masa. Su movimiento hace que la masa de la tolva (G) sea conducida hacia la cámara de compresión, contra el rodillo B, que es un rodillo de moldeo y que suele tener un diámetro similar al del rodillo A, pero tiene una superficie lisa en la cual están grabados o insertados los moldes para conformar la pieza. Típicamente este rodillo es de bronce, que es adecuado para la grabación delicada. Es importante que este rodillo y su eje sean rígidos y no flexionen bajo la presión que la masa crea en la cámara de compresión con la acción del rodillo de presión. El rodillo de moldeo gira, como se muestra en la Figura, de forma que la masa es obligada a penetrar desde la cámara a los moldes.

Apoyado en el rodillo de moldeo, hay una cuchilla de acero, llamada rascador (D). El filo de esta cuchilla está por debajo de la línea central de los rodillos A y B donde se ejerce la mayor presión de la masa en esta cámara. La masa que ha sido forzada a entrar en el molde es cortada y el exceso pasa por el otro lado de la cuchilla y es oprimida contra la capa de masa que se adhiere al rodillo de presión.

El rodillo C es el rodillo de extracción. Tiene una cubierta de goma gruesa sobre un núcleo, y alrededor de él pasa la cinta de extracción (E). Mediante el ajuste de la posición de este rodillo en sentido vertical, se puede comprimir la cinta de extracción contra el rodillo moldeador. Este, circula en el sentido que se muestra y las piezas de la masa son sacadas de los moldes sobre la cinta transportadora de extracción.

Las piezas de masa son transportadas al punto de inflexión donde son separadas y colocadas sobre la banda del horno o bien, sobre una cinta intermedia.

En el camino de retorno al rodillo de extracción, la cinta pasa por un rascador (F) que la limpia. Esto elimina cualquier resto de masa que pudiera quedar adherida (Manley, 2000).

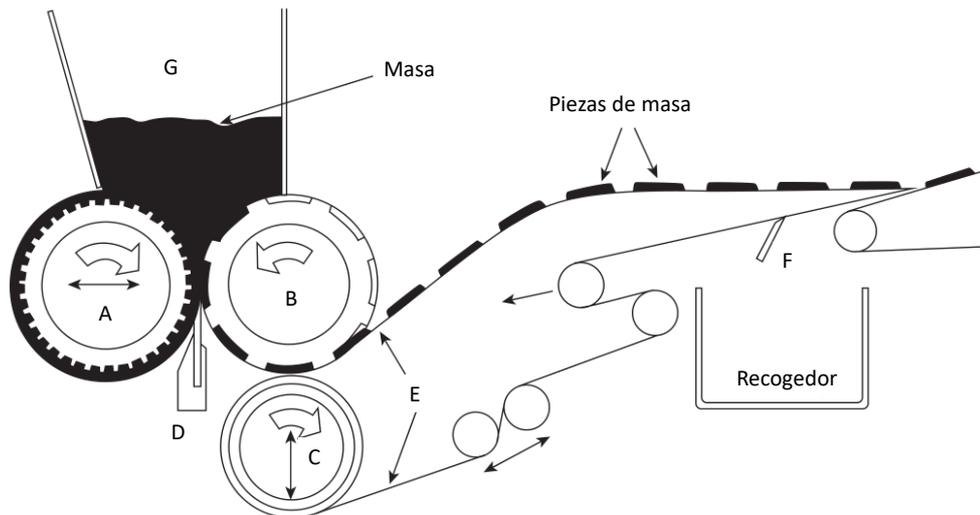


Figura 1.1. Sección transversal de una moldeadora rotatoria. A: rodillo de presión. B: rodillo de moldeo. C: rodillo de extracción. D: rascador. E: cinta de extracción. F: rascador. G: tolva.

De la descripción del proceso de producción de las galletitas antiaglutinantes, se destaca la importancia de lograr una consistencia de la masa tal que no entorpezca el funcionamiento de la maquinaria y que resulte en piezas de buena calidad. Esto, se logra manteniendo constantes tanto la cantidad como la calidad de los ingredientes. Cuando se introduce alguna variación en la formulación de las galletitas, la consistencia de la masa se ve directamente afectada y trae aparejados problemas de adherencia a las superficies de trabajo, que derivan en el mal funcionamiento de las maquinarias. Además, esto repercute en la calidad de las piezas horneadas, tanto de aspecto como de sabor, que puede llevar a la pérdida de aceptabilidad por parte del consumidor.

Dado que las galletitas con masa antiaglutinante conforman el grupo de mayor producción y consumo en nuestro país, el presente trabajo se centra en este sistema. Por lo tanto, en adelante se denominará “galletita” a las galletitas con masa antiaglutinante.

Estructuralmente, Manley (2000) describe la masa de galletitas como una mezcla de partículas de proteínas y almidón con la grasa, que está presente en forma de grandes glóbulos o bloques, interconectados en una solución de azúcar (Figura 1.2). La estructura de la masa depende de la proporción de sus componentes; en las formulaciones con grandes contenidos de grasa, ésta forma una fase continua y en las de bajo tenor graso se presenta de forma mucho más dispersa (A. Baltsavias, Jurgens, y van Vliet, 1999).

Dados los altos niveles de azúcar y la escasa cantidad de agua presentes en el sistema, la mayor parte del almidón no gelatiniza (Hoseney, 1994b). De esta manera, los gránulos

permanecen intactos y actúan como relleno de la matriz provista por los otros componentes, soportando la estructura de la galletita (Wade, 1988).

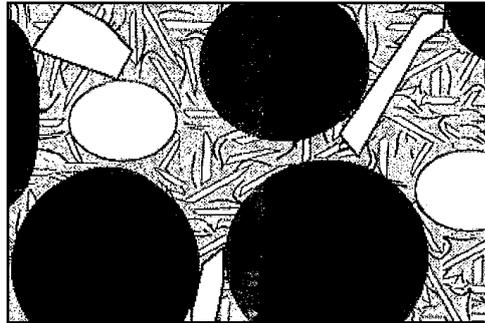


Figura 1.2. Estructura de la masa de galletitas dulces en forma de emulsión de lípidos en una solución saturada de sacarosa (gris), con una matriz que consiste en partículas dispersas de proteínas ( $\gamma$ ), gránulos de almidón (O), partículas de harina (●), con partículas alargadas de grasa (Pareyt y Delcour, 2008).

Como se mencionó, luego de mezclar los ingredientes, la masa suele dejarse reposar por un período de tiempo (al menos 30 minutos), durante el cual las proteínas y el almidón absorben el agua en forma pasiva produciendo un “secado” de la masa que facilita su posterior laminado y corte.

Durante el horneado, la masa se expande debido a la evaporación del agua y a los gases liberados por los leudantes químicos (Chevallier, Colonna, Della Valle y Lourdin, 2000), incrementando su diámetro de manera lineal durante un tiempo y luego se fija su estructura repentinamente Miller y Hoseney (1997). La expansión de la galletita es causada por dos factores: la liberación de gases por parte de los leudantes químicos y la disminución de la viscosidad provocada por la fusión de la grasa y la disolución del azúcar (Hoseney y Rogers, 1994). El diámetro final de la galletita estará controlado por la velocidad de expansión y por el tiempo en el que ocurra la fijación de la estructura (Hoseney y Rogers, 1994; Miller y Hoseney, 1997). Este tiempo está determinado por la cantidad de agua que se encuentre libre en la masa para actuar como solvente y a la fuerza de la masa (Ram y Singh, 2004). Por lo que se puede afirmar también que los componentes de la harina capaces de ligar agua juegan un importante rol en el desarrollo de la galletita.

La reología se define como la ciencia dedicada al estudio de la deformación y el flujo de los materiales. Particularmente en la industria de los alimentos esta ciencia adquiere gran

importancia, ya que permite elucidar la estructura y composición de las materias primas y los productos, y analizar los cambios estructurales que ocurren durante el proceso de elaboración.

A nivel industrial, el comportamiento reológico es un aspecto muy importante en la elaboración de galletitas, ya que influye tanto en la procesabilidad como en la calidad del producto final (Piteira, Maia, Raymundo y Sousa, 2006).

Cuando se introducen modificaciones en la formulación de los alimentos en general, y particularmente en las galletitas, la reología de las masas puede cambiar sustancialmente, ya que como se mencionó anteriormente, se trata de un sistema muy complejo, compuesto por una fase líquida, donde hay grasa y agua, y una fase sólida compuesta por el almidón, proteínas, azúcar, entre otros. Algunos de los sólidos pueden estar disueltos en el agua y parte de la grasa puede estar en estado sólido. Además, las propiedades viscoelásticas de la masa cambian con el tiempo. La consistencia de la masa es de gran importancia, sobre todo a gran escala, para garantizar el buen funcionamiento de las máquinas. Éstas, presionan las masas continuamente, por lo que cambios de consistencia pueden generar que la masa se adhiera a las máquinas o a las superficies de trabajo (Manley, 2000). Por lo tanto, las modificaciones en la reología de las masas generan problemas en la procesabilidad de las galletitas y además se traducen en cambios en la calidad del producto horneado, que puede significar la pérdida de aceptabilidad por parte del consumidor.

La calidad galletitera puede ser resumida en dos términos generales. El primero, es el tamaño de la galletita, tanto el diámetro o el ancho como la altura, siendo esperable una galletita delgada y de buen diámetro. El segundo, es su textura o consistencia a la mordida. Las galletitas de buena calidad resultan tiernas a la mordida (Hoseney, 1994b). Otros parámetros que suelen medirse para determinar la calidad de las galletitas es el color y la estructura superficial: es deseable que la galletita presente un patrón de agrietamiento uniforme.

Para evaluar la calidad galletitera se realiza una formulación sencilla que permita observar diferencias cuando se modifica alguno de los ingredientes. La calidad final de una galletita va a estar determinada por la calidad y cantidad de sus ingredientes principales: harina, grasa, azúcar y agua.

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) son un problema creciente a nivel mundial. Entre las más comunes se mencionan la diabetes, enfermedades cardiovasculares, enfermedades crónicas respiratorias y ciertos tipos de cáncer, entre otros. Las ECNT son la principal causa de muerte a nivel global (fueron causantes del 65% de las defunciones en la Argentina en 2009 y actualmente afectan al 81% de la población). A pesar de que estas

enfermedades originan más del 70% de muertes prematuras a nivel mundial, reciben menos del 1% de los fondos destinados a asistencia oficial al desarrollo para la salud.

Según la OMS, cinco de los siete principales factores determinantes de la salud están ligados a la alimentación. Ante esto, se plantean una serie de estrategias para mejorar la calidad de los alimentos consumidos. Algunas de estas estrategias apuntan a reducir el nivel de azúcar y de grasa y a incorporar ingredientes saludables en los alimentos que forman parte de la dieta diaria (*Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas*, 2002). Dado el alto consumo de galletitas en nuestro país, las modificaciones introducidas en la composición de este grupo de alimentos tendrán un gran impacto sobre la calidad de la alimentación. La importancia de disminuir el contenido de grasas y azúcares simples en las galletitas para mejorar su calidad nutricional excede el volumen de su consumo, debido a que se trata de productos de fácil transporte y almacenamiento, larga vida útil y aceptados por todas las franjas etarias, fundamentalmente por los niños.

En este contexto, el presente trabajo apunta a estudiar acabadamente el complejo sistema de las galletitas antiaglutinantes, con la idea de lograr un producto que tenga un impacto positivo en la alimentación, sin modificar las características de la masa, de forma tal que sea factible su producción industrial, manteniendo la calidad y aceptación por parte de los consumidores.

A lo largo de este trabajo, se han ido variando ingredientes de la formulación de galletitas para lograr comprender cómo cambia la interacción entre los componentes.

En la primera etapa se hizo una completa caracterización del sistema, mediante el análisis de la función de cada uno de los ingredientes principales de la masa de las galletitas y su interacción con el entorno. A partir de estos resultados, en los capítulos siguientes se estudió la incorporación de fibras alimentarias en la formulación las masas. Finalmente, en el último capítulo, se intentó generar un producto con mejora en la calidad nutricional con reemplazo parcial de grasa y azúcar por pulpas de fruta y fibras, con una calidad tecnológica aceptable.

El estudio de las galletitas dulces tuvo su auge en las décadas de 1980-1990, cuando se realizaron numerosas investigaciones con la finalidad de conocer la estructura de la masa y el comportamiento de ésta cuando se varía la calidad y/o cantidad de los ingredientes utilizados en la formulación. Por otro lado, se intentó establecer relaciones entre la consistencia de las masas y la calidad del producto horneado ( a. Baltsavias, Jurgens, y van Vliet, 1997; L. C. Doescher, Hosene y, Milliken, y Rubenthaler, 1987; L. Doescher y Hosene y, 1985; Fu, Mulvaney, y Cohen, 1997; Gaines, 1985, 1990; Gaines y Finney, 1989; Gaines, Kassuba, y Finney, 1994; Leon, Rubiolo, y Anon, 1996; Maache-Rezzoug, Bouvier, Allaf, y Patras, 1998; Miller y Hosene y, 1997,

1997, Miller, Hosney, y Morris, 1997a, 1997b; Piazza y Masi, 1997; L Slade y Levine, 1994). En la década de 2000 las investigaciones se llevaron a cabo principalmente por las industrias galleteras y, por lo tanto, estos estudios no fueron publicados. Por este motivo, la mayor parte de bibliografía disponible relacionada a la investigación básica del sistema, no es actual. En los últimos 10 años, se han retomado las investigaciones de este sistema en el ámbito científico con una tendencia a mejorar el perfil nutricional (Bilgiçli, Ibanoglu, y Herken, 2007; Drusch y Berg, 2008; Jacob y Leelavathi, 2007; M Kweon, Donelson, Slade, y Levine, 2010; Meera Kweon, Slade, Levine, y Gannon, 2014; Meera Kweon, Slade, Levine, y Souza, 2010; Pareyt, Talhaoui, *et al.*, 2009; Pareyt, Brijs, y Delcour, 2009, 2010; Pareyt y Delcour, 2008; Pareyt, Van Steertegem, Brijs, Lagrain, y Delcour, 2010; Pareyt, Wilderjans, Goesart, Brijs, y Delcour, 2008; Patrignani, Rinaldi, y Lupano, 2016; Pauly, Pareyt, Lambrecht, Fierens, y Delcour, 2013; Sudha, Srivastava, Vetrmani, y Leelavathi, 2007; Van Steertegem *et al.*, 2013).

En el presente trabajo de tesis se realizó un estudio acabado de las características de la masa de las galletitas y su relación con la calidad del producto horneado, como también con la cantidad y calidad de los ingredientes con los que fueron formuladas. Se realizó un seguimiento detallado desde la materia prima, pasando por las características reológicas de la masa y el comportamiento de ésta durante el horneado, hasta llegar a la galletita. El foco del trabajo fue el mejoramiento del perfil nutricional de las galletitas, mediante la incorporación de ingredientes con probado beneficio sobre la salud, intentando no modificar la calidad del producto, de manera que la aceptación por parte de los consumidores no se vea afectada. Por otro lado, se utilizaron metodologías novedosas en este sistema, como son la resonancia magnética nuclear y los análisis térmicos, en busca de datos que ayuden a explicar los cambios en el comportamiento de la masa ante las variaciones de ingredientes.

## Objetivo general

Estudiar las propiedades físico-químicas, reológicas y estructurales de las masas de galletitas con reducción en los niveles de grasa y de azúcar e incorporación de fibras alimentarias y pulpas de frutas, y su relación con la calidad tecnológica y sensorial de los productos horneados.

## Objetivos específicos

1. Caracterizar el sistema mediante la determinación de los efectos de la reducción de grasas y azúcares simples sobre las características reológicas, estructurales y tecnológicas de masas y su relación con las propiedades nutricionales, sensoriales y tecnológicas de galletitas.
2. Caracterizar químicamente diferentes ingredientes de fácil acceso y bajo costo que puedan incorporarse en la formulación de galletitas para sustituir azúcares simples y grasas saturadas.
3. Determinar los efectos de la incorporación de fibra alimentaria sobre las propiedades de las masas y la calidad de las galletitas.
4. Formular galletitas buscando un alimento que minimice los factores de riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles.

# CAPÍTULO 2

## MATERIALES Y MÉTODOS

## Caracterización de harinas y fibras alimentarias

### Análisis físico-químicos

- Humedad: el contenido de humedad se determinó por diferencia de pesada antes y después de calentar 5,00±0,01 g de harina a 135±2 °C durante dos horas en estufa isotérmica de calentamiento eléctrico con circulación de aire forzado (American Association of Cereal Chemistry AACC, 2000b).

- Cenizas: se determinó por diferencia de pesada antes y después de incineración controlada de 5,00±0,01 g de harina en una mufla a 525 °C durante dos horas, según el método de la AACC (American Association of Cereal Chemistry (AACC, 2000a).

- Gluten húmedo (American Association of Cereal Chemistry AACC, 2000b). El contenido de gluten húmedo de las harinas se determinó a partir del lavado manual de una masa armada con 10 g harina y 6 mL de agua. Una vez removidos todos los componentes que no forman parte del gluten, como el almidón, los pentosanos y las proteínas solubles, el gluten obtenido se expresó como porcentaje de peso de la muestra. El contenido de gluten húmedo es un indicativo de la capacidad que poseen las proteínas para formar gluten, por lo tanto, es un parámetro que comúnmente se utiliza para predecir la calidad panadera de una harina (Gómez Pallarés, León, y Rosell, 2006).

- Capacidad de retención de solvente (SRC) (American Association of Cereal Chemistry AACC, 2000a). Este método evalúa la capacidad que posee una harina de retener cuatro solventes independientes luego de la centrifugación. Para la determinación se utilizaron cuatro soluciones diferentes: sacarosa 50% p/p, carbonato de sodio 5% p/p, ácido láctico 5% p/p y agua destilada. A partir de esta determinación se obtiene un patrón de comportamiento que luego se relaciona con la calidad de las harinas para elaborar diferentes productos de panificación: generalmente SRC ácido láctico se asocia con las características de las gluteninas de la harina, SRC carbonato de sodio con los niveles de almidón dañado, SRC sacarosa con las características de los pentosanos y SRC agua es afectada por todos los constituyentes hidrofílicos de la harina.

- Almidón dañado. El contenido de almidón dañado se determinó mediante hidrólisis enzimática con  $\alpha$ -amilasa fúngica (American Association of Cereal Chemistry AACC, 1999a) y posterior titulación de azúcares reductores (American Association of Cereal Chemistry AACC, 1999b). A partir de esta técnica es posible determinar el porcentaje de almidón en harinas que es susceptible a la hidrólisis con  $\alpha$ -amilasa. El almidón dañado presente se define como los gramos de almidón sujetos a la hidrólisis enzimática por cada 100 g de muestra, sobre una base del 14% de humedad.

- Contenido de proteínas, mediante el método de Kjeldahl (American Association of Cereal Chemistry AACC, 1999b). El contenido de nitrógeno se determinó por el Micro Método de Kjeldahl. La determinación se llevó a cabo en tres etapas: 1. Mineralización: se mineralizó toda la materia orgánica presente en 100 mg de harina con  $H_2SO_4$  a  $400^\circ C$ , para lo cual se empleó un bloque de digestión MB-6, Raya (R. Espinar SL, España), 2. Destilación: el amoníaco resultante, a partir de la forma de  $NH_4HSO_4$ , se destiló sobre ácido bórico en una unidad de destilación VELP Científica Modelo UDK 126 A (Milán, Italia), 3. Titulación: el amoníaco recolectado como  $NH_4H_2BO_4$  se tituló con ácido clorhídrico. El contenido porcentual de proteínas totales se calculó como:  $\%N \times 5,7$ ; donde  $\%N$  es el porcentaje de nitrógeno determinado por titulación y 5,7 el factor que se utiliza para proteínas de cereales.

Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

#### Propiedades de hidratación

Se determinó la humedad de las fibras y almidones resistentes utilizados para la elaboración de las galletitas (American Association of Cereal Chemistry AACC, 2000b). Con el objetivo de conocer la fracción soluble (FS) y la capacidad de retención de agua (CRA) de las fibras (inulina, fibra de avena, almidón resistente tipo II y almidón resistente tipo IV), del almidón nativo y de la harina utilizadas, se colocó  $1,000 \pm 0,001$  g de cada muestra en un tubo cónico con 30 mL de agua destilada, se vortereó y se dejó reposar durante 18 horas a temperatura ambiente ( $25^\circ C$ ). Luego, las muestras fueron centrifugadas a  $2000g$  por 30 minutos. El sólido hidratado y el sobrenadante fueron cuantitativamente separados y pesados. Se secaron a  $105^\circ C$  (hasta peso constante) y el residuo seco se pesó para obtener los valores de capacidad de retención de agua (g de agua/g residuo seco del sólido hidratado) y la fracción soluble (g de sólidos solubles del sobrenadante/100 g de muestra). El ensayo se realizó por triplicado.

#### Microscopía electrónica de barrido

La ultraestructura de las partículas de fibras y almidones resistentes fueron estudiados mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Las muestras se montaron sobre un portamuestras y se recubrieron con una fina capa de cobre (30 nm espesor) mediante un sistema de recubrimiento por pulverización catódica. Para realizar las observaciones se utilizó un microscopio de barrido electrónico FE-SEM Sigma bajo condiciones de alto vacío ( $10^{-4}$  Pa) a un voltaje de aceleración de 5 kV. Las fotografías se tomaron utilizando un software de captura automática de imágenes. Se obtuvieron imágenes con magnificaciones entre 100x y 3000x.

### Distribución del tamaño de partícula

La distribución de tamaño de las partículas de las fibras y la harina se determinó por difracción láser Horiba (LA 960, Irvine, California). Esta técnica consiste en medir el tamaño de las partículas por difracción de un haz de luz láser. Las partículas expuestas a un rayo láser paralelo desvían la luz con un ángulo fijo que depende de su tamaño, por lo que este método se basa en que el ángulo de difracción es inversamente proporcional al tamaño de la partícula. A partir de esto, la distribución de la intensidad de la luz dispersada se utiliza para calcular la distribución del tamaño de partícula de un conjunto de partículas.

Para determinar el tamaño de las partículas secas, se colocaron entre 12 y 15 g de muestra en la tolva y se midió cuando la transmitancia se observó dentro de los parámetros establecidos. Se utilizó un flujo de aire de 0,40 MPa y la velocidad del alimentador fue 75. Para la determinación del tamaño de las partículas hidratadas en agua las muestras se transfirieron directamente al tanque de dispersión del analizador de tamaño de partícula conteniendo agua *micropore* filtrada. La medición se tomó inmediatamente, ya que en ensayos previos, éste fue determinado como el momento óptimo.

Los parámetros de distribución de tamaño evaluados fueron: distribución porcentual de volumen de partícula y diámetro medio de partícula. Las mediciones se realizaron por triplicado.

### Análisis de las propiedades de viscosidad de las mezclas de harina y fibras

Las propiedades de viscosidad se determinaron a través de un Viscoanalizador Rápido (RVA)(RVA series 4500, Perten instruments). Para la determinación, una dispersión de harina en agua es calentada, enfriada y sometida a agitación constante (fuerza de corte) bajo condiciones controladas. Durante este ensayo se evalúan los cambios de viscosidad del sistema en función del tiempo y la temperatura (Figura 2.1), lo que permite estudiar el perfil de viscosidad de las mezclas de harina y fibra. Para la completa caracterización de las mezclas, se realizaron dos tipos de ensayos:

- Viscosidad de las mezclas de harina y fibra en agua. Las suspensiones de 3,5 g de harina y fibra (humedad conocida) y  $25 \pm 0,1$  mL de agua destilada (0,88 % fracción de volumen de agua) se calentaron a 50 °C, mientras se agitó a 160 rpm durante 10 s para la dispersión completa de la mezcla. La suspensiones se mantuvieron a 50 °C durante 1 min, y posteriormente se calentaron hasta 95 °C a una velocidad de calentamiento de 9,4 °C/min y una velocidad de agitación de 960 rpm. El sistema se mantuvo a 95 °C durante 2,5 minutos, y finalmente se enfrió a 50 °C a una velocidad de enfriamiento de 11,8 °C/min.

Se registró la viscosidad y la temperatura en función del tiempo. A partir de estas curvas (Figura 2.1) se obtuvieron cinco parámetros: el pico de viscosidad (PV), la viscosidad media (VM), viscosidad final (VF), “breackdown” (PV – VM) y “setback” (VF – VM). El pico de viscosidad (PV) es la máxima viscosidad que el sistema puede adquirir, se origina cuando un número suficiente de gránulos de almidón de la harina de trigo se hinchan como consecuencia de la absorción de agua y la temperatura. Luego de alcanzar este valor, la viscosidad del sistema cae levemente debido a la ruptura de algunos gránulos y a que las moléculas, principalmente de amilosa, liberadas al medio durante la gelatinización se orientan en sentido del flujo, la viscosidad en este punto es denominada viscosidad media (VM). Durante el enfriamiento de la pasta, la viscosidad comienza a aumentar nuevamente hasta lo que se denomina viscosidad final (VF), este incremento en la viscosidad se encuentra relacionado con la reasociación de las moléculas de amilosa. El “breackdown” es una medida de la facilidad con la que los gránulos hinchados pueden ser desintegrados por acción de las fuerzas de corte. El “setback” es una medida de la tendencia que poseen las moléculas de amilosa a retrogradar durante el enfriamiento de la pasta. Este parámetro depende de la tendencia que tenga la amilosa para formar un gel, o lo que es lo mismo, de la capacidad de gelación de la amilosa (Copeland, Blazek, Salman, y Chiming Tang, 2009).

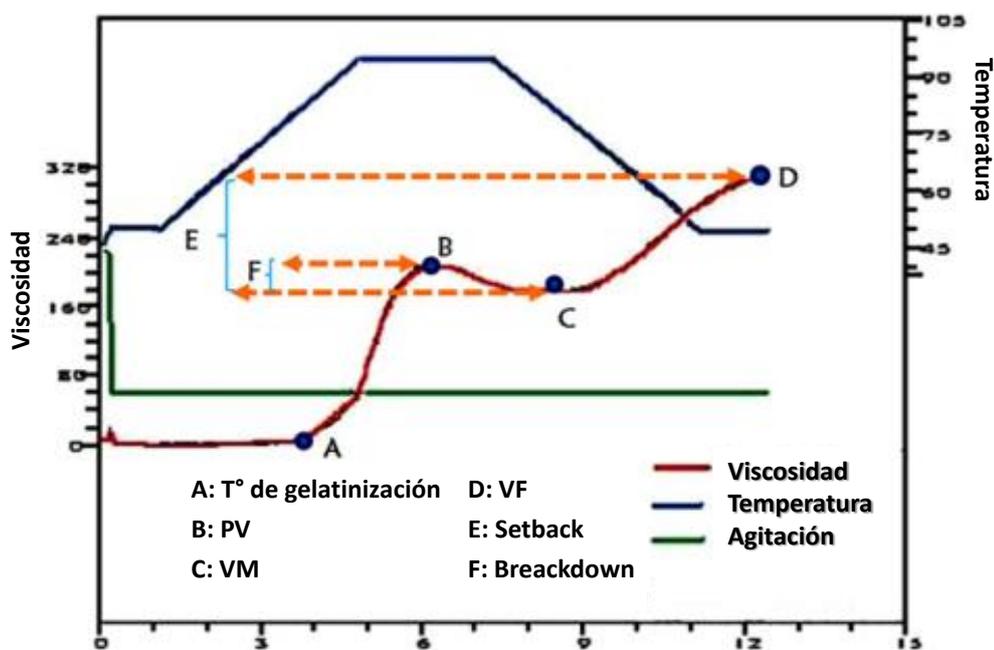


Figura 2.1. Esquema del perfil de viscosidad de harina y parámetros de viscosidad.

- Viscosidad de las mezclas de harina y fibra en solución de sacarosa. Las muestras analizadas consistieron en mezclas de harina con cada fibra, al 6 y 12%, siguiendo las mismas

cantidades utilizadas para la formulación de las masas. Para la determinación se colocó en un portamuestra las mezclas de harina y fibra en una solución de sacarosa al 50% (P/P) predisuelta. De este ensayo se obtuvieron dos parámetros: viscosidad de pico y viscosidad final.

Ambos ensayos se realizaron por triplicado.

### Elaboración de masas y galletas

Las galletitas se elaboraron según Serial *et al.* (2016). Los ingredientes se listan en la Tabla 2.I. Primero se mezcló el azúcar impalpable (marca Gloria), la leche en polvo descremada (marca La Serenísima), la sal y el agente leudante; se agregó la grasa vegetal (margarina, marca Dánica) y se batió durante 2 minutos hasta obtener una crema. Luego se incorporó el agua y se batió por 1 minuto. Por último se añadió la harina y se batió durante 2 minutos. Con la masa obtenida se formó un cilindro de aproximadamente 10 cm de largo y se lo colocó entre dos varillas de madera (de 7 mm de alto) separadas entre sí por 5 cm. Se realizaron 12 pasadas con un palo de amasar, se cortaron cilindros de 45 mm de diámetro que se colocaron sobre una placa de horno. Las galletitas se hornearon a 180 °C durante 11 minutos, luego se dejaron enfriar durante 24 h a temperatura ambiente. Se realizaron al menos dos lotes por cada formulación. Seis galletitas se obtuvieron en cada lote de producción y las cuatro galletitas más homogéneas se seleccionaron para la determinación de la calidad.

Tabla 2.I. Peso y porcentaje en base seca (%BS) de los ingredientes utilizados en la formulación control.

Ingredientes	Formulación control	
	Peso [g]	%BS
Harina	45,00	44,39
Azúcar impalpable	27,00	26,64
Grasa vegetal (margarina)	20,20	19,93
Leche en polvo descremada	2,25	2,22
Bicarbonato de Sodio	0,50	0,49
Sal	0,42	0,41
Agua	6,00*	5,92

\*el contenido de agua fue variable según el ensayo y según la harina utilizada.

## Evaluación de masas

### Evaluación de la microestructura

Para visualizar la microestructura de la masa se utilizó una técnica de doble tinción. La fase grasa se tiñó con rojo Nilo (Sigma-Aldrich, EUA) (0,1% en base grasa), mientras que para las proteínas se utilizó Rhodamina B (Sigma-Aldrich, Alemania) (0,08% en base de harina húmeda). Ambos fluoróforos se incorporaron a la masa durante la fase de cremado. Las masas se visualizaron mediante un microscopio confocal Olympus FV 1000 y se utilizaron objetivos de 10, 20 y 40x. El rojo Nilo se excitó a 488 nm con un láser de ion argón y su fluorescencia se detectó mediante un filtro 515/30. La Rhodamina B se excitó con un láser de helio-neón verde y se detectó con un filtro 600LP. Para prevenir la sobresaturación de la señal, se eligió la intensidad del láser, la ganancia y la compensación.

### Movilidad del agua por resonancia magnética nuclear (RMN)

Las mediciones se realizaron en un espectrómetro Bruker minispec mq20, que opera a una frecuencia de 20 MHz por  $^1\text{H}$ , con un tiempo muerto de 18  $\mu\text{s}$ . Se utilizó una unidad controladora de temperatura BVT3000 (Bruker Corporation), capaz de estabilizar la temperatura de la muestra con una precisión de 0,1  $^{\circ}\text{C}$ . Los análisis se realizaron por estudio de las señales obtenidas con dos secuencias típicas de RMN, *Free Induction Decay* (FID) y *Carr–Purcell–Meiboom–Gill* (CPMG) (H. Y. Carr y Purcell, 1954; Meiboom y Gill, 1958). El tiempo de relajación spin-spin  $T_2$  se midió mediante FID y se obtuvo un punto cada 2  $\mu\text{s}$  por un lapso de tiempo entre 18  $\mu\text{s}$  y 1 ms.

Para la secuencia CPMG, usada para determinar  $T_2$  mayores a 100  $\mu\text{s}$ , se adquirieron 15.000 ecos espaciados en un tiempo de 100  $\mu\text{s}$ . Para ambas secuencias, la amplitud de los pulsos de  $90^{\circ}$  y de  $180^{\circ}$  fue de 2,62 y 5,18  $\mu\text{s}$ , respectivamente. Se tomaron 128 datos y promediados con tiempo entre repeticiones entre experimentos de 3 s. Para la completa caracterización del sistema, se realizaron tres ensayos:

- Medición de la amplitud de las poblaciones (mediante FID y CPMG) en la masa cruda y de las galletitas horneadas, en función de  $T_2$ .

- Medición de  $T_2$  (mediante FID y CPMG) en las masas durante el calentamiento. Con el objetivo de simular el proceso de horneado en un horno de convección y permitir la salida de la humedad de la muestra, se elaboró un soporte de teflón de 8 mm de diámetro que genera un flujo convectivo de gas  $\text{N}_2$  en la muestra. El soporte se colocó en un tubo de RMN de 10 mm con un agujero en la parte inferior para permitir la regulación por flujo de nitrógeno. Las mediciones se realizaron en un rango de temperatura entre 30 y 110  $^{\circ}\text{C}$  y los cambios se

realizaron a una velocidad de 3 °C/min. Para estabilizar el sistema antes de cada medición, se introdujo un período de espera de 10 minutos. La amplitud de las señales de FID y CPMG fue corregida por el efecto de la temperatura mediante el uso de la señal FID de aceite de oliva extra virgen obtenida en función de la temperatura en el rango de 30 a 110 °C (se utiliza este tipo de aceite porque presenta una sola fase líquida en todo el rango de temperatura).

- Medición de la relajación de protones 2D-RMN,  $T_1$ - $T_2$  a temperatura ambiente en las masas y de las galletitas hornadas. Las muestras de masas fueron medidas inmediatamente antes de hornearlas, mientras que las galletitas se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se envasaron para evitar cambios en la humedad. Todas las muestras fueron selladas durante las mediciones 2D RMN, las muestras de galletitas se extrajeron del centro de cada pieza. La dimensión 1D se adquirió con 32 pasos de recuperación de inversión, con intervalos de tiempo logarítmica. Las muestras se introdujeron en el tubo de 10 mm, cubierto con una capa de teflón y sellado con parafina, para prevenir cambios en la humedad del sistema. Los resultados se compararon con los obtenidos con campos magnéticos altos, obtenidos con un espectrómetro Bruker Avance II, operado a 300 MHz. Se utilizó una sonda para protones Doty DSI-703 con un tiempo muerto de 5  $\mu$ s. Las muestras se colocaron en un soporte de 5 mm de diámetro externo. Las curvas de relajación de FID y CPMG se ajustaron a una función de decrecimiento exponencial de distribución continua, que se determinan con un algoritmo de transformada inversa de Laplace (Provencher, 1982). El resultado es una distribución de tiempo de relajación que puede ser caracterizada por diferentes funciones Gaussianas, donde las áreas representan la población de cada componente y el valor medio de  $T_2$  representa la movilidad del componente y el área total bajo la curva de esta distribución, representa el total de protones en la fase móvil ( $F_{móvil}$ ) del sistema. La intensidad se estandarizó de acuerdo a la masa de cada muestra.

Todos los análisis se realizaron por triplicado para confirmar la reproducibilidad de las mediciones y con un coeficiente de variación menor a 10%.

### Comportamiento térmico

#### Análisis termo-gravimétrico (TGA)

Con el fin de analizar la interacción del agua con los componentes del sistema durante el calentamiento de las masas, se realizó un análisis termo-gravimétrico (TGA). Las muestras de las masas (aproximadamente 10 mg) se colocaron en cápsulas de aluminio de 40  $\mu$ L (abiertas). Se analizaron en un rango de temperatura de 20 a 120 °C a una velocidad de calentamiento de

4 °C/minuto. A partir de los resultados de TGA se obtuvo la curva de pérdida de peso (considerado como pérdida de agua) de cada muestra y la derivada primera de éstas curvas (DTGA), es decir, la velocidad de pérdida de agua (SigmaPlot 10.0 USA/Canada). Las curvas de DTGA se analizaron mediante deconvolución en distintos picos mediante funciones gaussianas y cuantificación de las áreas (Peakfit 4.0), con el objetivo de separar eventos solapados que representan diferentes fenómenos. Se reportó el tamaño de los picos y la temperatura media a la que ocurren. El tamaño de los diferentes picos se calculó como el área de pico (%) en relación al total de los picos. Se consideraron ajustes con  $r$  superiores a 0,99. Todas las mediciones se realizaron al menos por duplicado.

### Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las transiciones de estado ocasionadas durante el calentamiento las masas se registraron mediante un Calorímetro Diferencial de Barrido DSC823e Calorimeter Mettler Toledo (Schwerzenbach, Suiza), con software STARE Default DB V9.00 (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Suiza).

Se colocaron 10 mg de muestra en cápsulas calorimétricas de aluminio de 40  $\mu$ L y se cerraron herméticamente.

Durante el ensayo, las cápsulas se calentaron de 25 a 120 °C a una velocidad de 4°/minuto. A partir de los termogramas obtenidos se calcularon los siguientes parámetros: temperatura de inicio de la transición ( $T_0$ ), temperatura de finalización de la transición ( $T_f$ ), temperatura a la que se produce el pico ( $T_p$ ), altura del pico y cambio de entalpía ( $\Delta H$ ) (Figura 2.2).

Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

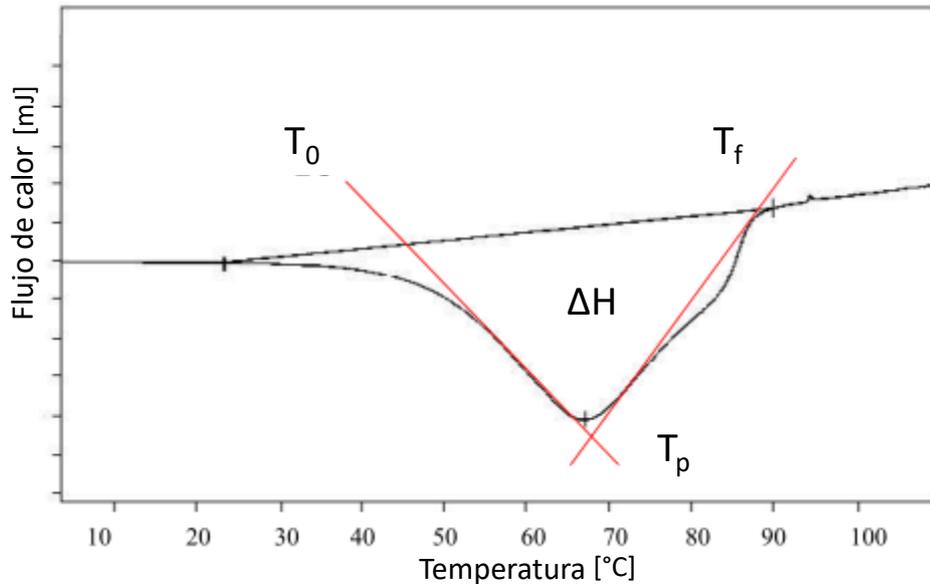


Figura 2.2. Termograma de una corrida de DSC y sus principales indicadores:  $T_0$  (temperatura de inicio de la gelatinización),  $T_p$  (temperatura de pico),  $T_f$  (temperatura de finalización) y  $\Delta H$  (cambio en la entalpía).

### Estudios reológicos

#### Ensayo de fluencia

Se llevaron a cabo ensayos reológicos aplicando grandes deformaciones. Para esto se realizaron ensayos de fluencia o relajación al esfuerzo mediante un texturómetro INSTRON (Universal Testing Machine, modelo 3342, EUA). Luego de elaboradas, las masas se dejaron reposar 1 hora a temperatura ambiente antes del ensayo. Una muestra de masa cilíndrica de 31 mm de diámetro y 9 mm de altura se colocó en una base plana directamente debajo de una sonda de mayor diámetro (35 mm). Se comprimió 2,7 mm (30% de su altura) a una velocidad de 0,5 mm/s. Una vez alcanzada esta deformación se registró la fuerza del brazo para mantenerse en la misma posición durante 120 segundos. La masa se lubricó con vaselina líquida para minimizar la fricción y evitar que se seque. En cada ensayo se midieron tres réplicas de cada lote de masa. En el ensayo de relajación, la deformación experimentada por el material es constante. Se obtuvieron las curvas de esfuerzo en función del tiempo y la región de la relajación se ajustó (Sigma Plot 10.0, Systat Software, Inc., Germany) según un modelo generalizado de Maxwell, que consta de un elemento de Maxwell (compuesto por un resorte y un amortiguador dispuestos en serie) y un resorte residual en paralelo (Figura 2.3) (James F Steffe, 1994). En todos

los casos las mediciones se realizaron por triplicado y las curvas se ajustaron a los datos con un  $R^2$  mayor a 0,90.

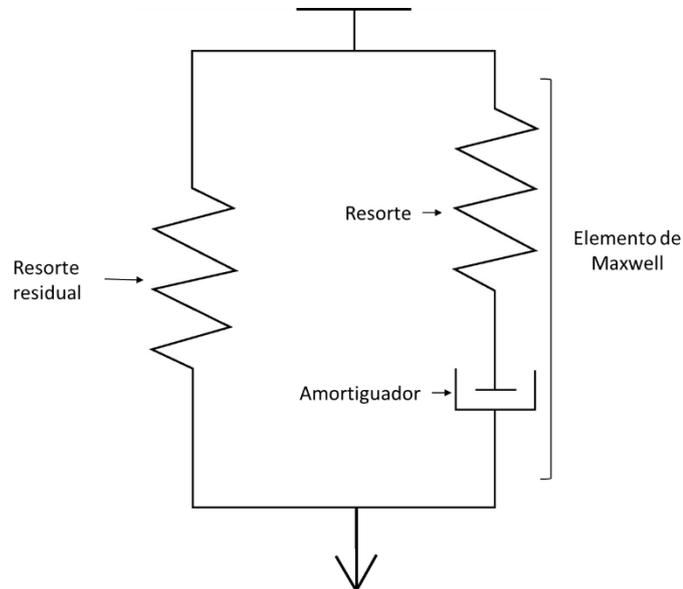


Figura 2.3: Representación mecánica del modelo utilizado para describir el comportamiento de masas de galletitas.

Este modelo es representado por la Ecuación 1.

$$\sigma_t = \varepsilon_0 * (E_1 e^{-\frac{t}{T_1}} + E_2) \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde  $\sigma_t$  es el esfuerzo en función del tiempo, E representa el módulo elástico de los elementos elásticos,  $E_1$  módulo elástico de Maxwell y  $E_2$  módulo elástico en el equilibrio,  $\varepsilon_0$  la deformación aplicada (constante, en este caso 0,3) y  $T_1$  el tiempo de relajación del cual deriva el valor de la componente viscosa ( $\eta/E_1$ ).

Se informaron cuatro parámetros para describir el comportamiento de las masas:  $E_1$  y  $E_2$ , ambos correspondientes a los módulos elásticos,  $FM$  (fuerza máxima) al que es sometido la muestra y el módulo viscoso ( $\eta$ ).

En una curva de relajación típica de un material viscoelástico, se pueden distinguir 2 regiones principales, la porción inicial que muestra una gran pendiente (deformación) y la segunda zona que tiene la menor pendiente, que tiende a un valor de equilibrio residual (relajación). En el medio de esta última región, una parte de la curva presenta un comportamiento intermedio entre las dos regiones anteriores (Yadav, Roopa, y Bhattacharya, 2006) (Figura 2.4).

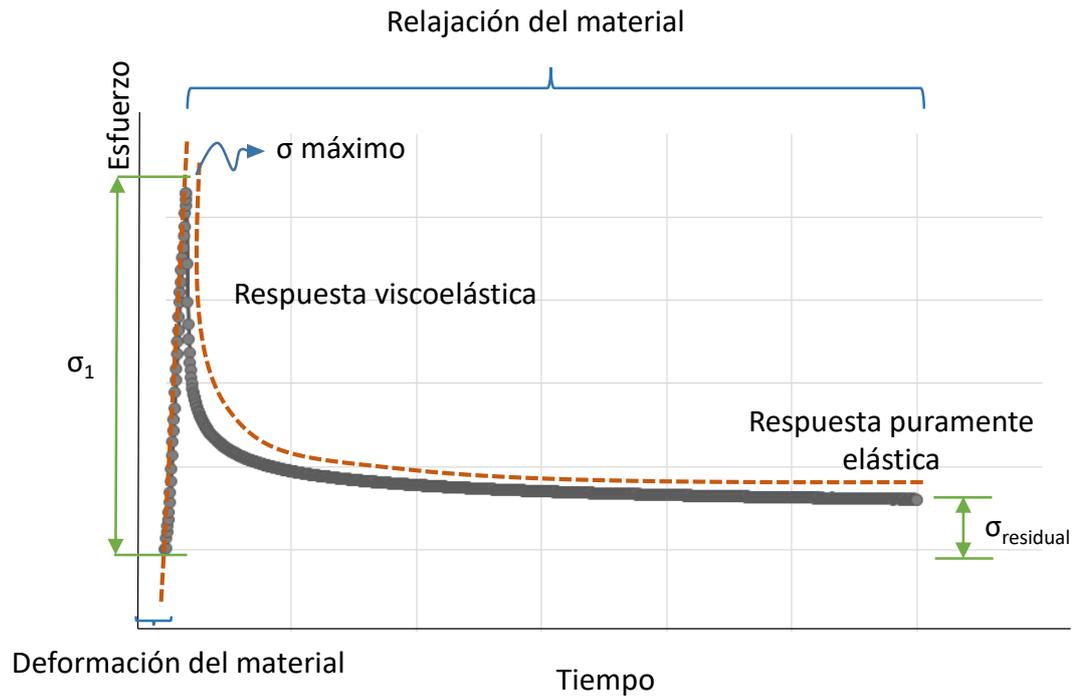


Figura 2.4. Curva típica de relajación de un material viscoelástico, donde  $\sigma_1 = E_1 \cdot \epsilon_0$  y  $\sigma_r = E_2 \cdot \epsilon_0$

### Viscoelasticidad

Las propiedades viscoelásticas de las masas se evaluaron mediante reología dinámica utilizando un reómetro dinámico (AntonPaar Physica MCR 301, Alemania). Los ensayos se efectuaron a 25 °C con una geometría de platos paralelos de 25 mm de diámetro (PP25) y 2 mm de apertura. Se elaboraron masas de 50 g y se colocó una porción de estas masas sobre el plato inferior mantenido a 25 °C. Se bajó el cabezal y se eliminaron los bordes sobrantes de masa con un elemento cortante plástico. Se adicionó silicona de baja viscosidad alrededor de los bordes de los platos para evitar la deshidratación de la masa. Las muestras se dejaron descansar durante 5 min para relajar las tensiones producidas en la compresión antes de iniciar el ciclo de deformación. Para conocer el rango de viscoelasticidad lineal del material, se realizaron barridos de deformación con cada muestra a frecuencia constante de 10 Hz y temperatura de 25 °C. La viscoelasticidad lineal se determinó hasta una deformación de 0,1%, por lo que se utilizó una deformación de 0,05% en los ensayos posteriores.

Sobre porciones nuevas de masas, se realizaron barridos de frecuencia (0,01 - 20 Hz) a temperatura (25 °C) y deformación constante (0,05%) y a continuación barridos de temperatura desde 25 hasta 100 °C a frecuencia constante (10 Hz) en el rango de viscoelasticidad lineal (0,05%) para analizar el comportamiento viscoelástico de las masas. A partir de los ensayos se obtuvo el módulo de almacenamiento (módulo elástico,  $G'$ ), el módulo de pérdida (módulo

viscoso,  $G''$ ) y la tangente del ángulo de desfase ( $\tan \delta$ ). Las masas se elaboraron por triplicado y de cada masa se realizaron al menos dos mediciones.

### Expansión durante el horneado

Con el objetivo de conocer los cambios en las dimensiones de las galletitas durante el proceso de horneado, se tomaron videos de las galletitas durante el proceso de cocción de las piezas con una cámara digital (Sony DSC-W320, Japón). Se midieron cuatro galletitas de cada tanda. Se utilizó una barra metálica calibrada como referencia de dimensión. Las imágenes se almacenaron en formato AVI. Los archivos AVI obtenidos se analizaron con el software ImageJ (National Institutes Health, USA), para obtener las dimensiones de las piezas en intervalos de 30 segundos. A partir de estas curvas del diámetro y altura de las piezas de masa en función del tiempo de horneado, se calcularon cinco parámetros: el diámetro máximo alcanzado en el horno (DM), el tiempo de fijación (TF), es decir, el momento en el que la pieza deja de expandirse, la temperatura a la que este fenómeno ocurre ( $T^{\circ}F$ ), la altura máxima alcanzada durante el horneado (AM) y el colapso de las piezas, es decir la diferencia entre la altura máxima y la altura final. Para asegurar resultados confiables se realizaron tres tandas de galletitas y de cada una se analizaron cuatro piezas.

### Evaluación de la calidad de las galletitas

#### Factor galletita (FG)

Se determinó mediante la relación entre el diámetro y la altura de 4 galletitas tomadas al azar (Leon, Rubiolo, y Anon, 1996). Se colocaron los 4 discos elegidos uno al lado del otro y se tomó el largo total (D1), luego se giró cada disco  $90^{\circ}$  y se volvió a tomar el largo total (D2), se colocaron luego los discos uno arriba del otro para tomar la altura total (A), se calculó el valor del factor galletita del siguiente modo:

$$FG = \frac{(D1 + D2)/2}{A}$$

Se midieron tres lotes de cuatro piezas de cada muestra.

#### Color

La determinación del color superficial se realizó a las 24 h de horneadas con un espectrofotómetro de reflectancia (CM-700d/600d KONICA MINOLTA, Ramsey, EUA). Se utilizó un ángulo del observador  $10^{\circ}$ , iluminante D65, componente especular incluido, utilizando la

escala CIE-Lab ( $L^*$ : luminosidad,  $a^*$ : rojo-verde y  $b^*$ : amarillo – azul). Las determinaciones se realizaron sobre cuatro galletitas por lote y se analizaron al menos tres lotes de cada muestra.

Las magnitudes  $L^*$ ,  $a^*$ , y  $b^*$  son adimensionales y se definen en función del tipo de estímulo para tratar de simular a los observadores reales (Joshi y Brimelow, 2002). La coordenada  $L^*$  recibe el nombre de luminosidad y  $a^*$  y  $b^*$  son las coordenadas colorimétricas que forman un plano perpendicular a la luminosidad, siendo, a su vez, perpendiculares entre sí. El corte del eje  $L^*$  con el plano que forman  $a^*$  y  $b^*$  es el punto acromático. El valor  $a^*$  es una medida de la intensidad de color rojo, en el desplazamiento sobre el eje  $a^*$  hacia valores positivos del punto acromático se observan los rojos y hacia valores negativos los verdes. El valor  $b^*$  es una medida de la intensidad de color amarillo, en el desplazamiento sobre el eje  $b^*$  hacia valores positivos del punto acromático se observan los amarillos y para valores negativos los azules.

#### Textura

La textura de las galletitas se evaluó a las 24 h de horneadas con un texturómetro INSTRON (Universal Testing Machine, modelo 3342, EUA). Se realizó una prueba de quiebre de tres puntos. La pieza fue apoyada sobre dos soportes paralelos, separados por una distancia de 3,6 cm. Una barra del mismo material y forma de los soportes fue desplazada verticalmente ejerciendo una fuerza normal hasta producir un quiebre en la estructura del producto. La velocidad de desplazamiento del brazo fue de 0,5 mm/s. Los resultados de las experiencias instrumentales se expresaron mediante gráficos de fuerza vs. deformación. A partir de las curvas se calcularon tres parámetros: fuerza máxima de quiebre (FM), módulo de deformabilidad (Def), definido como el tiempo transcurrido entre el comienzo del ensayo y el momento en que se produce el quiebre de la estructura y el esfuerzo de ruptura ( $\sigma$ ), que se calculó según la Ecuación 2. Los valores de fuerza máxima se relacionaron con la dureza de las galletitas (Gaines, 1994). Se midieron tres lotes de cuatro piezas de cada muestra.

$$\sigma = \frac{3*FM*L}{2*D*h^2} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde FM es la fuerza máxima de quiebre, L es la distancia entre los puntos de apoyo, b es el diámetro de la galletita y h es la altura de la pieza.

#### Estructura superficial

La estructura superficial de las galletas se evaluó a través de análisis de imagen (Figura 2.5). Las galletitas fueron escaneadas con un escáner fotográfico (HP Scanjet G3010, EUA). Las

imágenes RGB en formato de archivo TIFF se analizaron con el programa de análisis de imágenes Image J 1,41o (National Institutes of Health, EUA). Se seleccionó un área circular (ROI) representativa (4 cm de diámetro) de la parte central de cada galletita en todos los lotes (Figura 2.5a). Las ROIs (píxeles donde se observaban las regiones de interés) se convirtieron a 8-bits (0 negro, 255 blanco). Las imágenes seleccionadas fueron procesadas mediante algoritmos para corregir los problemas de fondo (*subtractbackground*) y mejorar el contraste (*enhancecontrast*) (Figura 2.5b), segmentadas por un valor de gris para crear una imagen binaria mediante el algoritmo Renyi Entropy (Kapur, Sahoo, y Wong, 1985) (Figura 2.5c). De este modo, todos los píxeles con nivel de gris por encima del umbral se mostraron en blanco y fueron considerados superficie no agrietada y los píxeles con nivel de gris por debajo del umbral se mostraron en negro y fueron considerados superficie agrietada. El análisis de las imágenes permitió obtener la fracción de área (FA) que corresponde a grieta en la superficie de la galletita (Figura 2.5d). La irregularidad superficial de las ROI de las galletas fue caracterizada a través de la dimensión fractal de la textura superficial (D), mediante el software Image J utilizando el algoritmo de “conteo de cajas” (*Fractal Box count*). Este parámetro es una medida de la complejidad de la textura y es relevante cuando las dimensiones euclidianas tales como diámetro y longitud no son buenos descriptores de la complejidad. Fueron analizadas 4 galletitas por lote.

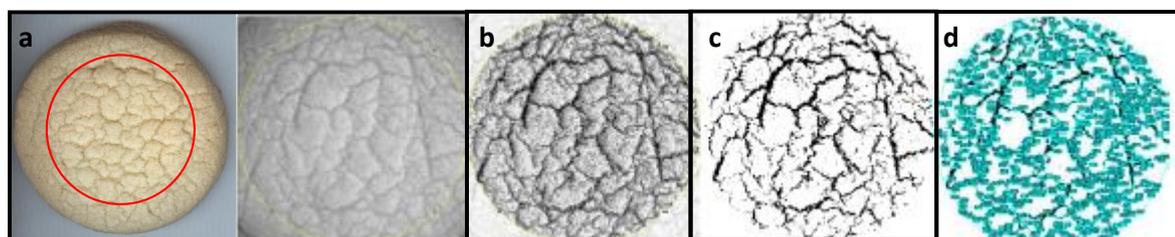


Figura 2.5. Secuencia típica de análisis superficial de galletitas, mediante Image J.

### Caracterización química de las galletitas

#### Fibra alimentaria total (FAT)

Se determinó el contenido de fibra alimentaria total por triplicado en las muestras de galletita, sometidas a un secado hasta peso constante a 100 °C y molidas. Las muestras (1,00 ± 0,01 g) fueron tratadas con  $\alpha$  amilasa termoestable a 100 °C y luego digeridas enzimáticamente con proteasa de *Bacillus licheniformis* y amiloglucosidasa para eliminar las proteínas y el almidón. Posteriormente se precipitó la FAT por adición de etanol al 95% v/v y reposo durante 1 h. El precipitado fue filtrado y lavado en pasos sucesivos con etanol al 78%, etanol al 95% y

acetona, posteriormente fue secado y pesado. Uno de los duplicados se incineró a 525 °C para determinar el contenido de cenizas y sobre el otro se realizó la determinación de proteínas por el método de Kjeldahl. La FAT se determinó como el peso seco del precipitado filtrado menos el contenido de proteínas y cenizas, según el método 32-05 (American Association of Cereal Chemistry (AACC), 1999a) utilizando el kit fibra alimentaria de Megazyme (Megazyme International, Irlanda). Los resultados se expresan como gramos de fibra alimentaria/ 100 g de galletita.

#### Determinación del contenido de inulina

Para determinar el contenido de inulina se utilizó la técnica de HPLC (High Performance Liquid Chromatography) empleando una columna de intercambio iónico y un detector de índice de refracción. Flujo = 0,7 ml/min (Zuleta y Sambucetti, 2001).

Una suspensión de galletita al 10% p/v en agua destilada se la colocó en un baño de agua a 85°C con agitación constante durante 30 min. Concluido el tiempo, se filtró una porción de la solución acuosa con una membrana de 0,20 µm, colocando el filtrado en un tubo *eppendorf* listo para ser inyectado en el cromatógrafo. Se utilizó una columna de intercambio iónico Aminex HPX-87C (Bio-Rad). El contenido de inulina se expresó como gramos de inulina/100 g de galletita. Las curvas de calibración fueron realizadas con 0,005-1 g/100 mL de inulina. Para identificar otros azúcares comunmente frecuentes en las muestras, se midieron soluciones estándares de referencia con 1 g/100 mL de mono y disacáridos. El análisis se realizó por triplicado.

#### Determinación de la capacidad antioxidante *in vitro*

Contenido de Polifenoles Totales- Técnica de Folin-Ciocalteu. Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu descrito por (Singleton y Rossi, 1965). El mecanismo básico del ensayo involucra una reacción redox. El reactivo de Folin-Ciocalteu *Anedra* contiene ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico que actúan como oxidantes, por lo que se reducen en presencia de los compuestos polifenólicos presentes en las muestras a ensayar. Los ácidos reducidos a óxidos de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ) poseen un máximo de absorbancia a 750 nm.

Procedimiento. Para la determinación del contenido de polifenoles totales (PT) se colocaron 1,680 µL de agua ultra pura y 90 µL de metanol en un tubo de Khan, se añadieron 20 µL de muestra apropiadamente diluida y luego se agregaron 100 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu. La mezcla obtenida se agitó en un vortex (Decalab, Argentina). Luego de exactamente 1 min, se agregaron 300 µL de  $Na_2CO_3$  al 20 % p/v y se agitó nuevamente. La mezcla se incubó 120 min a temperatura ambiente y en oscuridad. Finalmente se midió la absorbancia de la

solución a 750 nm contra un blanco de reactivo procesado de la misma forma. Todas las muestras y los blancos fueron determinados por triplicado.

Para calcular el contenido de polifenoles totales (PT) en las muestras, se construyó una curva de calibración utilizando ácido gálico *Cicarelli* como estándar. El rango de linealidad utilizado fue de 0,25 a 5,00 mg de ácido gálico/ L. Los estándares se procesaron por triplicado de la misma forma que las muestras.

Todas las determinaciones se realizaron al menos por duplicado y los resultados obtenidos para los extractos se expresaron como microgramos de polifenoles equivalentes al ácido gálico por g de peso seco de muestra ( $\mu\text{g EAG/g}$  muestra).

Capacidad atrapadora de radicales libres. Se midió por el método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonico), según *Re et al.* (1999). La solución ABTS se diluyó 1:2 con agua destilada, a una absorbancia de 0,700 a 734 nm. Luego de agregarle 3,0 mL de la solución diluida ABTS a 50  $\mu\text{L}$  de muestra, se midió la absorbancia por 30 minutos, usando un espectrómetro (UV-visible Jasco V730, Corporación Jasco, Japón). Se ajustó una ecuación biexponencial usando el software ORIGIN 8.0 (Corporación Origin-Lab, EUA). La velocidad de captación de radicales ABTS se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Velocidad de captación de radicales (\%)} = 100 * [1 - (A - s / A_0)]$$

Donde  $A_0$  es la absorbancia en el tiempo 0 sin adicionar la muestra y  $A - s$  es la absorbancia de la muestra en estado de equilibrio, calculada con el ajuste biexponencial. Las determinaciones de todas las muestras se realizaron al menos por duplicado

Capacidad de reducción de férrico de extracto acuoso (10% p/v). Se determinó mediante el ensayo FRAP, según *Pulido et al.* (2000), usando ácido gálico como estándar. Se mezclaron 900  $\mu\text{L}$  de una solución recién preparada de reactivo FRAP mantenida a 37 °C, con 90  $\mu\text{L}$  de agua destilada y 30  $\mu\text{L}$  de la muestra (o agua para el blanco). La lectura a la máxima absorbancia (595 nm) fue tomada con un espectrómetro (UV-visible Jasco V630, Corporación Jasco, Japón) equipado con porta muestra termostatzado. La temperatura se mantuvo a 37 °C durante los 30 minutos.

Para calcular el contenido de polifenoles totales (PT), capacidad atrapadora de radicales libres y capacidad de reducción de férrico en las muestras, se construyó una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar. El rango de linealidad utilizado fue de 0,25 a 5,00 mg de ácido gálico/ L. Los estándares se procesaron por triplicado de la misma forma que las muestras.

### Perfil de polifenoles por HPLC-DAD-ESI-QTOF

El perfil de compuestos polifenólicos en las muestras se determinó mediante cromatografía líquida de alta eficacia con detección UV-VIS y espectrometría de masas en tándem (HPLC-DAD-ESI-MS/MS).

El HPLC utilizado fue un Agilent Technology Serie1200, equipado con una bomba de gradiente binario Agilent G1312B SL, un degasificador de solventes Agilent G1379B y un inyector automático Agilent G1367 D SL+WP.

La separación cromatográfica de los compuestos polifenólicos presentes en las muestras se realizó en una columna LUNA (Phenomenex, Torrance, CA, USA) de fase reversa C18 (5  $\mu\text{m}$ , 250 mm  $\times$  4,60 mm de diámetro interno) a 35 °C utilizando el módulo de calentamiento Agilent G1316 B. La separación de los compuestos se llevó a cabo utilizando ácido fórmico al 0,5 % v/v en agua como solvente A, y ácido fórmico al 0,5 % v/v en metanol como solvente B. El flujo utilizado de la fase móvil para la separación de los compuestos fue de 0,4 mL/ min y el volumen de inyección de muestra fue de 40  $\mu\text{L}$ .

El sistema de HPLC se acopló a un detector UV-VIS por arreglo de diodos (DAD) Agilent G1315 C Starlight DAD, conectado en tándem a un espectrómetro de masas de alta resolución (microTOF, Serie QII, Bruker Daltonics, USA) equipado con una fuente de ionización por electrospray (ESI).

Los espectros UV-VIS se registraron entre 200 y 600 nm. Los espectros de masas se registraron en un intervalo de 80 a 1500 m/z en modo negativo.

Las condiciones de trabajo de la fuente de ionización ESI fueron las siguientes: voltaje del capilar, 4500 V; presión del gas de nebulización, 4,0 bar; flujo del gas de secado, 8,0 L/ min; y temperatura del gas de secado, 180 °C. Como gas de nebulización se utilizó  $\text{N}_2$ , mientras que el gas de colisión para obtener espectros de MS/MS fue Ar. El detector de masas se programó para realizar un barrido de MS/MS de los 3 iones más abundantes, utilizando una energía de colisión de 13,0 eV. La adquisición de datos se realizó utilizando el programa Compass Versión 3.1 y el procesamiento de los mismos se llevó a cabo con el programa DataAnalysis Versión 4.0 (Bruker Daltonics, USA).

La optimización del método de análisis se realizó utilizando estándares comerciales representando distintas familias de compuestos polifenólicos.

Los compuestos polifenólicos presentes en las muestras se identificaron de acuerdo a su tiempo de retención, masa exacta, espectros de MS y MS/MS, como así también por comparación con estándares comerciales cuando éstos estaban disponibles y con compuestos reportados en la literatura.

La cuantificación de los compuestos identificados en las muestras se realizó utilizando el área del pico obtenido del cromatograma del ion extraído, mediante curvas de calibración externas de estándares polifenólicos disponibles. Para esto, se preparó una solución madre multi-componentes en metanol conteniendo quercetina, kaempferol y ácido clorogénico, cada uno en concentración de 100 mg/ L. Las curvas de calibración para cada compuesto se prepararon por diluciones apropiadas de dicha solución madre. Cuando no se contó con el estándar comercial de un compuesto identificado, su cuantificación se realizó a partir de un estándar con estructura similar. Todas las muestras en estudio, apropiadamente diluidas, y las soluciones estándares se filtraron a través de membranas de 0,45 µm de diámetro de poro y se inyectaron por triplicado.

### **Evaluación sensorial**

Un panel de jueces semientrenados del Laboratorio de Química Biológica (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba) fue el encargado de realizar las evaluaciones. Se utilizó una escala de siete puntos, donde cero representó una baja intensidad y siete la máxima intensidad de cada atributo evaluado. La muestra control fue colocada arbitrariamente en la posición 3,5 de la escala. Se entregó a cada juez agua para beber con el objetivo que lleven a cabo el enjuague bucal entre la evaluación de las distintas muestras (Tang *et al.*, 1999). Se entregó a cada juez una galletita entera de cada muestra. La evaluación sensorial se llevó a cabo 24 horas después de la elaboración de las galletitas. Las muestras fueron identificadas con números arbitrarios de tres cifras, y entregadas a cada juez junto a una muestra control identificada como tal para ser usada como referencia del punto 3,5 de la escala. Esto permitió a los jueces comparar cada una de las muestras con la galletita control.

Todos los parámetros fueron evaluados con luz clara. Se evaluaron seis atributos, por manipulación de las muestras con la boca: dureza, fuerza requerida para comprimir y romper la estructura de la galletita con los molares; crujencia, sonido percibido cuando la estructura de la galletita se rompe al ser comprimida con los molares; masticabilidad, cantidad de veces que es necesario masticar un trozo de galletita hasta reducirla a una consistencia adecuada para ser deglutida; granulosidad, gránulos percibidos durante la masticación; gusto dulce, dulzor percibido durante la masticación de la galletita y palatabilidad, sensación grasa percibida en el paladar luego de la deglución .

Se realizó además un análisis de preferencia para conocer las preferencias de los consumidores. Se utilizó el mismo panel para ambas evaluaciones. Los jueces ordenaron las muestras en orden creciente de agrado, asignándole un número a cada una, donde el uno fue la de menor agrado y el cinco, la de mayor agrado.

En el Anexo I se muestra el modelo de planilla entregado a cada juez para llevar a cabo la evaluación sensorial de las muestras.

### **Análisis estadístico**

En todos los casos los ensayos experimentales se realizaron al menos por duplicado y los resultados se informaron como el valor promedio  $\pm$  desviación estándar. El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo mediante el software estadístico INFOSTAT (Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina) (Di Rienzo *et al.*, 2011). Los resultados obtenidos se trataron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA). La técnica del análisis de varianza (ANOVA) permite realizar las estimaciones de las respuestas promedio de tratamientos y las comparaciones entre ellas. Los resultados fueron comparados por el método de la mínima diferencia significativa test de Fisher's (LSD), con un nivel de significancia de 0,05 (Di Rienzo, Guzman, y Casanoves, 2002). La relación entre los distintos parámetros se determinó mediante el coeficiente de correlación de Pearson con  $p \leq 0,05$ .

## CAPITULO 3

# ANÁLISIS DE LOS EFECTOS DE LOS PRINCIPALES INGREDIENTES SOBRE LAS PROPIEDADES DE LAS MASAS Y GALLETITAS

## Introducción

Las galletitas dulces están formuladas principalmente a partir de harina de trigo, azúcar y grasa. La harina de trigo proporciona la matriz sobre la cual se van a incorporar los demás ingredientes para formar la masa.

Todos los ingredientes principales en el sistema de las galletitas tienen un importante rol funcional y, por lo tanto, pequeñas modificaciones en la proporción de éstos puede afectar drásticamente las propiedades sensoriales de los productos horneados.

### Trigo

#### Generalidades sobre el trigo

El trigo es uno de los cereales más importante en el mundo en términos de cultivo y alimentación humana. Es el segundo en producción mundial, después del maíz, y se encuentra entre los tres cereales que mayor rango geográfico y climático tiene para su producción (FAOSTATS, 2013). Esta amplia adaptación a diversas condiciones ambientales es posible gracias a la gran variabilidad genética existente, con producción de más de 2500 cultivares (Shewry, Halford y Lafiandra, 2003).

Todos los trigos pertenecen al género *Triticum* de la familia de las gramíneas, y la mayor parte del trigo utilizado como alimento pertenece a dos especies botánicas, *Triticum aestivum* y *Triticum durum* (Lukow, 2006). Anualmente se producen 100 kg de trigo por cada habitante en el mundo y casi toda su producción se destina a la alimentación humana. Si bien las proteínas del trigo poseen menor valor nutritivo que las de origen animal debido a que son deficientes en lisina, el consumo de cereales es recomendable desde el punto de vista nutricional, ya que proporcionan a la dieta hidratos de carbono complejos, fibra dietética, minerales y vitaminas del complejo B y son de bajo contenido en grasa; por ello son el primer grupo en el óvalo nutricional.

En Argentina se producen en promedio 13,3 millones de toneladas anuales de trigo pan, de las cuales 5,4 millones de toneladas son molidas; esto representa una producción mensual promedio de 400 mil toneladas de harina. Esta harina se destina principalmente para la elaboración de pan, en segundo lugar se encuentra la producción de galletitas y bizcochos, y el resto se vende y se exporta fraccionada (Lezcano, 2011).

### Estructura del grano de trigo

El grano de trigo, al igual que los demás cereales, es una cariósipide y desde el punto de vista tecnológico está formado por tres partes principales: el salvado, el germen o embrión, y el endosperma (Figura 3.1). El salvado está constituido por las capas externas del grano (pericarpio, cubierta de la semilla, epidermis nuclear y capa de aleurona) cuyas células tienen un alto contenido de celulosa y hemicelulosa; estos componentes rodean al endosperma y son eliminados durante la molienda del grano. El germen constituye un porcentaje muy pequeño del grano (< 3%), y es el lugar donde se iniciará una nueva planta. Es relativamente rico en proteínas, azúcares y aceite y por esta razón es eliminado de la harina con el fin de evitar su enranciamiento (Hoseney, 1994a). Por último, el endosperma cuyas células se encuentran repletas de gránulos de almidón incluidos en una matriz proteica, constituida por proteínas de reserva, que en el caso del trigo forman el gluten, y por proteínas metabólicamente activas (Pomeranz, 1971). Las paredes celulares del grano de trigo están formadas por celulosa, hemicelulosas, pentosanos y  $\beta$ -glucanos. El espesor de las paredes celulares varía con la posición en el grano, según los distintos tipos de trigo. Por ejemplo, los trigos duros contienen paredes celulares gruesas con gran cantidad de hemicelulosa, que otorga a las harinas capacidad de absorber agua, por lo que son elegidos para la elaboración de pan. Los trigos blandos tienen paredes celulares delgadas, con menor cantidad de hemicelulosa, por lo que su harina no absorbe grandes cantidades de agua (Hoseney, 1994a). El contenido y la pared celular de las células del endosperma constituyen la harina blanca.

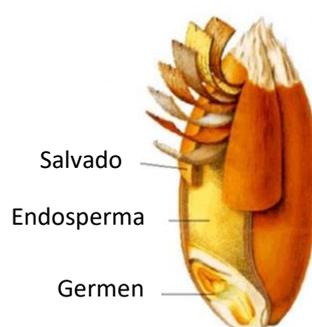


Figura 3.1. Representación gráfica del grano de trigo

La textura del grano, es decir su mayor o menor dureza, es una de las principales características para clasificar el trigo y determinar el uso final de sus harinas. La dureza puede ser definida según: a) la resistencia a la deformación o propiedades de fractura, b) el nivel de

almidón dañado luego de la molienda (Anjum y Walker, 1991; Glenn, Younce y Pittis, 1991; Pomeranz y Williams, 1990) y c) la distribución del tamaño de partícula de la harina, después de la molienda.

La dureza del grano está determinada por la forma en la que sus componentes se encuentran empaquetados en las células del endosperma. Según su textura los trigos pueden dividirse en tres clases principales: el trigo común o pan (*Triticum aestivum* (L) Thell. subesp. *aestivum*) es extensamente cultivado y produce harinas de excelente calidad para la producción de productos leudados; el trigo club o blando (*Triticum aestivum* (L) Thell. subesp. *compactum* (Host)) posee granos blandos y con bajo contenido de proteína en contraste con el trigo pan, por lo que produce harinas que son aptas para elaborar productos panificados en donde se necesita un gluten débil, como por ejemplo bizcochuelos y galletitas; y el trigo duro (*Triticum Turgidum* (L) Thell. conv. *durum* (Desf.)), que en nuestro país se denomina candeal, que se utiliza fundamentalmente para la producción de sémolas para la elaboración de pastas. En la molienda, la textura del grano afecta los requerimientos de acondicionamiento, el tamaño de la partícula y la densidad de la harina, el contenido de almidón dañado, la absorción de agua y el rendimiento en el molino (Delwiche, 1993).

A través de microscopía electrónica de barrido se ha observado que en los granos de trigo duro existe una fuerte adherencia entre la proteína y el almidón. Los trigos duros producen una harina con mayor granulometría (sémola o semolina), que está formada por partículas de forma regular, que son, en su mayoría células enteras del endosperma. Generalmente las harinas de trigo duro son de textura tosca, contienen más almidón dañado, el cual tiene mayor capacidad de absorber agua y es fácilmente hidrolizado por las  $\alpha$ -amilasas (presentes en el grano) por lo que aumenta la cantidad de azúcares fermentables por las levaduras; esto es beneficioso para elaborar panes y otros tipos de productos esponjados (A. Bettge, Morris y Greenblatt, 1995). Los trigos blandos proporcionan una harina muy fina formada por fragmentos irregulares de las células del endosperma y partículas planas que se adhieren unas a otras. La dureza, por otra parte, incide sobre la facilidad con que el endosperma se separa del salvado. Las harinas de trigo blando son de textura más fina, poseen gran número de gránulos intactos y son usadas para fabricar galletitas, tortas y otros productos menos esponjados. Las harinas de trigo candeal presentan un incremento adicional de la dureza, esto produce harinas con textura más tosca denominadas semolinas y altos niveles de almidón dañado, este tipo de harinas es generalmente usado para pastas (Giroux y Morris, 1998).

## Proteínas

La interacción entre el almidón y la matriz proteica tiene una gran influencia sobre la calidad y el uso final de los trigos, y se encuentra muy relacionada a la textura o dureza del endosperma (Preston, 1998). Las proteínas de trigo se pueden dividir en dos grandes grupos, las proteínas capaces de formar el gluten, y aquellas que no lo forman. Las primeras, son proteínas de almacenamiento, mientras que entre las proteínas que no forman gluten, se encuentran la mayoría de las enzimas (Pomeranz, 1971).

Las proteínas que no forman gluten representan entre un 15-20% del total de las proteínas del trigo, son solubles en soluciones salinas diluidas por lo tanto corresponden a las albúminas y globulinas del fraccionamiento de (Osborne, 1907). Son proteínas monoméricas, metabólicamente activas y/o estructurales que se ubican en las capas más externas del grano de trigo. Su función en la panificación no está clara aún (Veraverbeke y Delcour, 2002). Estas proteínas poseen un buen balance de aminoácidos, contienen proporciones relativamente altas de lisina, triptófano y metionina, tres aminoácidos que se encuentran en baja proporción en la mayoría de los cereales.

Las gliadinas y gluteninas son proteínas funcionales formadoras de gluten, y representan entre el 80-85% del total de las proteínas del trigo (Kasarda, Bernardin y Nimmo, 1976). Se encuentran en el endosperma del grano maduro donde forman una matriz continua alrededor de los gránulos de almidón. Las proteínas de reserva capaces de formar gluten son insolubles en agua o en soluciones salinas diluidas y pueden ser divididas en dos grupos de acuerdo a su funcionalidad: las gliadinas monoméricas y las gluteninas poliméricas (extraíbles o no extraíbles). La composición de aminoácidos de gliadinas y gluteninas es similar, se caracterizan por tener altas concentraciones de glutamina (un tercio o más del residuo total de aminoácidos) y de prolina (una séptima parte o más del residuo total de aminoácidos). Las gliadinas y las gluteninas son capaces de polimerizar durante el amasado formando la red de gluten, de importancia fundamental en la elaboración de pan. En general se considera que las gliadinas son las responsables de la viscosidad del gluten, mientras que las gluteninas son las encargadas de conferirle fuerza y elasticidad (Hoseney, 1994a).

## Almidón

Los granos de los cereales almacenan energía bajo la forma de almidón, que representa entre el 60 y el 75 % del peso del grano. Generalmente, se encuentra en forma de gránulos empaquetados densamente, lo que los hace insoluble en agua, al mismo tiempo los mantiene accesible para la acción enzimática.

En los cereales el almidón se encuentra asociado a lípidos polares en un porcentaje del 0,5 a 1 %, y conforma dos tipos de gránulos, cuyos tamaños oscilan entre 2 y 10  $\mu\text{m}$  para los pequeños y entre 15  $\mu\text{m}$  y 35  $\mu\text{m}$  para los mayores (Hoseney, 1994a).

El almidón está compuesto por dos fracciones: la amilosa, un polímero lineal formado por alrededor de 800 moléculas de glucosa unidas por enlaces  $\alpha(1-4)$ , y la amilopectina, formada por moléculas de glucosa unidas por enlaces  $\alpha(1-4)$  con ramificaciones originadas en enlaces  $\alpha(1-6)$ ; alcanzando una masa molecular de aproximadamente 2.000.000, lo que la constituye en una de las moléculas más grandes presentes en la naturaleza. Los puntos de ramificación están ubicados a una distancia comprendida entre 9 y 20 unidades de glucosa (Soulaka y Morrison, 1985).

Los gránulos de almidón contienen regiones cristalinas y amorfas, que llevan a definirlo como un material semicristalino y hacen que cada gránulo de almidón tenga su propio grado de cristalinidad.

Las transformaciones que sufren los gránulos de almidón nativos bajo determinadas condiciones de temperatura y humedad se las conoce como gelatinización (Atwell *et al.*, 1988). Debido a que este proceso es endotérmico, ha sido extensamente investigado mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) (Baks *et al.*, 2007; Donovan, 1979; H. Liu *et al.*, 2006; Hongsheng Liu *et al.*, 2009; Shogren, 1992; Kawai, Toh y Hagura, 2014; Laguna, Vallons y Jurgens, 2012). El modelo propuesto por Donovan (1979) propone que el proceso de gelatinización se produce en dos etapas, en donde inicialmente las regiones amorfas de los gránulos comienzan a absorber agua e hincharse, para finalmente producir la disrupción de la organización radial cristalina. Según este modelo, la hidratación de las regiones amorfas facilita la movilidad molecular y produce tensiones de ruptura que son transmitidas a través de las moléculas desde las regiones amorfas hasta las cristalinas, lo que provoca la disociación de las dobles hélices de las cadenas de amilopectina y la ruptura irreversible de la estructura cristalina (Tester y Debon, 2000). La gelatinización es un proceso que depende de la cantidad de agua disponible, siendo necesario un nivel mínimo para que se produzca este fenómeno. En condiciones limitantes de agua (menores a ~60% p/p de agua para mezclas almidón/agua) el proceso de gelatinización requiere de mayor temperatura que en condiciones de exceso de agua, ya que la energía se utiliza para fundir las regiones cristalinas que no alcanzaron a ser desorganizadas por efecto de la hidratación de las regiones amorfas (Biliaderis *et al.*, 1980; Donovan, 1979). Estos procesos fisicoquímicos han sido asociados a eventos endotérmicos. En la Figura 3.2 se muestra el perfil térmico característico de un almidón obtenido por calorimetría diferencial de barrido, en donde la primera y segunda endoterma (M1 y M2), comúnmente registradas a temperaturas menores a 100 °C, representan las transiciones asociadas con la fusión de los dominios cristalinos de amilopectina, mientras que, el pico registrado a mayores temperaturas (M3) (100-130 °C) constituye la fusión del complejo amilosa-lípido.

La temperatura de gelatinización, determinada por calorimetría diferencial de barrido, de la mayoría de los almidones varía entre 60 °C y 80 °C, en condiciones no limitantes de agua. Las temperaturas elevadas están relacionadas con un alto grado de cristalinidad, lo que indica estabilidad estructural y resistencia de los gránulos a la gelatinización (Barichelo *et al.*, 1990). Asimismo, la entalpía de gelatinización es generalmente interpretada como la cantidad de estructura de doble hélice que es desorganizada durante el calentamiento en presencia de agua (Xie *et al.*, 2008). Sin embargo, debido a que la gelatinización es un proceso cooperativo, la energía absorbida por los gránulos no solamente es utilizada para fundir las estructuras cristalinas, sino que también facilita re-arreglos o formación de nuevos enlaces entre las moléculas que forman la estructura amorfa (Ratnayake y Jackson, 2007).

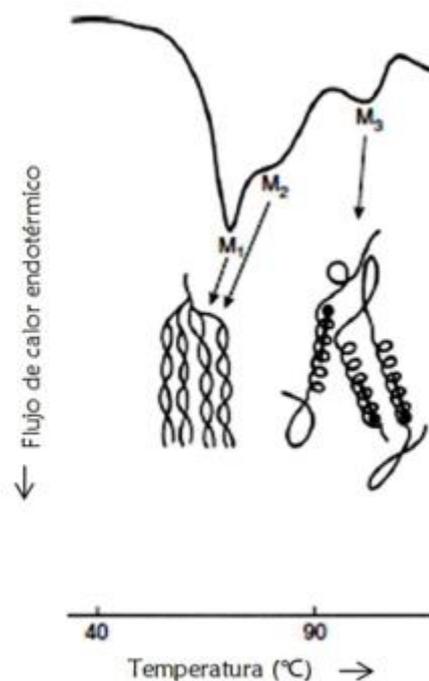


Figura 3.2. Representación esquemática del perfil térmico del almidón con sus múltiples transiciones de estado y los respectivos dominios estructurales asociados a los cambios de fase. M1 y M2: Transiciones endotérmicas que representan principalmente la fusión del dominio cristalino de amilopectina. M3: Fusión del complejo amilosa-lípido.

Cuando una suspensión de almidón gelatinizada es enfriada, la viscosidad del sistema incrementa debido a las interacciones intermoleculares entre amilosa y amilopectina, aunque también entre gránulos y amilosa y entre gránulos. Este proceso que va desde el estado soluble o disperso a otro insoluble, no hinchado y microcristalino se conoce como retrogradación (BeMiller y Whistler, 1996; Biliaderis *et al.*, 1986; Waigh *et al.*, 2000) y ocurre en dos pasos cinéticamente distintos (Ring *et al.*, 1987): una rápida gelación de la amilosa por formación de segmentos de cadena en doble hélice, seguida de una agregación hélice-hélice, y una lenta recristalización de las cadenas cortas de amilopectina.

El rol del almidón en la preparación de productos de panificación ha recibido menos atención que las proteínas formadoras del gluten debido fundamentalmente a que sus propiedades son poco afectadas por la diferencias en las condiciones de cultivo y por la diversidad varietal (D'Appolonia y Gilles 1971). De todas maneras, desde hace años se sabe que el almidón cumple las siguientes funciones en la panificación: 1) diluir el gluten dando una consistencia deseable, 2) proveer azúcar para las fermentaciones, 3) proveer una superficie apta para que el gluten se adhiera fuertemente, 4) colaborar en la retención del gas formado, 5) absorber agua del gluten durante la gelatinización para fijar la red de gluten, que en estas condiciones se vuelve rígido y suficientemente permeable al gas para evitar el colapso de la masa durante el enfriamiento y 6) aportar a la textura final del producto.

En la elaboración de galletitas no hay claridad respecto al papel que cumple el almidón, sin embargo existen asociaciones significativas entre la calidad de las harinas para la obtención de galletitas y el porcentaje de almidón dañado (Abboud, Rubenthaler y Hosenev 1985).

### Harina de trigo

La harina de trigo proviene del endosperma del grano. Dado el repliegue (surco) que presenta el grano de trigo, es imposible eliminar las capas externas por simple abrasión y por ello, es que se opera por sucesivas trituraciones, llamadas molturación, tamizados y cernidos. De esta manera se separan diversas fracciones correspondientes a los tegumentos y capas de aleurona (salvado), el germen y el endosperma (Cheftel y Cheftel 1992).

La composición química del grano varía durante el proceso de molienda y la modificación más importante que se produce es una pérdida considerable de elementos nutritivos, especialmente de sales minerales y vitaminas. A partir del año 2002 rige en Argentina la ley 25.630, la cual obliga a que la harina de trigo destinada al consumo humano debe ser adicionada con determinadas cantidades de hierro, ácido fólico, tiamina, riboflavina y niacina.

Además, la eliminación de las capas más externas del grano provoca una pérdida prácticamente completa de las fibras presentes en el grano y una disminución del contenido de proteínas, lo que genera en consecuencia un aumento proporcional de la concentración del almidón.

La harina del endosperma representa aproximadamente el 70% del peso del grano y contiene la totalidad del almidón y gran parte de las proteínas del grano, en particular las gluteninas y las gliadinas, que se caracterizan por sus propiedades únicas de formar una masa viscoelástica, llamada gluten, al ser mezcladas con agua y darles energía a través del amasado. Estas proteínas pueden absorber prácticamente dos veces su peso en agua y constituir una red deformable, elástica y extensible capaz de retener CO<sub>2</sub> durante la fermentación y posterior

cocción. Por lo tanto, la calidad de la harina de trigo está determinada principalmente por la estructura molecular de las proteínas presentes, y de ellas dependen las interacciones que se establecen durante el amasado, que no solo se dan entre las proteínas y el agua para formar la red de gluten, sino también interacciones con otros componentes presentes en la harina: almidón, polisacáridos no almidonosos (arabinosilanos, arabinogalactanos) y lípidos (neutros y polares: fosfo y glicolípidos) (A. D. Bettge y Morris, 2000; Carr y Daniels, 1992).

La composición química de la harina de trigo varía respecto del grano entero debido al proceso de molienda, siendo la modificación más relevante la que se produce sobre la proporción de proteínas y almidón (Hoseney, 1994a). La composición en base seca de una harina es aproximadamente un 70% de almidón, 9-18% de proteínas, 2% de lípidos y 2,5% de polisacáridos no almidonosos (Yúfera, 1998).

A nivel mundial, las galletitas dulces son elaboradas a partir de trigos blandos, por las características de la harina que producen. Los trigos de textura blanda tienen propiedades únicas que los hacen aptos para la producción de galletitas. Sus harinas tienen un menor contenido de proteínas (generalmente no supera el 10%), gluten más débil, menor capacidad de absorber agua y una granulometría más fina que las harinas de trigos duros (Tanilli, 1976). En los trigos blandos la adhesión entre los gránulos de almidón y la matriz proteica es menor que en los trigos duros por la presencia de proteínas en la superficie de los gránulos, llamadas friabilinas. Por lo tanto, durante el proceso de molienda del trigo blando, muchos gránulos permanecen intactos, produciendo menor contenido de almidón dañado. Esto hace que las masas que se obtienen a partir de estas harinas presenten menores valores de elasticidad y resistencia a la extensión que las masas obtenidas a partir de trigo duro (Hoseney, 1994b).

En nuestro país, el cultivo de trigo blando no está extendido por temor a que se produzcan mezclas con trigos panificables, que afecten la calidad panadera de estos últimos. Sumado a los bajos rendimientos y la gran sensibilidad a enfermedades que poseen los trigos blandos disponibles para su cultivo en el país, son menos rentables que las variedades de trigo panadero. Por este motivo las harinas provenientes de trigos blandos resultan más costosas y la industria prefiere utilizar harina de trigos panaderos con el agregado de aditivos que logran imitar las propiedades del trigo blando a un costo más conveniente. Hasta el año 2012, las variedades disponibles eran extranjeras y no presentaban una buena adaptación a los suelos y ambientes argentinos. Actualmente existen en el país 4 variedades de trigo blando inscriptas para su cultivo, y una de éstas ha sido desarrollada en el país por INTA e inscripta en 2012 (variedad Biointa 3007 BB). Desde hace dos años, Molino Campodónico cultiva y comercializa unas 2000 toneladas de trigo blando (variedad QALBis) en el país para Terrabusi (Kraft Foods) y

algunas empresas más pequeñas (comunicación personal de Miguel Cardos, Molino Campodónico, 2013).

Las harinas de trigo duro son conocidas por su capacidad de absorción de agua, dado el grosor de sus paredes celulares. Además presentan gran adhesión ente las proteínas y el almidón y esto hace que durante la molienda el almidón resulte más dañado. Las características de las harinas de trigo duro hacen que sean aptas para la elaboración de panes y otros tipos de productos esponjados.

Las galletitas elaboradas a partir de trigos blandos tienen una mejor apariencia y textura, y resultan más tiernas que las elaboradas a partir de trigos duros (Hoseney y Rogers, 1994; Wade, 1988). Además, se sabe que las galletitas de trigos blandos se expanden a mayor velocidad y fijan su estructura más tarde, durante el horneado, que las elaboradas con trigos duros (Miller y Hoseney, 1997a). Esto es así dado que las masas obtenidas con harinas de trigos duros incrementan su viscosidad más rápidamente y a menores temperaturas durante el horneado que las masas elaboradas con trigos blandos (Wade, 1988).

### Sacarosa

Luego de la harina, el principal ingrediente de las galletitas dulces es el azúcar, siendo la sacarosa la más comúnmente utilizada. La sacarosa es un disacárido no reductor ( $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-fructofuranosa), que se obtiene casi exclusivamente de la caña de azúcar y de la remolacha azucarera. Se adquiere normalmente en forma de cristales blancos, en una gran diversidad de tamaños. Además de la función edulcorante, su presencia es determinante en la estructura y textura de la galletita.

En la masa de las galletitas dulces, la sacarosa se disuelve parcialmente, dada la escasa cantidad de agua presente. A medida que la masa se calienta en el horno, el límite de solubilidad aumenta produciendo la expansión de la masa al reducir la viscosidad, ya que incrementa el volumen de la fase acuosa (Hoseney, 1994b). Se ha comprobado que la sacarosa desplaza el punto de gelatinización del almidón a mayor temperatura y disminuye el grado de gelatinización (Chevallier *et al.*, 2000), debido a que produce disminución de la actividad de agua. Esto permite que la masa se expanda en el horno durante más tiempo, resultando en un producto de mayor diámetro, es decir, mejor calidad (Miller, Hoseney y Morris, 1997).

Durante el horneado se produce una pérdida de humedad en la superficie del producto por evaporación, seguida de migración de humedad a la superficie y pérdida continua a la atmósfera del horno. A medida que el sistema se expande, el azúcar cristaliza generando un craquelado superficial. De esta forma, la sacarosa actúa como un agente de endurecimiento, afectando fuertemente la textura del producto final y produciendo la crujencia característica de

las galletitas (Hoseney, 1994b). Además, en presencia de aminoácidos, péptidos y proteínas, cuando se calienta una solución de azúcares reductores puede dar lugar a la reacción de Maillard o de pardeamiento no enzimático que conduce a la producción de melanoidinas de color pardo oscuro. Esta reacción, junto con la caramelización es muy importante para la obtención de tonos pardos sobre la superficie de las galletitas horneadas y también tiene influencia sobre el sabor de las galletitas (Manley, 2000).

Además, controla la hidratación y tiende a dispersar las moléculas de proteína y almidón, previniendo la formación de una masa continua (Bean y Setser, 1992). Se ha postulado que funciona como antioxidante en las galletitas, aumentando la vida de anaquel por retardar la rancidez de la grasa y juega un importante rol en la estabilidad de emulsiones coloidales en el sistema.

### Grasa

Además del sabor característico que imparte, una de las principales funciones de la grasa es actuar sobre la textura de la masa. Durante el amasado, la grasa cubre las partículas de harina, evitando que se hidraten. Esto es de gran importancia en la masa de galletitas dulces, ya que si la harina entra en contacto con el agua durante este proceso, se desarrollaría una red de gluten, indeseada en este tipo de producto, debido a sus propiedades viscoelásticas. Si el porcentaje de grasa en la masa es alto, el efecto lubricante es tan pronunciado que se necesita muy poca agua para alcanzar la consistencia deseada. De esta manera, la masa resultante se caracteriza por una estructura débil, cohesiva y poco extensible, manteniendo la forma luego de ser cortada en piezas. En general, mientras más grasa esté presente en la masa, el producto final resulta más tierno a la mordida (Lai y Lin, 2006).

La grasa utilizada en la formulación de galletitas es una mezcla de triglicéridos sólidos y líquidos. La fase sólida presenta una red de cristales microscópicos que almacenan la fase líquida en los intersticios. Cada una de estas fases tiene una función determinada: la fase líquida funciona como emulsionante, favoreciendo la incorporación de importantes volúmenes de aire durante el amasado (Jacob y Leelavathi, 2007), mientras que los cristales de la fase sólida presentan un rol estructural, reteniendo el aire incorporado en el amasado y durante el horneado. Esto contribuye a formar la estructura suave y uniforme de las galletitas (Brooker, 1996; Lai y Lin, 2006).

Las galletitas tienen menor contenido de humedad que otros productos de panificación, por lo que la estructura tierna y la sensación en boca dependen en gran medida de las propiedades de la materia grasa. La grasa es la principal responsable de unir los ingredientes de la masa (Jacob y Leelavathi, 2007).

La reducción en alguno de los ingredientes principales, como azúcar y grasa, genera una serie de inconvenientes tecnológicos en la elaboración de galletitas que en algunos casos puede llevar a la pérdida de su aceptabilidad por parte del consumidor. Entre los inconvenientes más notorios se destacan cambios en las propiedades reológicas de las masas que se traducen en problemas en la adherencia de las masas a las superficies de trabajo y modificaciones de forma, altura, densidad, color y textura de los productos horneados. Estas modificaciones originan problemas en los procesos productivos y en el aspecto sensorial de los productos, tanto visual como de sabor (Maache-Rezzoug *et al.*, 1998).

Con el objetivo de conocer la influencia de la variación de los ingredientes principales del sistema, se analizaron los efectos de la reducción de grasa y azúcar sobre las propiedades de las masas y la calidad de las galletitas formuladas a partir de dos harinas de diferentes clases de trigos.

## Procedimiento experimental

### Materiales

Para la elaboración de las galletitas se utilizaron dos harinas de diferentes características: de trigo duro (Baguette 10) (proteína= 10,4%, humedad= 13,3%, cenizas= 0,59% (bs), almidón dañado= 9,72%) y de trigo blando (Biointa 3007) (proteína= 10,52%, humedad= 14,02%, cenizas= 0,62% (bs), almidón dañado= 7,87%).

### Elaboración de masas y galletitas

Las galletitas se elaboraron según lo descrito en el Capítulo 2. Con el objetivo de evaluar los efectos de la reducción de grasa y azúcar en la formulación de las galletitas, se elaboraron masas con 50 y 75% de grasa de las masas control y otras con 50 y 75% de azúcar, manteniendo los demás ingredientes constantes (Tabla 3.I).

Tabla 3.I. Ingredientes utilizados en las formulaciones de galletitas y el porcentaje en base seca de cada uno (%bs).

Ingredientes	Control		75% grasa		50% grasa		75% azúcar		50% azúcar	
	Peso [g]	%p/p	Peso [g]	%p/p	Peso [g]	%p/p	Peso [g]	%p/p	Peso [g]	%p/p
Harina	45	44,4	45	46,7	45	49,3	45	47,6	45	51,2
Azúcar impalpable	27	26,6	27	28	27	29,6	20	21,4	14	15,4
Grasa vegetal	20	19,9	15	15,7	10	11,1	20	21,3	20	23
Leche en polvo	2,25	2,22	2,25	2,34	2,25	2,47	2,25	2,38	2,25	2,56
Bicarbonato de Sodio	0,5	0,49	0,5	0,52	0,5	0,55	0,5	0,53	0,5	0,57
Sal	0,42	0,41	0,42	0,44	0,42	0,46	0,42	0,44	0,42	0,48
Agua	6	5,92	6	6,23	6	6,57	6	6,34	6	6,83

### Evaluación de las masas de galletita con reducción de grasa y azúcar

Los efectos de la reducción de grasa y azúcar sobre la movilidad del agua se estudiaron mediante ensayos de resonancia magnética nuclear, según se describió en el Capítulo 2. Con el objetivo de poder asignar picos a las poblaciones obtenidas mediante la secuencia *Carr–Purcell–Meiboom–Gill* (CPMG) y conocer la influencia de los diferentes ingredientes en los tiempos de relajación, como también en la variación de la fracción móvil, se estudiaron masas control, masas con el máximo nivel de reducción de grasa y azúcar y masas con distintos porcentajes de agua (4,0%; 5,9%; 7,7%; 9,5% y 11,2% del peso total de masa). Se evaluó la secuencia *Free*

*Induction Decay* (FID) a 30 °C y la secuencia *Carr–Purcell–Meiboom–Gill* (CPMG) a temperatura ambiente y durante el calentamiento de 30 a 110 °C.

Las mediciones del control y de las muestras con reducción de grasa y azúcar se realizaron sobre masas crudas y galletitas horneadas. Todas las determinaciones se realizaron sobre masas elaboradas con harina comercial.

La caracterización reológica de las masas de galletitas se realizó mediante ensayos de fluencia o relajación y ensayos de viscoelasticidad de frecuencia y de temperatura (Capítulo 2).

#### Comportamiento térmico de las masas.

El estudio de las transiciones de estado ocurridas durante el calentamiento de las masas se llevó a cabo mediante calorimetría diferencial de barrido (Capítulo 2).

Con el objetivo de verificar si ocurre gelatinización de almidón durante el horneado, se realizaron ensayos con masa cruda y galletitas cocidas control, 50G (masa elaborada con 50% de grasa) y 50A (masa elaborada con 50% de azúcar) formuladas con una harina comercial. Estas muestras fueron deslipidizadas en hexano durante 24 horas para evitar que la grasa interfiera en la medición. Se pesó 10 mg de muestra y se añadió 20 µL de agua destilada. Las cápsulas se cerraron herméticamente y se dejaron reposar durante 24 h a temperatura ambiente antes de ser sometidas al análisis, que se llevó a cabo según se describió en el Capítulo 2. Se registró la temperatura de inicio, finalización y pico, como también la entalpía de transición.

Para visualizar la microestructura de la masa mediante microscopía confocal, se utilizó una técnica de doble tinción (según Capítulo 2).

Los cambios en las dimensiones de las piezas durante el proceso de horneado se midieron como se describió en el Capítulo 2.

#### **Evaluación de la calidad de galletitas con reducción de grasa y azúcar**

La calidad de las galletitas horneadas se determinó mediante el factor galletita (FG), el color superficial, la textura y la evaluación de la estructura superficial, según se describió en el Capítulo 2.

#### **Evaluación sensorial**

Los ensayos sensoriales descriptivo y de preferencia fueron realizados por un panel de 14 jueces semientrenados (cinco hombres y nueve mujeres) del Laboratorio de Química Biológica (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba) según se describió en el Capítulo 2.

**Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó según se describió en el Capítulo 2.

## Resultados y discusión

### Evaluación de las masas

#### Efecto de la reducción de grasa y azúcar sobre la movilidad del agua

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es un fenómeno físico que se basa en la interacción entre el momento angular intrínseco de los núcleos atómicos o momento de espín  $\vec{I}$  y el campo magnético externo. Cada núcleo con momento de espín no nulo posee un momento angular total  $\vec{J}$  relacionado con el momento magnético  $\vec{\mu}$  de la forma:

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{J}$$

donde

$$\vec{J} = \hbar \vec{I}$$

y  $\gamma$  es la constante geomagnética única a cada tipo de átomo, por lo que resulta:

$$\vec{\mu} = \gamma \hbar \vec{I}$$

En ausencia de un campo magnético externo, los espines se encuentran orientados aleatoriamente y el momento magnético total es cero. Sin embargo, si se aplica un campo magnético estático  $\vec{B}_0$  los momentos magnéticos de los núcleos tienden a alinearse con el campo, de manera de generar un momento magnético total neto  $\vec{\mu}$ . Si un sistema es puesto en un campo magnético durante cierto tiempo, alcanza un equilibrio térmico. Esto implica que las poblaciones de los estados están dadas por la distribución de Boltzmann.

Con el fin de obtener señal de RMN, es decir, para poder excitar a los espines fuera del equilibrio, es necesaria la aplicación de un campo magnético oscilante  $B_1$  (campo de radiofrecuencia o rf) en el plano x-y (en general B está a lo largo del eje x), sintonizado a la frecuencia de resonancia de los espines. Los pulsos de rf inducen transiciones entre los distintos niveles de energía, haciendo que las poblaciones se desvíen de sus valores de equilibrio. El proceso por el cual se recupera el estado de equilibrio mediante interacciones del sistema de espines con el ambiente térmico, se conoce como relajación longitudinal o proceso de relajación espín-red y está caracterizado por un tiempo  $T_1$ , mientras que la relación transversal, es decir la pérdida de coherencia en las fases debido a interacciones entre los mismos espines, se conoce como relajación transversal o relajación espín-espín caracterizado por un tiempo  $T_2$ .

La movilidad del agua en sistemas heterogéneos puede ser estudiada a través de la medición del tiempo de relajación espín-espín  $T_2$ . En general la relajación de sistemas complejos posee múltiples componentes de  $T_2$ , donde cada una de ellos puede ser interpretada como la representación de diferentes movilidades de los protones de agua. De esta forma, la RMN es

una buena herramienta para el estudio de productos alimenticios, en donde cada uno de los componentes puede ser asociado a diferentes regiones de movilidad.

En sistemas heterogéneos, la señal puede no estar representada por un único decaimiento, sino por una distribución de una o más funciones. Las funciones y sus intensidades relativas proveen información acerca de la estructura y el comportamiento de las muestras. Particularmente, una función gaussiana es asociada a una fuerte interacción dipolar en una red sólida, mientras que una función exponencial tiene su origen en las interacciones entre grupos altamente móviles (Abragam, 1961).

En muestras heterogéneas, como la masa de galletitas, en donde coexisten fases móviles, sólidas y fases intermedias, correspondientes a agua estructurada de diferente forma, es posible descomponer la señal de RMN, en la suma de términos gaussianos (asociados a los protones en la fase sólida) y de términos exponenciales (asociados a los protones más móviles)(Denis, Le Botlany Ouguerram 1997).

$$S_{FID}(t) = \Sigma A_{si} \exp\left(-\frac{t}{T_{2si}^*}\right) + \Sigma A_{mj} \exp\left(-\frac{t}{T_{2mj}^*}\right)$$

donde  $T_{2si}^*$  y  $T_{2mj}^*$  son los tiempos de relajación de la fase sólida y de la fase móvil respectivamente.  $A_{si}$  y  $A_{mj}$  se corresponden a la amplitud de las señales, las cuales son proporcionales a la cantidad de protones cada fase. De esta forma, ajustando la señal de la FID se puede determinar la fracción móvil de la muestra a estudiar, es decir:

$$F_{móvil} = \frac{\Sigma A_{mj}}{\Sigma(A_{si} + A_{mj})}$$

La señal de la FID no puede ser utilizada para medir altas movilidades (hasta 1 ms), ya que ésta decae debido a las heterogeneidades de campo. Una alternativa para solucionar este problema, es utilizar la secuencia CPMG, ya que la señal refocalizada en cada eco está libre de heterogeneidades. Sin embargo, los valores de  $T_2$  medidos con esta secuencia, solo representan la fracción móvil del sistema, ya que los tiempos de relajación asociados a la parte sólida decaen muy rápido y no pueden ser detectados correctamente ( $T_2$  mayores a 100  $\mu$ s).

La señal resultante de la secuencia de la CPMG puede ajustarse mediante una suma de términos exponenciales, representando el decaimiento de la fase móvil del sistema como:

$$S_{CPMG}(t) = \Sigma P_{mj} \exp\left(-\frac{t}{T_{2mj}}\right)$$

donde  $T_{2mj}$  y  $P_{mj}$  son el tiempo de relajación y la intensidad de las diferentes poblaciones móviles respectivamente.

La suma de las poblaciones asociadas a los diferentes  $T_2$  representa el porcentaje móvil total de la muestra, es decir:

$$\Sigma P_{mj} = F_{móvil}$$

En masas de productos de panificación se han reportado valores de los tiempos de relajación entre los 10  $\mu\text{s}$  y los 2,2 s (agua libre), los cuales suelen dividirse en tres grandes rangos (Denis, Le Botlan, y Ouguerram 1997).

Sin embargo en la masa de galletitas que se elabora con menos de 12% de agua, no existe agua libre. La presencia de numerosos componentes en diferentes estados, y la competencia por el agua, hace que ésta se distribuya entre los diferentes componentes originando zonas de agua más o menos estructurada. De esta forma, usando  $S_{FID}(t)$  y  $S_{CPMG}(t)$  se puede obtener información acerca de la estructura de la muestra a estudiar.

El procesamiento de datos asociados a decaimientos multiexponenciales es llevado a cabo mediante la aplicación de la Transformada Inversa de Laplace, que determina la distribución de los tiempos de relajación presentes en la señal de RMN.

A partir del estudio de la secuencia FID de la masa control, se observaron dos poblaciones a temperatura ambiente: una con tiempo de relajación más corto (llamada población A,  $T_A = 59 \mu\text{s}$ ) y otra población con mayor tiempo de relajación (población B,  $T_B = 1,65 \text{ ms}$ ) (Figura 3.3). Assifaoui *et al.* (2006a) estudiaron la movilidad de agua en galletitas, sin embargo estas masas se elaboraron con mayor contenido de agua que las analizadas en el laboratorio (19,6%). Mediante el estudio de la secuencia FID a temperatura ambiente, observaron dos poblaciones de protones, con tiempos de relajación de 11  $\mu\text{s}$  y 2,4 ms. Estos autores asociaron la población con menor movilidad a protones de componentes sólidos, como el almidón, las proteínas y moléculas de agua estrechamente ligada a estos componentes. La segunda población la relacionaron con los protones más móviles de la masa.

A partir de los estudios realizados por Assifaoui *et al.* (2006), relacionamos la población A con protones asociados a los grupos que tienen protones ligados, como CH, COH, COOH, etc, del almidón y proteínas de la harina de trigo y la población B, a protones de moléculas de agua y componentes en interacción con el agua, que representan la parte móvil de la señal.

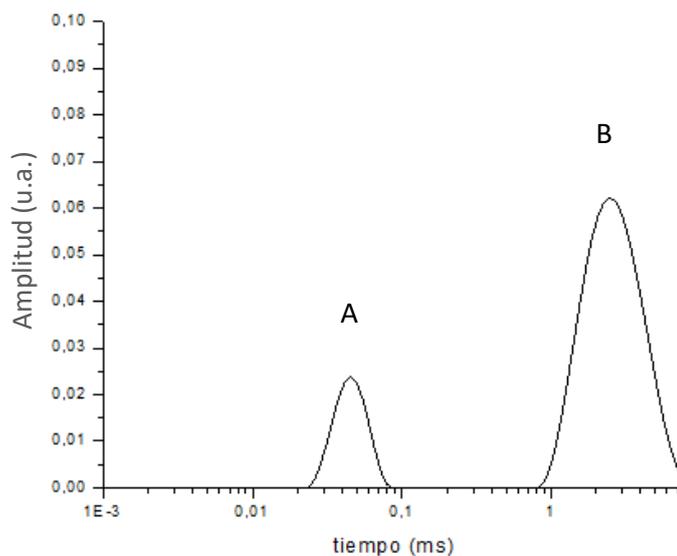


Figura 3.3. Secuencia FID de las poblaciones A y B de la masa control.

A medida que el sistema fue calentado, el área correspondiente a la población A fue aumentando gradualmente, mientras que la componente móvil fue disminuyendo, tal como era esperado (Figura 3.4). Este comportamiento se debe a que a medida que el sistema pierde humedad por el incremento de la temperatura, hay menos moléculas de agua en contacto con el almidón y las proteínas, por lo que parte de los protones de la población B se vuelven menos móviles y aumenta la cantidad de protones de la población A. Por otro lado, los tiempos de relajación de ambas poblaciones permanecieron casi sin cambios durante todo el barrido de temperatura, por lo que se pudo determinar que la secuencia FID no permite observar cambios en la dinámica de las moléculas de agua relacionada a los diferentes componentes de la masa de galletitas.

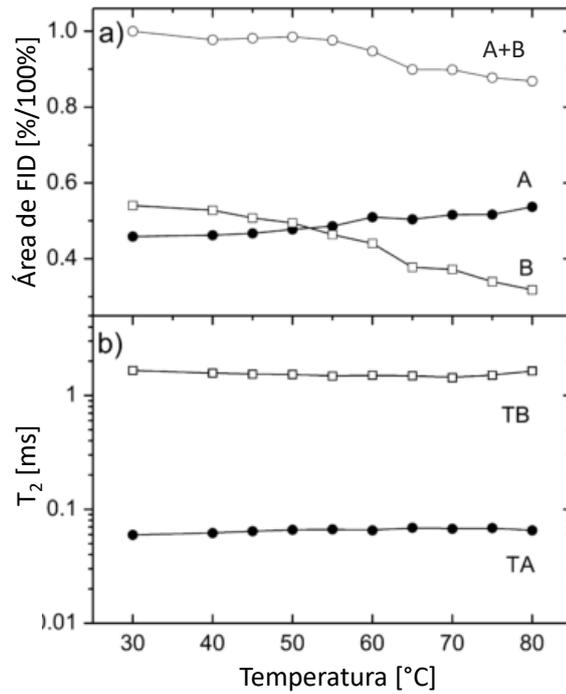


Figura 3.4. Evolución de los tiempos de relajación ( $T_2$ ) y de las áreas determinadas con la secuencia FID correspondientes a las poblaciones A y B de la masa control con la temperatura.

Para conocer cómo se distribuye esta población de agua más móvil, se utilizó la secuencia CPMG. La señal obtenida fue analizada a través de la aplicación de una Transformada Inversa de Laplace, que se usa para determinar distribuciones de  $T_2$  (Figura 3.5). El área total bajo la curva de ésta distribución, representa el total de protones en la fase móvil ( $F_{móvil}$ ) del sistema. A partir de la deconvolución de esta curva, se pudo conocer que la fase móvil está compuesta por cuatro poblaciones (llamadas C, D, E' y E).

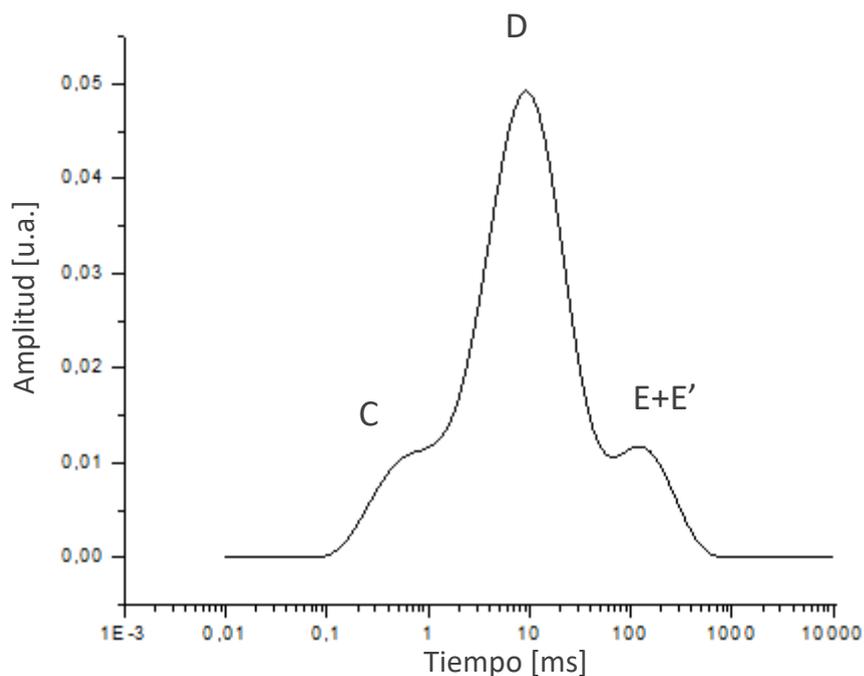


Figura 3.5. Distribución tiempos de relajación  $T_2$  obtenidos con señal de CPMG de la masa control a 30°C.

Estos resultados muestran que la masa de galletitas se caracteriza por la existencia de diferentes poblaciones de agua estructurada, en menor o en mayor medida. Para relacionar estas poblaciones con los componentes de la masa se realizaron otras experiencias. En primer lugar se realizaron ensayos variando el contenido de agua en la masa. Los porcentajes utilizados fueron: 4,0, 5,9, 7,7, 9,5 y 11,2% del peso total de la masa.

Con respecto al comportamiento de las poblaciones medidas por FID, se observó que la población de agua relacionada a componentes sólidos, A, disminuyó proporcionalmente cuando se aumentó el contenido de agua, mientras la población más móvil (B), aumentó con el porcentaje de agua en el sistema (resultado no mostrado).

Basándonos en los ensayos realizados por otros autores (Assifaoui *et al.*, 2006), analizamos la secuencia CPMG de masas con porcentajes de humedad entre 4,03 y 11,18%, para conocer la contribución de los ingredientes de nuestro sistema (Figura 3.6, Tabla 3.II). La variación en el porcentaje de humedad, no influyó en la población C, sin embargo las demás poblaciones se redistribuyeron a medida que se aumentó el contenido de agua: D aumentó significativamente, mientras que E' y E cambiaron su movilidad y proporción a partir del 9,49% de humedad, hasta convertirse en una sola población para el porcentaje más alto. A partir de estos resultados y coincidiendo con lo informado por Assifaoui *et al.* (2006), se relacionó la primera población (C) al agua ligada a componentes sólidos, como almidón, proteínas y otro

componentes hidrofílicos, y la segunda población (D) al agua menos ligada. Debido a que la tercer y cuarta población no se vieron significativamente afectadas por la variación del agua en la masa, se concluyó que ambas pueden estar relacionada con la grasa del sistema.

Assifaoui *et al.* (2006) analizaron la secuencia CPMG de las masas de galletita (elaboradas con aceite de palma y mayores contenidos de agua) y concluyeron que la fase móvil estaba compuesta por tres poblaciones con tiempos de relajación a  $T_2(1)=1,9$ ,  $T_2(2)=12,4$  y  $T_2(3)=104,7$  ms. En masas formadas solo con harina y agua observaron una sola población, con un  $T_2$  entre las dos primeras poblaciones del espectro de la masa de galletitas. El tiempo de relajación de esta única población aumentó con el contenido de agua, indicando un incremento del agua más libre. Esto les permitió relacionar la primera población a protones de agua asociados al gluten y la segunda población a protones de agua asociados a almidón y azúcar. El espectro del aceite de palma mostró una sola población con tiempo de relajación largo, mientras que en masas formuladas sin aceite (pero con azúcar) esta población no apareció. Por lo tanto, la tercera población fue asociada a la grasa. Finalmente, los autores realizaron ensayos variando el contenido de agua de la masa de 16,3 a 23,0%. La variación en el contenido de humedad solo afectó a la segunda población, que aumentó linealmente en función de la proporción de agua, por lo que se asoció al agua menos ligada o más libre.

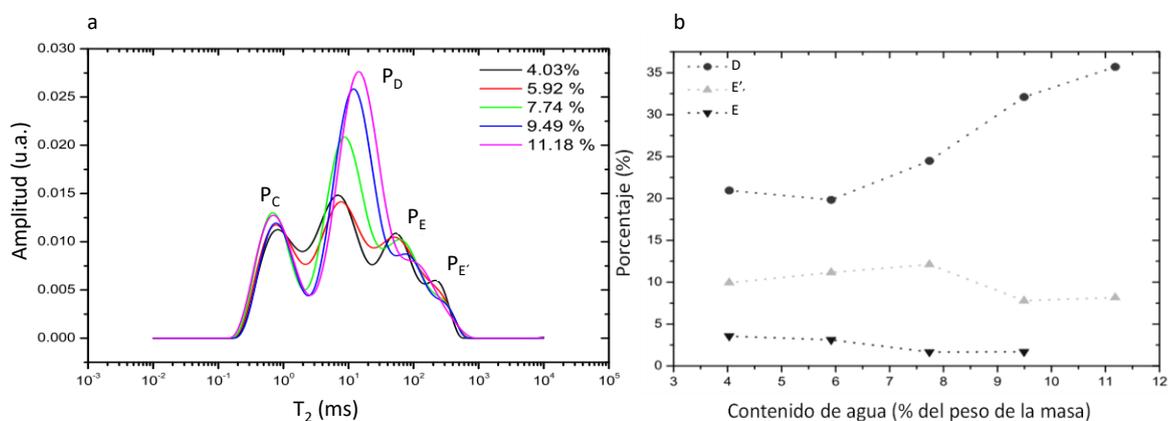


Figura 3.6. a: distribución de tiempos de relajación transversal ( $T_2$ ) de las masas con diferentes contenidos de agua, medidos a 30 °C. b: variación del porcentaje asociado a las poblaciones móviles D, E' y E, medidas por CPMG en función del contenido de agua de la masa control, a 30 °C.

Tabla 3.II. Valores de  $T_2$  de masas de galletitas con diferentes contenidos de agua, medidos a 30 °C

Contenido de agua (%)	$T_2C$ [ms]	$T_2D$ [ms]	$T_2E'$ [ms]	$T_2E$ [ms]
-----------------------	-------------	-------------	--------------	-------------

4,03	0,78	6,63	58,0	230,6
5,92	0,76	7,47	59,4	234,7
7,74	0,70	8,58	67,1	292,1
9,49	0,79	11,95	89,2	302,6
11,18	0,70	14,39	126,7	126,7

Para confirmar que las poblaciones con  $T_2$  más largos se deban a la grasa, se analizó la secuencia de CPMG de la margarina utilizada en la formulación (Figura 3.7). A 30 °C se observaron dos poblaciones, lo que coincide con los espectros de la masa de galletitas, por lo que las últimas dos poblaciones ( $E'$  y  $E$ ) se asociaron a la grasa. Esta margarina es una mezcla semi-sólida, compuesta por una red continua de agregados de grasa. La estructura de las emulsiones es muy sensible a los cambios de temperatura. La emulsión permanece estable hasta una temperatura crítica (temperatura de fusión), a partir de la cual la estabilidad se pierde y se dividen las fases. Para conocer el comportamiento de la margarina a distintas temperaturas, se midieron además los tiempos de relajación a 110 °C y enfriada nuevamente a 30°C (Figura 3.7).

Cuando la grasa fue calentada a 110 °C, las dos poblaciones que se veían a temperatura ambiente confluyeron en una sola con mayor movilidad. Esto indica que a 110 °C la margarina se encuentra en estado líquido. Luego del enfriamiento (a 30 °C), se vio un perfil diferente al inicial, debido a la fusión de los cristales que antes se diferenciaban en dos poblaciones.

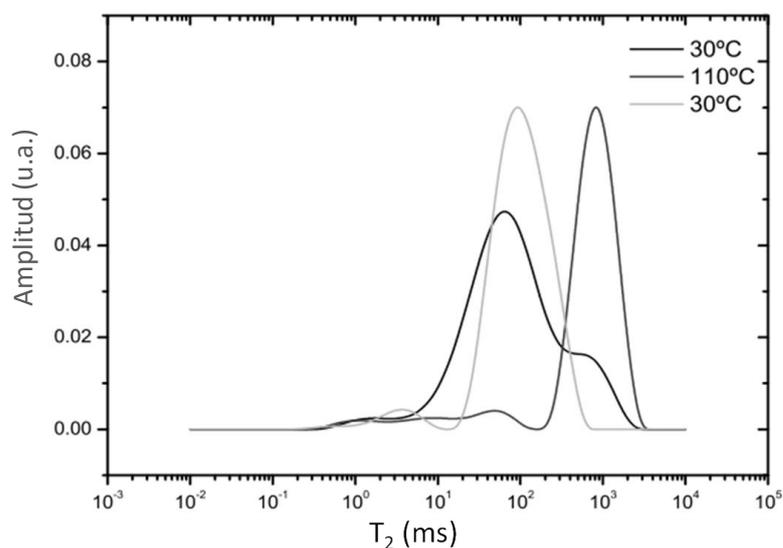


Figura 3.7. Distribución de  $T_2$  de margarina a temperatura ambiente (30 °C), a 110 °C y enfriada a 30 °C.

Para conocer la temperatura exacta a la cual funden los cristales de margarina se hizo un seguimiento de los  $T_2$  de estas poblaciones a medida que se calientan, en un rango de 30 a 110 °C. Se observaron dos poblaciones separadas desde los 30 a los 50 °C y a partir de esta temperatura ambas poblaciones se unificaron y adquirieron mayor movilidad (Figura 3.8). De

esta forma se determinó que los cristales de grasa fundieron entre 40 y 50 °C, ya que las mediciones se tomaron cada 10°C.

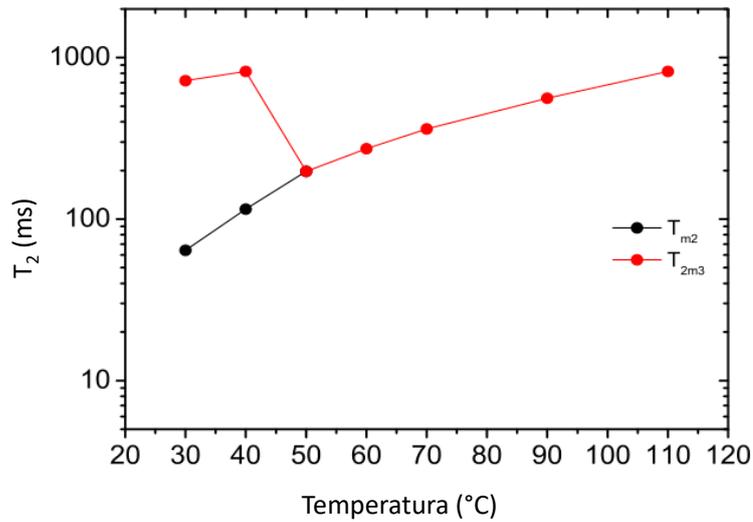


Figura 3.8. Variación de los tiempos de relajación  $T_2$  con la temperatura de las dos poblaciones de margarina en el rango 30-110 °C.

Con el objetivo de conocer cómo es afectada la movilidad de agua y su interacción con los componentes de la masa durante el proceso de horneado, se midió la evolución de las poblaciones del control, de manera continua mientras el sistema fue calentado a 3 °C/min. En la Figura 3.9 se muestran las distribuciones de  $T_2$  en cuatro momentos: a 30, 50, 65 y a 30 °C en la galletita horneada. En la distribución de  $T_2$  a 30 °C se distinguieron claramente las cuatro poblaciones (Figura 3.9a). A medida que aumentó la temperatura (50 °C), el primer cambio notorio que se observó fue la fusión de la grasa (Figura 3.9b). A esta temperatura el tiempo de relajación asociado a la población D permaneció constante, mientras que las otras dos poblaciones (C y E) mostraron variaciones en su intensidad. Tal como se observó en el espectro de la margarina sola, la movilidad de la grasa (población E) incrementó su movilidad por encima de la temperatura de fusión, con el correspondiente aumento en el tiempo de relajación. Por otro lado, la población C disminuyó levemente su movilidad al aumentar la temperatura. A 65 °C el perfil cambió notablemente debido a que el agua que se observaba más ligada comenzó a eliminarse (Figura 3.9c). La población C disminuyó su intensidad y tiempo de relajación. Lo que probablemente ocurrió en el sistema a esta temperatura es que la fracción de grupos de protones ligados a la matriz sólida, correspondientes a almidón, proteínas y pentosanos, no están más en contacto con el agua, por lo que contribuirían a la intensidad de la población A (que aumenta con la temperatura). Además, es probable que ocurra un incremento progresivo de la concentración de la solución de sacarosa, debido al aumento de la solubilidad del azúcar y

la reducción de la cantidad de agua a mayores temperaturas. El mayor cambio que se observó, fue el ancho del pico de la población D a altas temperaturas, que se puede explicar por la presencia de dos poblaciones con diferentes movilidades (D y D'). En la Figura 3.9d se muestra el espectro de la galletita, luego de ser sometida al proceso de cocción. La principal población que se observó fue la grasa, donde se vio una sola población con el mismo tiempo de relajación que presentó en la masa cruda a 30 °C (TE= 80 ms). La población D presentó una intensidad muy baja, con una sola población cuyo tiempo de relajación disminuyó levemente con respecto a la masa (de TD= 6,6 en la masa a TD= 5,6 en la galletita), lo que indica una reducción en la movilidad de los componentes con agua más móvil. Por otro lado, la componente menos móvil, mostró una reducción de los tiempos de relajación de aproximadamente 70% luego del horneado (de TC= 0,8 ms a TC= 0,23 ms).

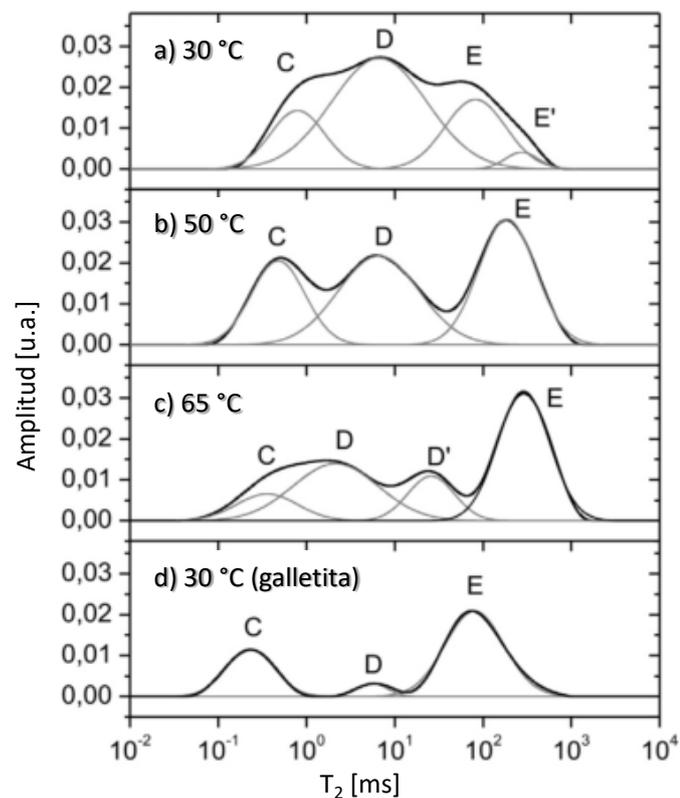


Figura 3.9. Distribución de los tiempos de relajación a 30 °C (a), 50 °C (b) y 65 °C (c) en la masa control y a 30 °C en la galletita horneada (d).

En la Figura 3.10 se muestra el valor promedio de los tiempos de relajación en función de la temperatura, obtenidos durante el calentamiento. Los tiempos de relajación más largos (E y E'), que corresponden a la grasa, presentaron el mismo comportamiento que el espectro de margarina pura. El agua unida a los grupos hidrofílicos de los componentes de la harina (C),

presentaron una disminución de la movilidad con el aumento de temperatura. El agua más móvil (D) permaneció constante hasta que alrededor de 50 °C se separa en dos poblaciones (esta temperatura se denominó temperatura de separación o  $T_s$ ). Una de estas poblaciones (D) no presentó cambios considerables en el tiempo de relajación, y la población nueva (llamada D') mostró un incremento de la movilidad con la temperatura. Como se observa en la Figura 3.10b, la intensidad de esta última población es baja. La intensidad de la población D disminuyó a una velocidad relativamente constante y se relacionó con la evaporación del agua. La intensidad de E aumentó a temperaturas superiores a 40 °C. Este comportamiento se puede relacionar con la fusión de los cristales de grasa, que a temperaturas inferiores a 35 °C estarían contribuyendo a la población A (relacionada a la parte sólida) y que al incrementar la temperatura, adquieren mayor movilidad, formando parte de la población E. Para temperaturas superiores a 50 °C la intensidad de E permaneció relativamente constante. A medida que el sistema se volvió más fluido (según se comprobará más adelante), los componentes hidrofílicos de la harina fueron capaces de incorporar más agua y esto dio lugar a un incremento en el área de la población C, hasta que alcanzó los 50 °C. Luego esta área disminuyó con la temperatura, como se describió previamente. Esto está en concordancia con el comportamiento observado en la población de la secuencia FID, donde la componente sólida aumentó más notablemente luego de los 50 °C.

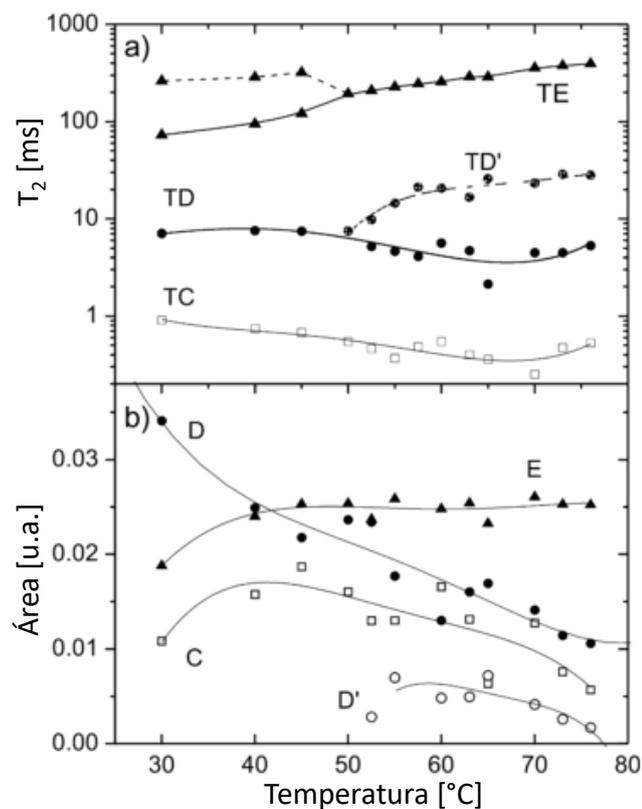


Figura 3.10. Evolución de los tiempos de relajación ( $T_2$ ) y de las áreas correspondientes a las poblaciones C, D, E y E' de la masa control con la temperatura.

Para conocer cómo afecta la reducción de grasa y de azúcar a la distribución de agua, tanto en las masas como en las galletitas horneadas, se llevaron a cabo ensayos con los máximos niveles de reducción: 50% de grasa (50G) y con 50% de azúcar (50A). Las Figuras 3.11 y 3.12 representan los resultados de las secuencias de FID y CPMG correspondientes a la masa y galletita control, respectivamente.

Los resultados de la secuencia FID (Figura 3.11a y 3.12a) muestran la presencia de dos poblaciones de protones: una asociada a la fase sólida (A) y a la de componente móvil (B). Como se mencionó antes, la población con tiempo de relajación más corto (A) está relacionada a grupos de protones rígidos de almidón y gluten que están en escaso contacto con el agua, mientras que la segunda población (B) se asignó a protones con alta interacción con el agua.

En la Figura 3.11a se muestra la intensidad de las dos poblaciones FID (que es el área bajo la curva) para las tres formulaciones de masas evaluadas (control, 50G y 50A). No se observaron cambios significativos relacionados a la intensidad de poblaciones A y B en las muestras con reducción de grasa y de azúcar con respecto al control. La Figura 3.12a muestra las intensidades de las dos poblaciones FID para las tres formulaciones de muestras de galletitas. En este caso, se observó un cambio significativo en la distribución de la población de protones, donde se vio un incremento de la componente sólida (población A) en las galletitas 50G y 50A comparadas con la galletita control, asociado a una disminución de las componentes móviles del sistema (población B).

Los tiempos de relajación de la componente móvil (población B) se estudiaron mediante la secuencia CPMG. En las Figuras 3.11b y 3.12b (representan las secuencias de las masas y galletitas, respectivamente) se muestran los tres picos que corresponden a agua intergranular (población C), protones de agua extragranular en interacción con almidón y sacarosa (población D) y grasa (población E). En el caso de las muestras de masas, los valores de los tiempos de relajación son aproximadamente 0,6, 10 y 115 ms para las poblaciones C, D y E, respectivamente, mientras que para las muestras de galletitas los  $T_2$  fueron 0,2, 4 y 80 ms aproximadamente. Este corrimiento hacia menores tiempos de relajación indica menor movilidad de las poblaciones, es decir que el sistema se volvió más rígido.

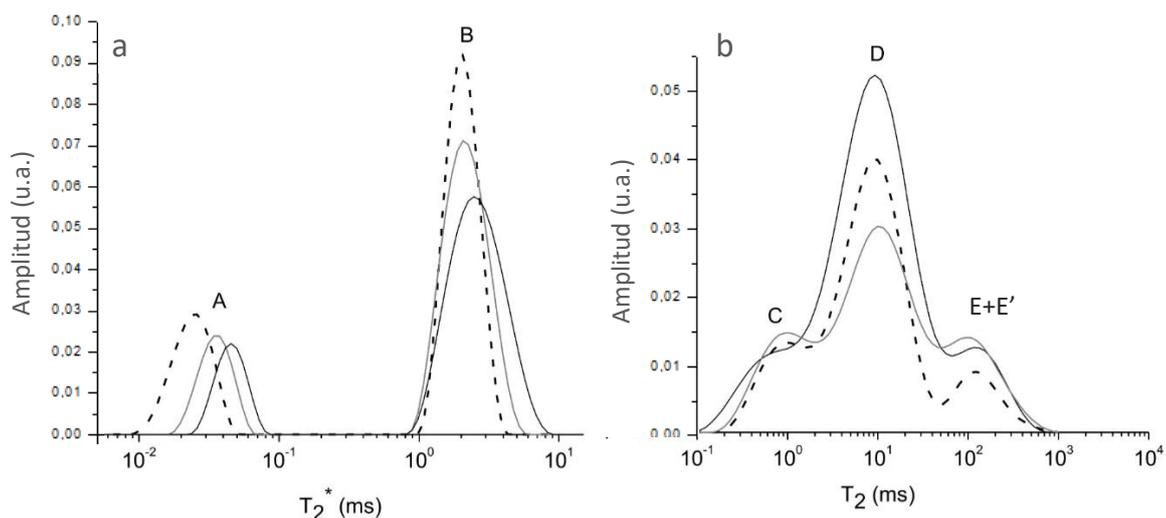


Figura 3.11. Poblaciones de las secuencias FID (a) y CPMG (b) para las muestras de masa control (línea negra), 50% grasa (línea punteada) y 50% azúcar (línea gris).

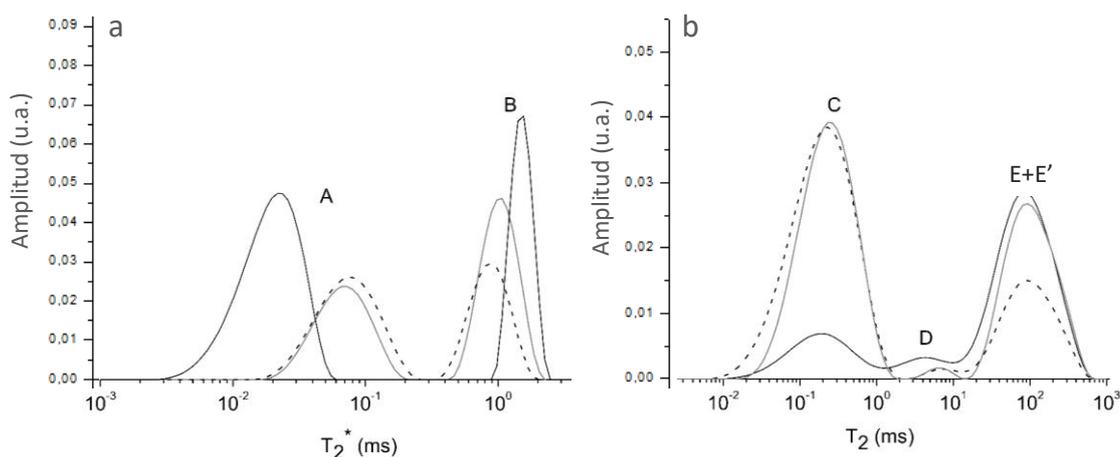


Figura 3.12. Poblaciones de las secuencias FID (a) y CPMG (b) para las muestras de galletita control (línea negra), 50% grasa (línea punteada) y 50% azúcar (línea gris).

La Figura 3.13a muestra la intensidad de las dos poblaciones FID para las tres formulaciones de las muestras de masas. No se observaron cambios significativos relacionados a las intensidades de las poblaciones A y B, para ambas muestras con reducción (50G y 50A) con respecto al control. En la Figura 3.13c se observa la intensidad de las dos poblaciones FID para las tres muestras de galletitas. En este caso se observó una variación significativa en la distribución de la movilidad de protones, donde se evidenció un incremento en la componente sólida (población A) en un factor de 5 para la galletita 50G y un factor de 2 para la galletita 50A comparadas con la galletita control y una disminución en las componentes móviles (población B).

Las Figuras 3.13b y 3.13d representan la intensidad de las tres poblaciones CPMG para las tres muestras de masas y galletitas, respectivamente. En el caso de las masas, el mayor cambio que se observó fue que la formulación 50A presentó una disminución en la población D, lo que se relacionó con menor interacción de agua con la sacarosa. En el caso de las muestras de galletitas (Figura 3.13d), se puede apreciar que la galletita control presenta mayor intensidad de D comparada con las formulaciones 50G y 50A. Este resultado es consistente con la disminución en las componentes móviles de las muestras 50G y 50A observadas con la secuencia FID.

Cabe destacar que la población C mostró mayor intensidad en las galletitas 50G y 50A, indicando una fuerte reducción en la movilidad de los protones del sistema. Es probable que la disminución de la movilidad del sistema, sumado al incremento en la población C, esté indicando una parcial gelatinización de almidón en las galletitas con reducción de azúcar. En las muestras con reducción de grasa, el incremento de la población C coincide con la disminución de la población E. Esto puede deberse a que, al haber menor contenido de grasa dentro de la masa, las partículas de harina quedan más expuestas, lo que permite el desarrollo parcial de la red de gluten.

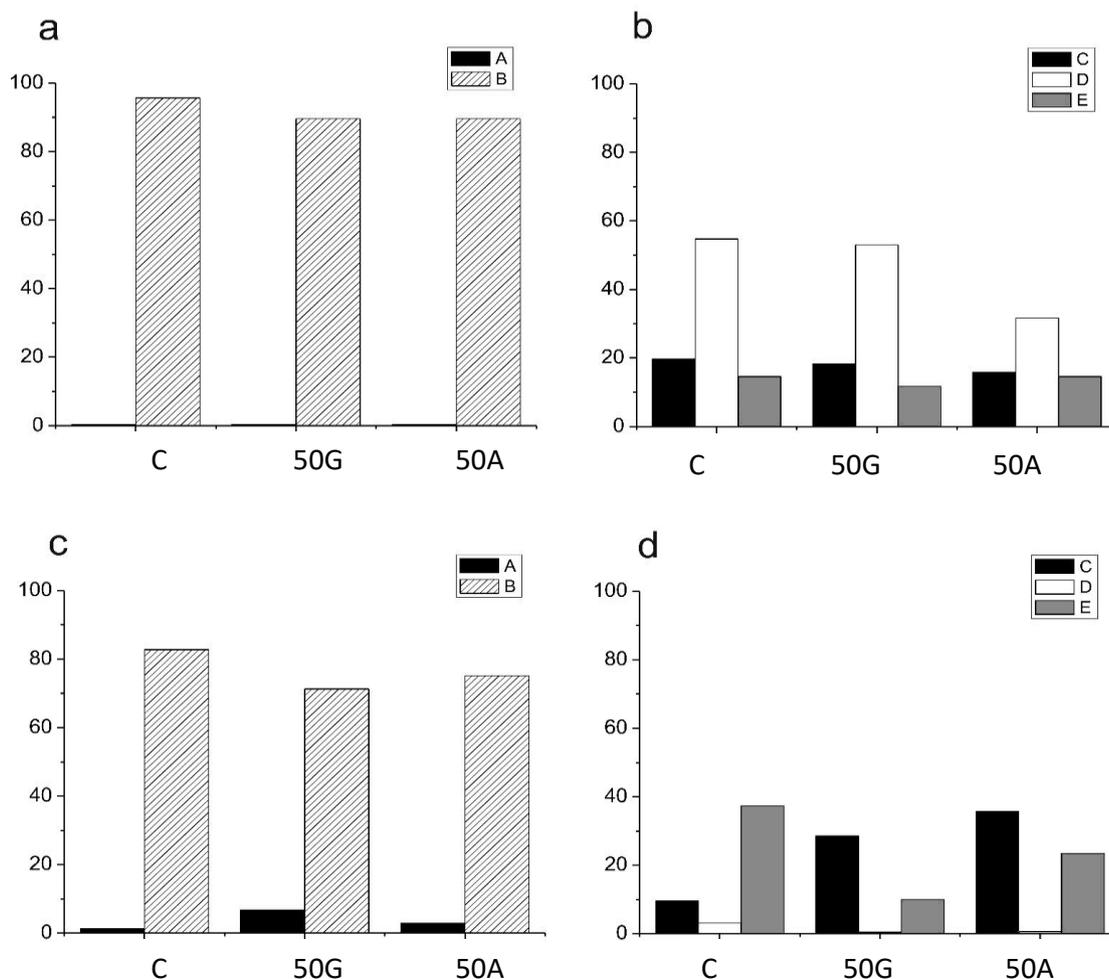


Figura 3.13. Intensidad de las poblaciones de FID correspondientes a las muestras de masas (a) y galletitas (c) y de las poblaciones CPMG correspondientes a las muestras de masas (b) y galletitas (d). C: control; 50G: 50% de grasa; 50A: 50% de azúcar. En todos los casos el error fue menor al 10%.

En la Figura 3.14, se ven los mapas de dos dimensiones correspondientes a las distintas muestras. Mediante estos espectros  $T_2$  vs  $T_1$  es posible estudiar la evolución de las poblaciones de protones mientras se somete el sistema a cambios físico-químicos. Es importante mencionar que la asignación de los picos requiere un completo entendimiento del sistema en estudio.

La línea  $T_1=T_2$  se grafica en todas las figuras (las poblaciones con mayor movilidad están ubicadas cerca de la diagonal), como también la línea  $T_1=70T_2$ , como guía.

Las Figuras 3.14a, b y c corresponden a las masas control, 50G y 50A, respectivamente. Se observó que las poblaciones E con mayor movilidad se ubicaron cerca de la diagonal  $T_1=T_2$ . Las poblaciones denotadas como C y D (con menor movilidad) estuvieron representadas en valores entre 60 y 70 ms.

Las Figuras 3.14b, d y f corresponden a las galletitas control, 50G y 50A, respectivamente. La población D no se resuelve en las migas de las galletitas, indicando que la mayoría del agua libre se evaporó durante la cocción.

Se puede observar en el caso de la masa, comparando las formulaciones 50G (Figura 3.14b) y 50A (Figura 3.14c) con la muestra control (Figura 3.14a), que 50G presentó una leve disminución del tiempo de relajación  $T_1$  de la población de agua más libre (D) y además se observó una disminución de la intensidad de la población de grasa (E), como era esperado. El hecho más notable en relación a la muestra 50A fue que todas las poblaciones mostraron mayor movilidad, denotado por un incremento de  $T_1$ . Esto era esperado, ya que al haber menor cantidad de sacarosa para disolverse en el agua, queda mayor cantidad de agua libre en el sistema. Assifaoui *et al.* (2006a) concluyeron que en presencia de sacarosa, el agua interactúa preferentemente con el azúcar. Por lo tanto, si se reduce la proporción de este ingrediente, el agua se redistribuye entre los otros componentes.

Con respecto a las galletitas, la población C relacionada a agua intergranular en contacto con moléculas de almidón, presentó menor movilidad y mayor intensidad en las formulaciones 50G (Figura 3.14d) y 50A (Figura 3.14f), con respecto al control (Figura 3.14b), indicando mayor rigidez en ambas galletitas con reducción de grasa y azúcar.

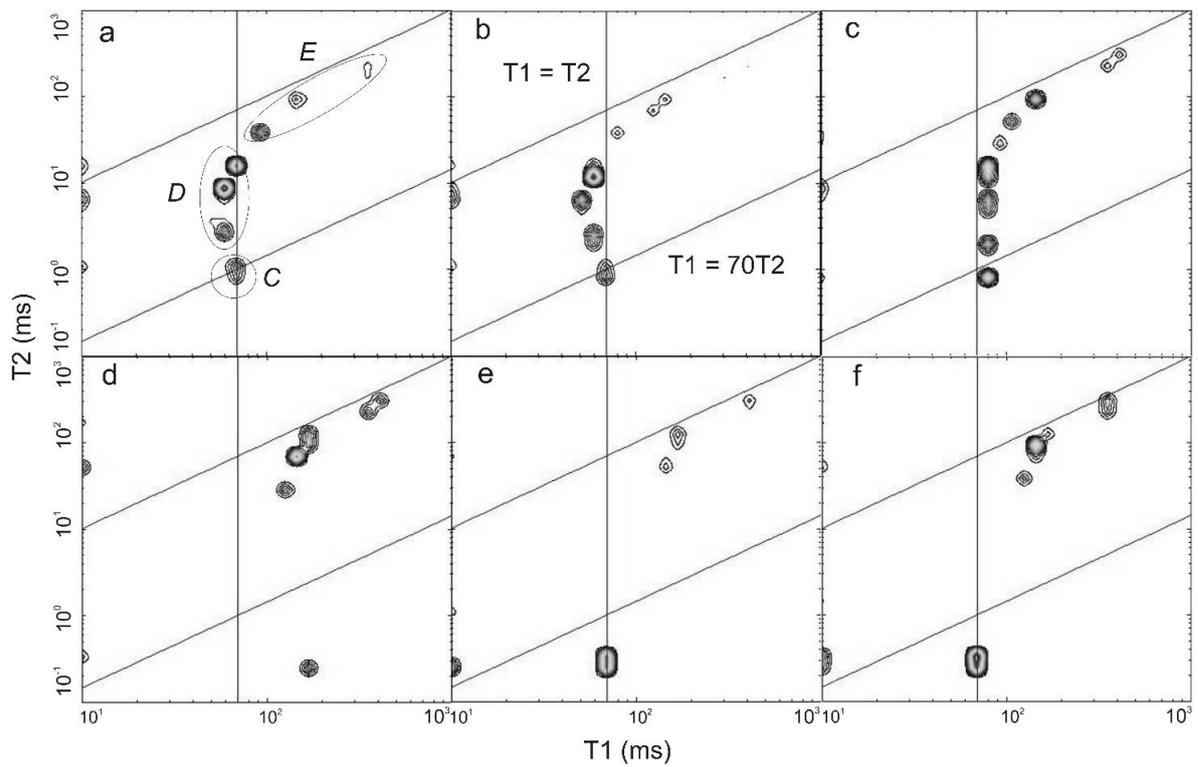


Figura 3.14. Espectro  $T_2$  vs  $T_1$  correspondiente a muestras de masas y galletitas. a: masa control; b: masa 50% grasa; c: masa 50% azúcar; d: galletita control; e: galletita 50% grasa; f: galletita 50% azúcar.

El sistema de las galletitas es muy complejo, debido a la presencia de numerosos componentes que tienen diferentes grados de afinidad por el agua, lo cual dificulta su estudio. Las proporciones en las que estos componentes se encuentran, pueden afectar el comportamiento de las masas y la calidad final de las galletitas. El estudio de la movilidad de agua en las masas de galletitas es muy novedoso y por lo tanto hay pocos estudios realizados al respecto, pero se espera que este método provea información sobre los estados físicos de los componentes del sistema y ayude a comprender los mecanismos de la formación de las masas y su relación con las propiedades reológicas.

## Reología de las masas

### Ensayo de fluencia

La relajación ante un esfuerzo probablemente es uno de los métodos más utilizados para determinar el comportamiento reológico de las masas. En este experimento, la masa de la galletita se comprime hasta un porcentaje de deformación predeterminado y se mantiene la deformación durante un período, en el cual el material se relaja, lo que reduce la fuerza que la masa opone a la deformación (Yadav, Roopa y Bhattacharya, 2006).

Con el objetivo de conocer cómo afecta la composición de la harina el comportamiento reológico como también la calidad del producto final, los ensayos subsiguientes fueron realizados con dos harinas de diferentes características: una harina de trigo blando (HTB) y una harina de trigo duro (Baguette).

Un material sólido ideal no muestra relajación alguna, mientras que una sustancia líquida ideal se relaja instantáneamente. Las masas de galletitas elaboradas con harinas de trigo se comportan como un material viscoelástico, es decir, presentan simultáneamente las características de un líquido viscoso y de un sólido elástico, por lo que se relajan gradualmente hasta alcanzar un esfuerzo de equilibrio. El comportamiento macroscópico de una masa depende de su microestructura, la cual está determinada por su composición, las disposiciones espaciales de los componentes y los diferentes tipos de interacciones existentes, y son las características propias de esa estructura las que tienen influencia directa sobre las propiedades reológicas (J. F. Steffe, 1996).

La Tabla 3.III informa los parámetros obtenidos. En general, las masas formuladas a partir de las dos harinas mostraron diferentes comportamientos ante el esfuerzo de deformación. En todos los parámetros se observaron diferencias significativas entre las masas control de las dos harinas, donde HTB siempre mostró valores superiores que Baguette. Estos resultados indican que la harina de trigo blando genera masas de mayor consistencia. Cabe destacar que Baguette 10 es una variedad de trigo que presenta baja calidad panadera. En nuestro país, se ha propuesto un sistema de clasificación de los trigos por grupos de variedades y contenido de proteínas. Esta clasificación tiene en cuenta la calidad genética y el contenido de proteínas y contempla tres clases de trigo: TDA1 Superior (Trigo Duro Argentino 1 Superior), integrado por variedades del grupo 1 con 3 bandas de proteína entre 10,5-11,5%, 11,6-12,5% y más de 12,5%; TDA2 Especial (Trigo Duro Argentino 2 Especial), variedades del grupo 2 con las siguientes bandas de proteína: 10 a 11%, 11,1 a 12% y más de 12% y finalmente TDA3 Standard

(Trigo Duro Argentino 3 Standard), variedades del grupo 3 con dos bandas de proteína: 10-11% y más 11%, son trigos de baja fuerza de gluten recomendados para procesos menos exigentes. Baguette 10 se ubica en TDA 3 y presenta características muy diferentes a los trigos duros de buena calidad, debido al contenido de proteínas inferior y a la calidad de gluten que forman. Es decir que los panificados obtenidos a partir de esta harina no presentarán las características típicas de los productos de harina de trigo duro.

Los módulos elásticos  $E_1$  y  $E_2$  presentaron valores que oscilaron entre 24 Pa (Baguette 75A) y 205 Pa (HTB 50G) y entre 15 Pa (Baguette 50A) y 83 Pa (HTB 75G), respectivamente. Los dos módulos se vieron fuertemente afectados por la reducción de grasa en ambas harinas. La grasa, en la masa de las galletitas, cubre la superficie de las partículas de harina, impidiendo que éstas se hidraten. Es probable que el incremento en el valor de los módulos se deba a que al disminuir la cantidad de grasa en el sistema, se posibilita el desarrollo parcial de gluten, haciendo que la masa adquiera características más elásticas (Manley, 2000). Es importante destacar que al reducir la cantidad de grasa (o de azúcar) en la formulación, aumenta la cantidad relativa de los restantes ingredientes, es decir que hay mayor proporción de agua que en la masa control.

Tabla 3.III. Parámetros de relajación de las masas:  $E_1$ : componente elástica 1,  $E_2$ : componente elástica 2,  $\sigma_{\text{máximo}}$ : esfuerzo máximo,  $\eta$ : componente viscosa. HTB: harina de trigo blando. Baguette: harina de trigo duro. C: control. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción.

Muestra	$E_2$ [Pa]	$E_1$ [Pa]	$FM$ [N]	$\eta$ [Pa.s]
HTB C	19 ± 0,6 <sup>Ac</sup>	43 ± 4 <sup>Ad</sup>	380 ± 42 <sup>Ac</sup>	502 ± 60 <sup>Ac</sup>
HTB75G	83 ± 4 <sup>a</sup>	183 ± 4 <sup>b</sup>	1558 ± 33 <sup>a</sup>	1779 ± 108 <sup>a</sup>
HTB50G	79 ± 4 <sup>a</sup>	205 ± 13 <sup>a</sup>	1653 ± 99 <sup>a</sup>	1880 ± 122 <sup>a</sup>
HTB75A	41 ± 3 <sup>b</sup>	73 ± 1 <sup>c</sup>	609 ± 4 <sup>b</sup>	603 ± 76 <sup>bc</sup>
HTB50A	12 ± 2 <sup>d</sup>	85 ± 4 <sup>c</sup>	659 ± 81 <sup>b</sup>	779 ± 40 <sup>b</sup>
Baguette C	16,3 ± 0,8 <sup>Bc</sup>	35 ± 1 <sup>Bc</sup>	302 ± 2 <sup>Bc</sup>	336 ± 30 <sup>Bc</sup>
Baguette75G	28,3 ± 0,4 <sup>b</sup>	84 ± 4 <sup>b</sup>	654 ± 22 <sup>b</sup>	644 ± 2 <sup>b</sup>
Baguette50G	50 ± 3 <sup>a</sup>	187 ± 2 <sup>a</sup>	1429 ± 80 <sup>a</sup>	1303 ± 2 <sup>a</sup>
Baguette75A	18 ± 2 <sup>c</sup>	26 ± 1 <sup>d</sup>	281 ± 7 <sup>d</sup>	230 ± 23 <sup>d</sup>
Baguette50A	15 ± 2 <sup>c</sup>	24 ± 2 <sup>d</sup>	246 ± 31 <sup>d</sup>	218 ± 20 <sup>d</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ). Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

Se observó una correlación negativa entre el contenido de grasa de las masas y los módulos elásticos  $E_1$  ( $r = -0,87$ ;  $p < 0,01$ ) y  $E_2$  ( $r = -0,76$ ;  $p = 0,01$ ). Los módulos elásticos son parámetros que sirven para cuantificar la dureza de un material, por lo tanto, las masas que

presentan los mayores valores de módulos elásticos se consideran más duras. Este resultado era esperable, ya que la grasa tiene una función lubricante en estos sistemas.

El valor de la fuerza máxima ejercida por la muestra al ser sometida a la deformación, también aumentó con la reducción de grasa en ambas harinas, al igual que el módulo viscoso. Como se mencionó en la introducción de este capítulo, una de las funciones de la grasa es incorporar y retener aire durante el amasado (Brooker, 1996; Lai y Lin, 2006). Al haber menor cantidad de grasa en el sistema, es esperable que la masa resultante sea menos suave o más dura. Estas observaciones coinciden con varios autores, quienes también informaron que la masa de las galletitas se vuelve más consistente cuando la formulación contiene menor cantidad de grasa (Maache-Rezzoug *et al.*, 1998; Pareyt, Brijs y Delcour, 2010; Sudha *et al.*, 2007).

La reducción de azúcar presentó diferentes comportamientos en ambas harinas. En la HTB se vio un incremento progresivo de  $E_1$ , para ambos niveles de reducción, alcanzando casi el 200% sobre el control en la muestra, con reducción del 50%. La harina de trigo duro mostró el efecto opuesto: la reducción de azúcar disminuyó significativamente los valores de  $E_1$ , mientras que no se vieron diferencias entre los valores de  $E_2$  para esta harina. La HTB mostró un comportamiento interesante: cuando el azúcar se reduce a 75%,  $E_2$  se incrementa alrededor de 213% sobre el control, sin embargo con el nivel de reducción de 50% este módulo elástico disminuye, alcanzando el 64% del valor del control. La fuerza máxima (MF) que ejerce la masa cuando es sometida a la deformación nuevamente fue mayor para la HTB. Cuando se reduce azúcar en las masas, se observó la misma tendencia en la fuerza máxima que  $E_2$ : la HTB incrementó la FM (173% sobre el control para la muestra HTB50A), mientras que Baguette mostró una disminución progresiva de este parámetro. Otros trabajos de investigación informaron una disminución en la dureza de la masa con el agregado de mayor cantidad de azúcar a la formulación (Pareyt, Brijs y Delcour, 2010). Esto puede estar relacionado con el hecho de que cuando el azúcar se disuelve, contribuye con la fase líquida del sistema (Hoseney, 1994b), por lo tanto, al reducir el azúcar, la masa presenta un comportamiento más sólido, incrementando su consistencia. Como se esperaba, el módulo viscoso mostró un incremento tanto para la reducción de grasa como para la reducción de azúcar en las masas de HTB y para las formulaciones reducidas en grasa de la masa de Baguette. Sin embargo, la viscosidad de Baguette con reducción de azúcar, disminuyó progresivamente, alcanzando casi el 65% del control en la muestra Baguette 50A, lo que indica un comportamiento más líquido.

Tanto en las masas formuladas con HTB como con Baguette, el contenido de azúcar en la formulación no mostró correlación con ninguno de los parámetros analizados.

En general, se puede decir que en las masas elaboradas a partir de harina de trigo blando, los valores de los módulos (elásticos y viscoso) y de la fuerza máxima aumentaron con

la reducción de grasa y con la reducción de azúcar. En las masas de harina de trigo duro, la reducción de grasa tuvo el mismo efecto, pero la reducción de azúcar disminuyó la consistencia. Una de las principales diferencias entre ambas harinas es el contenido de almidón dañado. Al reducirse la cantidad de azúcar en la formulación, queda más agua disponible para la hidratación del almidón (tanto el nativo como el dañado). Las propiedades estructurales de este tipo de masas están determinadas por la rigidez de las partículas dispersas, los agregados proteicos y por la adhesión entre las diferentes fases. Por lo tanto, es posible que los gránulos más hinchados e hidratados (AD), presenten una menor rigidez en comparación con los gránulos nativos, lo que afecta el comportamiento de deformación de la estructura del sistema frente a un esfuerzo aplicado. Por este motivo las masas control formuladas con Baguette presentaron menores valores de todos los parámetros que las formuladas con HTB. Barrera (2014) observó efectos similares trabajando con masa de galletitas con diferentes contenidos de almidón dañado.

### Viscoelasticidad

Los ensayos de pequeñas deformaciones se llevaron a cabo en un reómetro. En este tipo de ensayos, la placa utilizada como sensor de medición no gira continuamente en una dirección, sino que oscila. La muestra situada en el plato de medición es sometida a una deformación que varía sinusoidalmente con el tiempo, causando esfuerzos de corte que siguen un patrón similar al esfuerzo introducido en la medición.

Cuando una muestra es sometida a una pequeña deformación sinusoidal, el esfuerzo generado será también sinusoidal y tendrá una frecuencia similar a la deformación, que puede estar desfasado un cierto ángulo de fase  $\delta$ :

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

Donde  $G'$  se denomina módulo elástico o módulo de almacenamiento, ya que indica que la energía suministrada por el esfuerzo es temporalmente almacenada, pero ésta puede ser recuperada una vez liberado el esfuerzo, esto es, hay una recuperación elástica. Por otra parte, el módulo  $G''$  se denomina módulo viscoso o de pérdida, debido a que este término va asociado a la energía que ha sido utilizada para iniciar el flujo y se pierde irreversiblemente por su transformación en forma de calor. Por lo tanto,  $G'$  es un indicador del grado de elasticidad del material y  $G''$  es una medida del grado del comportamiento viscoso. El ángulo de desfase  $\delta$ , puede variar entre  $0^\circ$ , en el caso de un material puramente elástico, y  $90^\circ$ , para un fluido puramente viscoso y por lo tanto, la tangente de  $\delta$  puede variar de cero a infinito (Miri, 2011).

Un material viscoelástico presenta simultáneamente características de un líquido viscoso y de un sólido elástico. Para evaluar el comportamiento de un material viscoelástico se requiere estudiar ambos módulos: elástico y viscoso. Las ecuaciones utilizadas en la evaluación de materiales viscoelásticos toman como base las leyes de Newton y de Hooke, siendo necesario que el material se comporte de manera lineal. Aplicando bajas deformaciones a las masas de galletitas se logra este comportamiento, requisito indispensable para estudiar las propiedades viscoelásticas en un reómetro. En la región lineal, se obtienen valores de deformación que únicamente producen una ligera perturbación de la estructura con respecto a la que tenía en reposo, pero no su destrucción. Por lo tanto, la respuesta está íntimamente relacionada con los procesos dinámicos a nivel molecular, lo que permite correlacionar la medida de propiedades reológicas con los potenciales de interacción entre partículas.

La región viscoelástica lineal está definida por el rango de esfuerzos en el cual los módulos permanecen constantes y no dependen de otros parámetros reológicos, como pueden ser el esfuerzo o la deformación. Las ecuaciones que cuantifican la viscoelasticidad lineal son ecuaciones diferenciales lineales y los coeficientes de los diferenciales dependientes del tiempo son constantes. Esto significa que los valores de los módulos solo dependen del material.

Más allá de la región viscoelástica lineal, mayores amplitudes (es decir, mayores esfuerzos) suponen desviaciones no acumulativas de los datos medidos. Bajo estas condiciones la muestra es deformada hasta el punto en el que los enlaces temporales entre las moléculas o agregados son destruidos, entrando en la zona de flujo.

Por lo anterior, fue necesario establecer la región lineal del material en estudio. Para esto se hizo un barrido de amplitud (manteniendo la frecuencia y la temperatura constantes) y se determinó la viscoelasticidad lineal de este material hasta una deformación de 0,1%, por lo que se utilizó una deformación de 0,05% en todos los ensayos.

Los barridos de frecuencia se llevaron a cabo en el rango de 0,01 a 20 Hz. En todos los casos se observó un predominio de la componente elástica sobre la viscosa en el rango de frecuencia analizado. Esto significa que la masa tiene un comportamiento más de sólido viscoelástico, como un gel. La forma general de las curvas es similar en todas las muestras, donde se ve un aumento del valor con la frecuencia (Figura 3.15). Ambos módulos ( $G'$  y  $G''$ ) presentaron una leve dependencia con la frecuencia, observándose en todos los casos un ligero incremento de éstos con el aumento de la frecuencia. Esta dependencia puede deberse a que, durante el ensayo, se establecen interacciones transitorias entre las macromoléculas, que, a altas frecuencias, no pueden disociarse durante el corto período de oscilación, y estos puntos de unión funcionan entonces como entrecruzamientos permanentes observándose un incremento en la componente elástica. A bajas frecuencias, hay suficiente tiempo para que estas

uniones se formen y luego se rompan, entregando una respuesta similar a la de aquellas matrices no entrelazadas (Angioloni y Collar, 2009). Este comportamiento reológico es típico de un gel débil (Steffe, 1996). En los geles débiles hay una mayor dependencia de los módulos dinámicos con la frecuencia, lo que sugiere la existencia de procesos de relajación, y una menor diferencia entre los módulos (menor que un ciclo logarítmico), lo que indica que un menor porcentaje de la energía almacenada se recupera luego de la deformación (Lopes da Silva y Rao, 1999). Al no haber desarrollo de gluten en las masas de galletitas, no se forma una red tridimensional, sino una red entrecruzada menos organizada y con interacciones más débiles, las cuales pueden ser desestabilizadas fácilmente cuando se la somete a una tensión lo suficientemente alta (Lopes da Silva y Rao, 1999). Sin embargo, la diferencia entre los módulos no se modifica en todo el barrido, indicando que se trata de un sistema estable en el rango de frecuencia analizado.

En todas las muestras, las curvas de Baguette se observaron por debajo de las de HTB. Estos resultados coinciden con los obtenidos a partir de los ensayos de fluencia, lo que confirma que las masas obtenidas a partir de Baguette son menos consistentes (Figura 3.15).

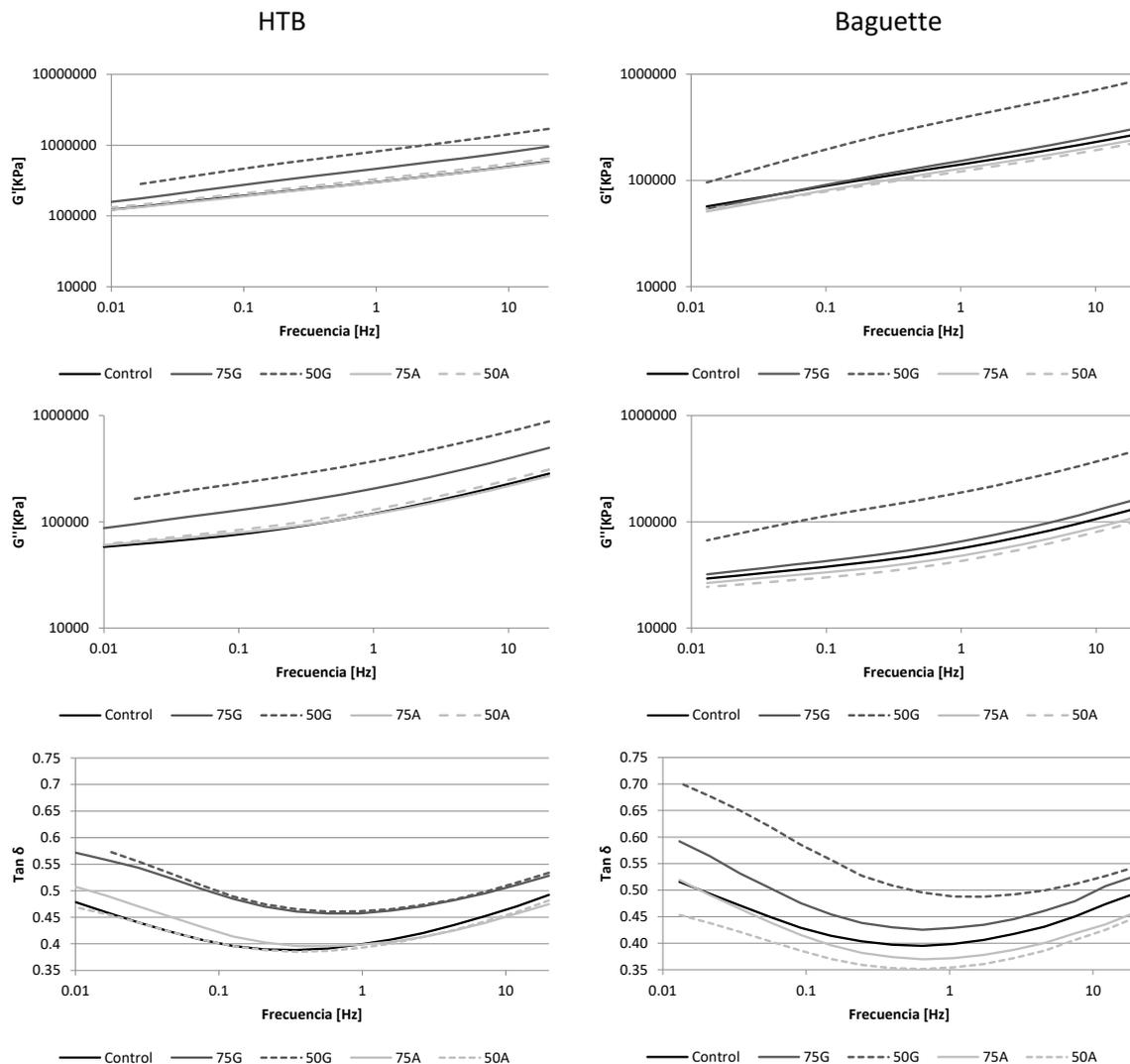


Figura 3.15. Efecto de la reducción de grasa y azúcar sobre los módulos elásticos ( $G'$ ), viscoso ( $G''$ ) y  $\tan \delta$  obtenidos por barridos de frecuencia. HTB: harina de trigo blando. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia porcentaje del ingrediente.

En la Figura 3.15 se muestra la evolución de los módulos  $G'$  y  $G''$  de las masas formuladas con ambas harinas con reducción de grasa y azúcar. En todos los casos, las modificaciones introducidas en las formulaciones cambian los valores de los módulos, pero no la forma general de la curva.

La  $\tan \delta$  es un parámetro que indica la relación existente entre los módulos viscoso y elástico ( $\tan \delta = G''/G'$ ). Los valores de  $\tan \delta$  se observaron siempre por debajo de la unidad, esto indica una predominancia del módulo elástico sobre el viscoso. La forma general de esta curva fue similar en todas las masas, donde se observó una disminución hasta  $\sim 0,5$  Hz de frecuencia y un posterior incremento. Esto significa que hasta 0,5 Hz el sistema se volvió menos viscoso y luego recuperó la consistencia inicial.

Para poder comparar estadísticamente los módulos y la Tan  $\delta$  de las diferentes muestras, se obtuvo el promedio de todas las masas a frecuencia de 1 Hz (Tabla 3.IV). Al reducir la cantidad de grasa en las masas formuladas a partir de HTB, se vio un incremento progresivo de ambos módulos ( $p \leq 0,05$ ), coincidiendo con los resultados obtenidos en el ensayo de relajación. Sin embargo, cuando se redujo la sacarosa en las masas, no se observaron diferencias significativas con el control. Es decir que la reducción de grasa afectó al sistema en mayor medida que la reducción de azúcar. Los valores de Tan  $\delta$  mostraron un incremento para las masas con reducción de grasa, indicando que la componente viscosa aumentó más que la elástica. Las masas con reducción de azúcar fueron similares al control.

Tabla 3.IV. Valores de los módulos elástico ( $G'$ ), viscoso ( $G''$ ) y la tan  $\delta$  de las muestras a frecuencia 1 Hz. HTB: harina de trigo blando. C: control. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción.

Muestra	$G'$ [KPa]		$G''$ [KPa]		Tan $\delta$	
HTBC	299000 $\pm$ 59557	Ac	118100 $\pm$ 23764	Ac	0,39 $\pm$ 0,02	Ab
HTB75G	655667 $\pm$ 82246	b	300667 $\pm$ 33292	b	0,44 $\pm$ 0,01	a
HTB50G	807667 $\pm$ 93645	a	368000 $\pm$ 31796	a	0,46 $\pm$ 0,02	a
HTB75A	297000 $\pm$ 43313	c	117000 $\pm$ 19925	c	0,39 $\pm$ 0,01	b
HTB50A	328000 $\pm$ 12166	c	128667 $\pm$ 4933	c	0,39 $\pm$ 0,00	b
BaguetteC	142750 $\pm$ 2217	Bb	56900 $\pm$ 1474	Bbc	0,40 $\pm$ 0,01	Ac
Baguette75						
G	154333 $\pm$ 29366	b	66300 $\pm$ 13275	b	0,43 $\pm$ 0,00	b
Baguette50						
G	392667 $\pm$ 38423	a	191667 $\pm$ 19655	a	0,49 $\pm$ 0,01	a
Baguette75A	130200 $\pm$ 23637	b	48500 $\pm$ 9445	c	0,37 $\pm$ 0,01	d
Baguette50A	122500 $\pm$ 4509	b	43425 $\pm$ 1548	c	0,36 $\pm$ 0,00	e

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ). Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

Las masas formuladas a partir de Baguette mostraron un comportamiento ligeramente diferente, ya que la reducción de grasa solo afectó la reología del sistema en el mayor nivel, mientras que 75G fue estadísticamente igual al control. Al igual que con la HTB, la reducción de azúcar tampoco afectó los módulos. Sin embargo, la Tan  $\delta$  mostró diferencias significativas en todos los casos, incrementando progresivamente su valor con la reducción de grasa y disminuyéndolo con la reducción de azúcar. La evolución de los módulos con la frecuencia fue similar al control en todos los casos (Figura 3.15).

Los resultados sugieren que la harina de trigo duro toleró mejor la reducción de grasa, sin embargo hay un porcentaje de reducción por encima del cual el grado de afectación incrementó drásticamente.

La reducción de azúcar en ambas harinas no mostró diferencias significativas con el control, tanto en  $G'$  como en  $G''$ . Estos resultados no coinciden con lo esperado, ya que el rol de la sacarosa es suavizar la masa. Al haber menor azúcar en el sistema, hay mayor proporción de agua libre que puede hidratar las partículas de harina. Por lo tanto, se esperaría ver un incremento en la consistencia. Maache-Rezzoug *et al.* (1998) estudiaron el efecto de los principales componentes sobre el comportamiento reológico de las masas de galletitas. Observaron que al incrementar los niveles de sacarosa se produce una drástica disminución de la viscosidad y del tiempo de relajación del sistema. Sin embargo se ha demostrado que existe un valor umbral asociado a la variación en el contenido de azúcar en estos sistemas, por debajo del cual los efectos no son apreciables (Vettern, 1984).

La reducción de grasa mostró un incremento progresivo de los módulos en las masas de ambas harinas. Nuestros resultados coinciden con los observados por Sudha *et al.* (2007), quienes estudiaron el efecto del reemplazo de grasa en las masas de galletitas. Sus resultados indican que la reducción de grasa endurece la masa y el tiempo de extrusión aumentó de 43 s, en masas con 20% de grasa a 167 s, cuando la grasa se redujo a 6%. Esto se debe a que la masa pierde las propiedades lubricantes. Cuando la grasa está presente en suficiente cantidad, cubre la superficie de las partículas de harina, inhibiendo el desarrollo de gluten, ya que interfiere con la formación de la red. Esto hace que la masa resultante sea más suave (Menjivar y Faridi, 1994). El agua absorbida por la harina, en ausencia de una suficiente cantidad de grasa, contribuye a la dureza de la masa (O'Brien *et al.*, 2003).

Con el objetivo de evaluar el efecto del calentamiento sobre la consistencia de las masas, se hicieron barridos de temperatura desde 25 a 100 °C. Al igual que en el barrido de frecuencia, en todas las muestras la componente elástica ( $G'$ ) se ubicó por encima de la viscosa ( $G''$ ) en todo el rango de temperatura analizado y ambos módulos presentaron la misma forma general, observándose una disminución con la temperatura (Figura 3.16 y 3.17). Esto indica que a medida que el sistema se calienta disminuye su consistencia. En todas las muestras se vio una inflexión en las curvas de  $G'$  y  $G''$  entre 45 y 55 °C a partir del cual hay un cambio de pendiente, es decir, de consistencia. En el rango de temperatura entre 30 y 50 °C se producen los siguientes cambios en la masa: la grasa funde y el azúcar se disuelve por completo, ambos fenómenos contribuyen al incremento de la fase líquida.

Los espectros mecánicos de las masas de ambas harinas mostraron la misma forma general (Figura 3.16). Sin embargo, las masas formuladas con harina de trigo blando siempre mostraron mayor consistencia (mayor  $G'$  y  $G''$ ) que las de harina de trigo duro, a lo largo de todo el ensayo. Estos resultados coinciden con los barridos de frecuencia y con los ensayos de grandes deformaciones.

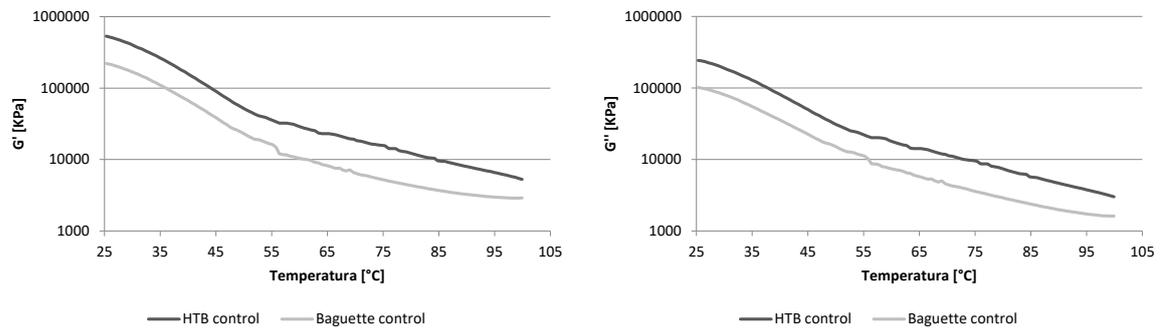


Figura 3.16. Evolución de los módulos elásticos ( $G'$ ) y viscoso ( $G''$ ) a partir de barridos de temperatura. HTB: harina de trigo blando.

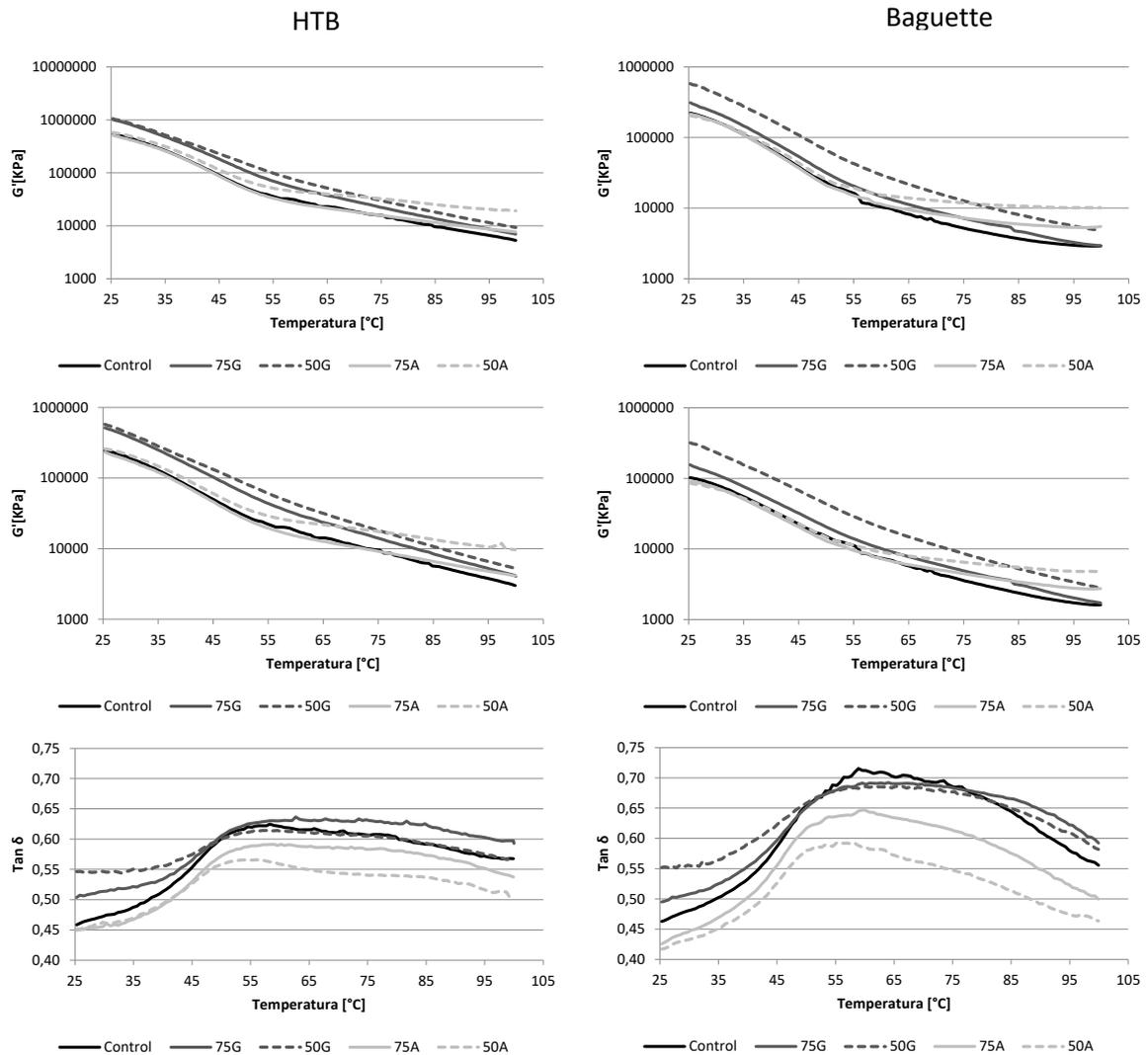


Figura 3.17. Efecto de la reducción de grasa y azúcar sobre los módulos elástico ( $G'$ ), viscoso ( $G''$ ) y  $\text{Tan } \delta$  obtenidos por barridos de temperatura. HTB: harina de trigo blando. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia porcentaje del ingrediente.

Cuando se redujo la cantidad de grasa, las masas de ambas harinas se comportaron de la misma forma: se vio un incremento de ambos módulos por encima del control, aunque la forma general de la curva no cambió (Figura 3.17). Según los resultados de los barridos de frecuencia, este comportamiento era el esperado y se debe al desarrollo parcial de gluten. Sin embargo, cuando se redujo la cantidad de azúcar, se vieron cambios en  $G'$  y  $G''$ : hasta 45-55 °C la forma de la curva fue similar al control pero a partir de esta temperatura la pendiente disminuyó en las masas de ambas harinas, lo que resultó en una mayor consistencia final.

El azúcar actúa como plastificante de los biopolímeros de la harina de trigo, sin embargo, las soluciones acuosas concentradas de sacarosa actúan como antiplastificantes, comparadas con el agua sola (L Slade y Levine 1994). Por lo tanto los fenómenos de desarrollo de gluten

durante el amasado y la gelatinización del almidón durante el horneado se ven retrasados o prevenidos (L Slade y Levine 1994). En exceso, las soluciones acuosas de azúcar también son el solvente preferido por los biopolímeros, comparado con el agua (L. Slade y Levine 1988; L Slade y Levine 1991). La plastificación de los polímeros de la harina es crítica en las etapas de amasado y horneado de los productos de panificación. Slade y Levine (1994) estudiaron la cinética del desarrollo de masas elaboradas con harina de trigo blando en el mixógrafo, utilizando varias concentraciones de soluciones acuosas de sacarosa como plastificante. Observaron un incremento del tiempo de desarrollo con las soluciones de azúcar, comparadas con el agua. Esto refleja una disminución en la movilidad del sistema, como también una disminución en la cantidad de agua disponible para hidratar la harina. Cuando se redujo la cantidad de azúcar en la formulación, se vio una disminución progresiva de las pendientes de  $G'$  y  $G''$  a partir de los 45-55 °C, temperatura a la cual, como se mencionó anteriormente se funde la grasa y se solubiliza completamente el azúcar. El resultado final (a 100 °C) es un mayor valor de los módulos en las masas. Por este motivo no se observaron diferencias entre las masas con reducción de azúcar y los controles en los barridos de frecuencia a temperatura ambiente. Este cambio observado puede deberse a que, al haber menos sacarosa, hay más agua disponible para hidratar a la harina, incrementando la consistencia del sistema, al producirse gelatinización parcial de almidón.

Las curvas de  $\tan \delta$  de las masas mostraron un máximo que varía según la muestra y la harina utilizada en la formulación. En general se puede decir que las muestras de Baguette presentaron mayores valores de este parámetro, lo que significa mayor relación de las propiedades viscosas a elásticas. La forma de las curvas también presentó diferencias según la harina. Las masas con Baguette presentaron un pico alrededor de 50-65°C (temperatura a la que se funde la grasa y se disuelve completamente el azúcar) y luego vuelve a disminuir. Esto significa que a partir de esa temperatura, el sistema presentó características más viscosas y menos elásticas. Sin embargo, en las masas de HTB se produce un máximo en el mismo rango de temperatura y luego se mantiene relativamente constante hasta el final del ensayo. En general, la reducción de grasa y de azúcar afectó de la misma manera a las masas de ambas harinas. La reducción de azúcar disminuyó los valores de  $\tan \delta$  en todo el rango de temperatura analizado, mientras que la reducción de grasa parece haber afectado en menor medida este parámetro.

#### Calorimetría diferencial de barrido

Mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) se mide el flujo de energía calórica cuando una muestra pequeña es sometida a un cambio constante de temperatura, y es una técnica muy utilizada para el estudio de las propiedades térmicas de las masas. El análisis de los

termogramas que se obtienen con esta técnica permite determinar la temperatura a la que ocurren las transiciones físicas y su entalpía ( $\Delta H$ ). Las temperaturas y velocidad de calentamiento se seleccionaron de manera de simular el perfil de calentamiento en el horno.

Este análisis se hizo con el objetivo de conocer cómo afecta la reducción de grasa y azúcar a las transiciones de estado dentro de la masa de galletitas. Por este motivo se estudiaron masas elaboradas con una sola harina (harina de trigo duro).

En todas las muestras se observó un solo pico endotérmico. Este pico que ocurre alrededor de los 35-55°C coincide con la temperatura de fusión de la margarina utilizada en la formulación de las galletitas. Para corroborar esto se realizó un ensayo en el que solo se analizó la grasa. En la Figura 3.18 se muestran los perfiles de todas las muestras y de la margarina. En la Tabla 3.V se informan cinco parámetros que se desprenden de este gráfico: el cambio de entalpía involucrado en la transición ( $\Delta H$ ) (los valores negativos indican que se trata de una endoterma), la temperatura de inicio ( $T_0$ ), la altura del pico, la temperatura del pico ( $T_p$ ) y la temperatura final ( $T_f$ ). La masa control fue la que presentó mayor  $\Delta H$ . Las masas con reducción de grasa lógicamente mostraron una disminución progresiva de este valor. Las muestras con reducción de azúcar también disminuyeron, a pesar de tener proporcionalmente mayor grasa que el control, debido probablemente a que a esa temperatura también se produce la disolución de la sacarosa. A pesar de que este pico se debe a la fusión de la grasa, no se observó correlación entre el área del pico y el porcentaje de grasa (ni de azúcar) de la formulación. La única muestra que presentó diferencias significativas con el control en la temperatura de inicio de pico fue 50A, donde se vio un incremento de casi 7 °C. No se vieron diferencias estadísticas entre las muestras y el control en la temperatura de pico y la temperatura final fue igual en todas las masas.

Otros investigadores realizaron ensayos de DSC en masas de galletitas y observaron tres picos endotérmicos: uno alrededor de 29 °C, el segundo a 70 °C y el tercero a 117 °C. Estos picos se adjudican a la fusión de grasa, disolución de la sacarosa y gelatinización del almidón, respectivamente (Abboud y Hosene, 1984). Estos autores observaron además que el pico correspondiente a la disolución del azúcar variaba con la concentración de la solución de sacarosa.

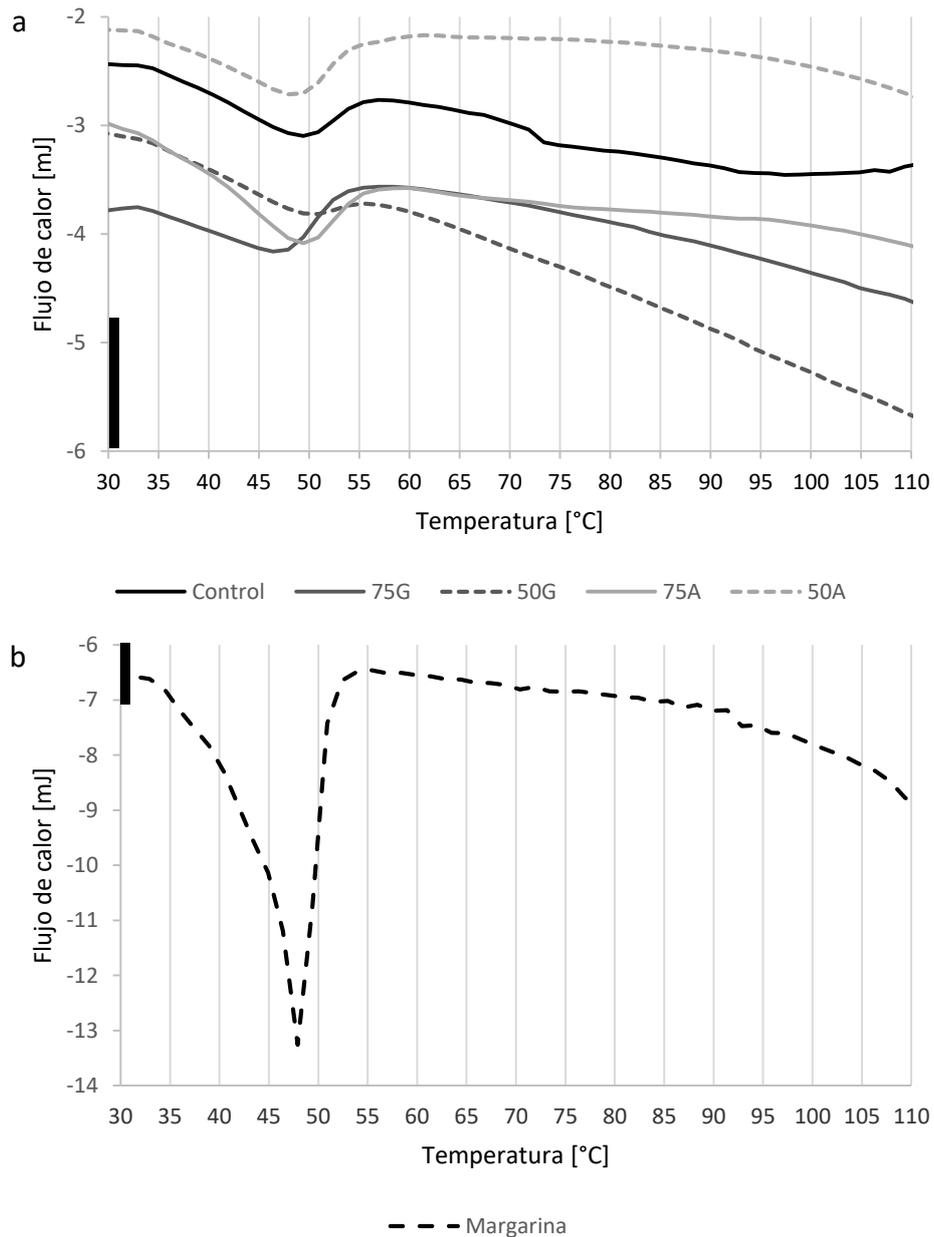


Figura 3.18. Efecto de la reducción de grasa y azúcar en los cambios de fase obtenidos por calorimetría diferencial de barrido. HTB: harina de trigo blando. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al porcentaje de incorporación del ingrediente. Barra= 1mJ.

Es decir que a mayor cantidad de agua en la masa, la endoterma resultante era mayor y en una relación de sacarosa/agua por debajo de 2,7 el pico no se podía distinguir. Estos resultados difieren de los del presente trabajo, ya que no se observaron picos relacionados a la disolución del azúcar, como tampoco a la gelatinización de almidón. Las diferencias en las temperaturas de pico halladas en el presente estudio y las reportadas por (Abboud y Hosney, 1984) pueden deberse a las características de la materia prima utilizada en la formulación.

Tabla 3.V. Parámetros obtenidos a partir de los termogramas de calorimetría diferencial de barrido.  $\Delta H$ : cambio de entalpía.  $T_0$ : temperatura de inicio.  $T_p$ : temperatura de pico.  $T_f$ : temperatura final. HTB: harina de trigo blando. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia porcentaje del ingrediente.

Muestra	$\Delta H$ [mJ/g]	$T_0$ [°C]	$T_p$ [°C]	$T_f$ [°C]
Margarina	-275 ± 8 <sup>e</sup>	44 ± 2 <sup>a</sup>	47,04 ± 0,2 <sup>a</sup>	50,2 ± 0,5 <sup>b</sup>
Control	-2,3 ± 0,3 <sup>d</sup>	35 ± 4 <sup>cd</sup>	48 ± 1 <sup>ab</sup>	54 ± 1 <sup>a</sup>
75G	-1,79 ± 0,06 <sup>c</sup>	35 ± 1 <sup>d</sup>	47,6 ± 0,5 <sup>b</sup>	53,2 ± 0,7 <sup>a</sup>
50G	-0,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	39 ± 1 <sup>c</sup>	48 ± 1 <sup>b</sup>	53 ± 1 <sup>a</sup>
75A	-2,1 ± 0,2 <sup>bc</sup>	37,8 ± 0,3 <sup>cd</sup>	49,10 ± 0,06 <sup>a</sup>	54,63 ± 0,07 <sup>a</sup>
50A	-1,3 ± 0,1 <sup>b</sup>	42,3 ± 0,7 <sup>b</sup>	49,6 ± 0,9 <sup>a</sup>	54,5 ± 0,9 <sup>a</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

Con el objetivo de corroborar si ocurre o no gelatinización parcial de almidón en las distintas muestras durante el horneado, se realizaron nuevos ensayos de DSC con muestras de masas y galletitas control y con los mayores niveles de reducción. Las muestras se deslipidizaron para evitar que la grasa interfiera en la medición. La diferencia entre estas mediciones y las anteriores es que estas cápsulas fueron preparadas con dos partes de agua, esperando corroborar la existencia o no de gelatinización de almidón antes y después del horneado. Cuando los gránulos de almidón son calentados a una determinada temperatura en presencia de agua se produce un proceso fisicoquímico denominado gelatinización. Durante este proceso irreversible, los gránulos de almidón que presentan una estructura altamente organizada absorben agua en las zonas intermicelares amorfas que son menos organizadas y más accesibles. Al producirse el hinchamiento de los gránulos hay también liberación de amilosa al medio, que queda en una dispersión coloidal donde los gránulos intactos están en suspensión (Cooke y Gidley, 1992; Parker y Ring, 2001). En un termograma de una suspensión de harina y agua (1:1 p/p) se espera ver un primer pico endotérmico correspondiente a la gelatinización del almidón y luego otro debido a la fusión del complejo amilosa-lípido. En las masas de galletita, dada la escasa cantidad de agua y la gran proporción de azúcar, no se espera observar almidón gelatinizado. Sin embargo, las modificaciones que se introducen en la formulación pueden derivar en este evento. En la Figura 3.19 se muestran los termogramas representativos de las distintas muestras. En todas las masas se observó una endoterma alrededor de 70 °C, correspondiente a la gelatinización de almidón. Esto ocurre porque las cápsulas fueron preparadas con exceso de agua. En las muestras de galletitas horneadas control y 50G también se observó esta endoterma a la misma temperatura. Esto indica que durante el horneado no se produjo gelatinización de almidón, ya que como se mencionó anteriormente, este proceso es irreversible. Sin embargo, en la galletita 50A, la endoterma es significativamente menor que en la masa de la misma formulación. Estos resultados indican que en esta muestra se produjo

gelatinización parcial en el horneado, probablemente debido a que la reducción en la proporción de sacarosa está dejando mayor cantidad de agua libre disponible para el almidón. Abboud y Hosney (1984) obtuvieron resultados similares trabajando con galletitas dulces formuladas con harinas de siete cultivares, en exceso de agua, concluyendo que en este sistema ocurre poca o nada de gelatinización de almidón.

En la Tabla 3.VI se muestran los valores de las endotermas y la temperatura de inicio. Tal como se vio en los gráficos, la única muestra que presenta diferencias significativas es la galletita con 50% de sacarosa. Es sabido que la sacarosa retarda la gelatinización del almidón (Kweon, Slade, Levine, Martin, y Souza, 2009). En este ensayo se observó un corrimiento de  $T_0$  hacia mayores temperaturas solo en la galletita 50A con respecto a la masa 50A.

Es sabido que la presencia de sacarosa produce un incremento de la temperatura de gelatinización del almidón. Este efecto del azúcar se conoce como “antiplastificación” (L Slade y Levine 1987). Se entiende por plastificación a la capacidad de disminuir la temperatura de transición vítrea de las regiones amorfas, que precede inmediatamente a la gelatinización de almidón nativo parcialmente cristalino. Según informaron varios autores (Ferry 1980; L Slade y Levine 1987; Roudaut y Wallecan, 2015), en presencia de almidón nativo y exceso de agua el azúcar se comporta como un plastificante co-solvente con el agua, ya que el conjunto sacarosa-agua que es de mayor masa molecular (y por lo tanto mayor temperatura de transición vítrea) que el agua sola, plastifica al almidón en menor medida que el agua sola. Por lo tanto, la temperatura de gelatinización (al igual que la  $T_g$ ) aumenta en presencia de azúcar. Además se ha demostrado que el grado del efecto antiplastificante es dependiente de la concentración de azúcar.

Louise Slade *et al.* (1996) realizaron ensayos de DSC para conocer el efecto de la concentración de solución de sacarosa en la gelatinización del almidón durante el calentamiento en sistemas de crackers (sin azúcar) y galletitas dulces. El almidón de la harina de trigo en galletitas y crackers crudas se encuentra 100% en estado nativo, es decir, sin gelatinizar. Estos autores informaron que cuando se calentó una suspensión de harina agua 1:1 (p/p), en el termograma se observó un pico correspondiente a la gelatinización del almidón, seguido del pico de fusión del complejo amilosa-lípido. En el perfil de DSC de la suspensión de crackers en agua (1:1 P/P), observaron que el 60% del almidón de la harina había gelatinizado durante el horneado, y el 40% restante (en estado nativo) gelatinizó durante el ensayo calorimétrico. En el termograma de la suspensión de galletitas dulces en agua (1:1 P/P) se observó la gelatinización del 100% del almidón y fusión del 100% del complejo amilosa-lípido durante el ensayo. Esto demuestra que el alto contenido de sacarosa en la formulación de las galletitas dulces evitó la gelatinización del almidón durante el horneado.

Los resultados obtenidos en este ensayo coinciden con lo observado por Louise Slade *et al.* (1996), ya que se demostró la gelatinización parcial del almidón presente en las galletitas con reducción de 50% de sacarosa, lo que explica el comportamiento reológico de estas muestras cuando fueron sometidas al ensayo de temperatura.

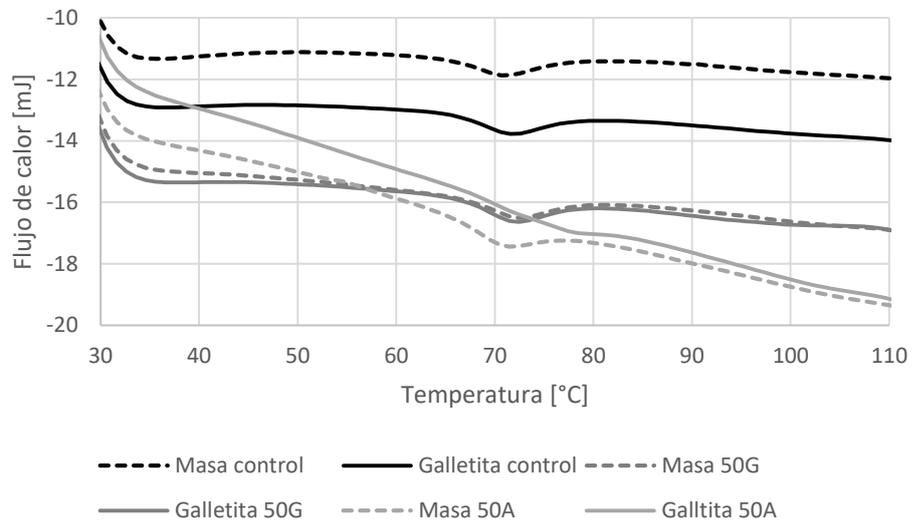


Figura 3.19. Curvas de los cambios de fase obtenidas por calorimetría diferencial de barrido. G: grasa. A: azúcar.

Tabla 3.VI. Parámetros obtenidos a partir de las curvas de calorimetría diferencial de barrido.  $\Delta H$ : cambio de entalpía.  $T_0$ : temperatura de inicio. G: grasa. A: azúcar.

Muestra	$\Delta H$ [mJ/g]	$T_0$ [°C]
Masa control	2,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	65,9 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
Galleta control	2,1 $\pm$ 0,3 <sup>ab</sup>	65,7 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>
Masa 50A	2,0 $\pm$ 0,4 <sup>ab</sup>	66 $\pm$ 2 <sup>b</sup>
Galleta 50A	1,3 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	69,1 $\pm$ 1 <sup>a</sup>
Masa 50G	2,0 $\pm$ 0,2 <sup>ab</sup>	66,8 $\pm$ 0 <sup>ab</sup>
Galleta 50G	2,0 $\pm$ 0,1 <sup>ab</sup>	67,6 $\pm$ 0,9 <sup>ab</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### Expansión durante el horneado

El horneado es un proceso donde el incremento de la temperatura acelera la velocidad de cualquier transformación que ocurre dentro de la masa. Estas transformaciones dependen en gran medida de la disponibilidad de agua en el sistema.

A medida que la pieza de galletita se calienta en el horno se pueden observar tres eventos principales: una gran disminución de la densidad del producto, asociado al desarrollo de una estructura de poro abierto (responsable de la textura suave a la mordida, característica de las galletitas dulces), una reducción en el nivel de humedad, entre 1 y 4% y cambios en la coloración de la superficie.

Los cambios que ocurren en la masa durante las primeras etapas del horneado son:

- Incremento de la disolución de azúcar a medida que aumenta la temperatura
- Fusión de grasa con el incremento de la temperatura y reducción de la consistencia de la masa
- Liberación de gases por parte de leudantes químicos, produciendo burbujas
- Expansión de estas burbujas de gas como resultado del incremento de la temperatura, debido al incremento en la presión de vapor de agua dentro de ellas
- Ruptura y coalescencia de algunas burbujas
- Pérdida de humedad en la superficie del producto por evaporación, seguida de migración de humedad a la superficie y pérdida continua a la atmósfera del horno

La reducción de la viscosidad a medida que se calienta la masa y debido a la falta de una estructura continua de proteínas junto con la insuficiente gelatinización de almidón, hacen que la pieza de galletita no pueda mantener la forma y tienda a fluir o expandirse en altura y hacia los costados en el horno. A lo largo de todo este proceso, cuando la temperatura en la masa

supera los 60 °C una fracción del almidón puede gelatinizar parcialmente debido a las limitadas condiciones de humedad, y posteriormente, debido al continuo calentamiento del sistema, cuando la temperatura supera los 90 °C las proteínas coagulan y se produce la deshidratación del sistema, lo que resulta en la estructura final de la galletita (Manley, 2000; Walker, Seetharaman y Goldstein, 2012). Es importante destacar que el diámetro final de la galletita no es simplemente el resultado de una continua expansión de la pieza de masa en el horno, que solo se detiene al finalizar el horneado. La expansión de la galletita es un complejo proceso donde el diámetro final de las piezas es función de la velocidad de expansión de la masa y del tiempo de fijación, que a su vez depende de la viscosidad y estructura de la masa (Hoseney y Rogers, 1994; Sciarini, Van Bockstaele, Nusantoro, Pérez y Dewettinck, 2013)

Durante el horneado se tomaron imágenes de las galletitas para conocer como varía el diámetro y la altura de cada muestra a medida que son calentadas (Figura 3.20). A partir de estas imágenes se calcularon cinco parámetros: el diámetro máximo alcanzado en el horno, el tiempo de fijación, es decir, el momento en el que la pieza deja de expandirse, la temperatura a la que ocurre este fenómeno, la altura máxima alcanzada durante el horneado y el colapso de las piezas, es decir la diferencia entre la altura máxima y la altura final (Tabla 3.VII).

La forma general de las curvas de todas las muestras es similar. Los cambios en el diámetro muestran un incremento progresivo de la expansión de la pieza hasta que alcanza un valor máximo, seguido de un leve encogimiento. Estos resultados coinciden con los observados por Miller y Hoseney (1997a), quienes realizaron un seguimiento de las dimensiones de las piezas de galletitas mediante fotografías tomadas en el horno.

En general se puede decir que las galletitas formuladas con harina de trigo blando mostraron un mayor diámetro y se expandieron durante más tiempo que las de harina de trigo duro. (Figura 3.20, Tabla 3.VII). Los resultados observados en este trabajo coinciden con los informados por Abboud, Hoseney y Rubenthaler (1985) y por Miller y Hoseney (1997a).

La reducción de grasa no mostró cambios significativos del tiempo de fijación. Sin embargo, la reducción de azúcar afectó este parámetro: en ambas harinas se vio una disminución tanto del tiempo de fijación como de la temperatura a la que se produce. Además se observó una disminución gradual del incremento del diámetro de las piezas con la reducción de azúcar y de grasa en ambas harinas. La reducción del contenido de azúcar afectó en mayor medida la capacidad de la masa de expandirse radialmente durante la cocción. Estos cambios coinciden con lo observado en los ensayos reológicos. Al haber menos azúcar, habría más agua disponible para producir una parcial gelatinización del almidón, incrementando la viscosidad del sistema y limitando su expansión.

Como se mencionó anteriormente, el diámetro final de la galletita está controlado por la velocidad de expansión y por el tiempo de fijación (Hoseney y Rogers, 1994; Miller y Hoseney, 1997a; Sciarini *et al.*, 2013). A su vez, el tiempo de fijación de las galletitas parece estar controlado por la transición vítrea aparente de las proteínas del gluten en la harina (Louise Slade *et al.*, 1993). En masa de galletitas dulces no se espera un desarrollo de una red durante la fase de batido, por lo tanto, las partículas de harina en la masa permanecen intactas y discontinuas. Durante el horneado, las proteínas pasan por una transición vítrea aparente, incrementando su hidratación, lo que permite que interactúe y forme una red. La viscosidad de la red de gluten continua es suficiente para detener el flujo de la masa de galletita (Miller, Hoseney y Morris, 1997). Miller y Hoseney, (1997b), trabajando con galletitas formuladas con harina de trigo blando y harina de trigo duro, observaron una correlación positiva entre el tiempo de fijación de las galletitas y la  $T_g$  aparente de las harinas. La temperatura de transición vítrea aparente de las galletitas formuladas con harina de trigo duro es menor que en las galletitas de harina de trigo blando (Doescher *et al.*, 1987). Miller, Hoseney, y Morris (1997) realizaron una exhaustiva investigación para determinar cuál es la fracción de la harina de trigo duro, responsable de la disminución de la expansión y el diámetro final de las galletitas dulces. Observaron que lo que más afecta estos parámetros es el almidón, tanto el dañado como las dextrinas solubles que se forman. El almidón dañado aumenta la viscosidad de la masa, ya que absorbe más agua que el nativo, mientras que las dextrinas incrementan la viscosidad de la fase líquida. La combinación de estos dos factores afecta el comportamiento de las galletitas durante el horneado.

La  $T_g$  de productos alimenticios, se ve afectada por la cantidad y homogeneidad de sustancias o ingredientes plastificantes (Louise Slade *et al.*, 1993). La grasa y el agua son los plastificantes en la masa de galletitas. Si bien las masas 50G y 75G tienen menor cantidad de grasa, la proporción relativa de agua es mayor que el control. Esto puede explicar que no haya diferencias en los valores del tiempo y la temperatura de fijación de estas masas. Las masas con reducción de azúcar mostraron valores más bajos de estos parámetros. Como se explicó anteriormente, la sacarosa incrementa la  $T_g$  de los polímeros, ya que actúa como antiplastificante debido a que el masa molecular del solvente sacarosa-agua es mayor que el del agua sola (Kalichevsky, Jaroszkiewicz y Blanshard, 1992; Roudaut y Wallecan, 2015)

Los resultados obtenidos en este ensayo coinciden con lo esperado, ya que el azúcar incrementa la temperatura de transición vítrea de los polímeros al actuar como antiplastificante, en comparación con el agua sola. Por lo tanto, cuando se reduce la cantidad de azúcar en la formulación, la  $T_g$  de la masa disminuye (Louise Slade y Levine, 1993; Roudaut y Wallecan, 2015), fijando la estructura de la galletita a menores temperaturas que la masa control.

La reducción de grasa en las muestras HTB 50G, Baguette 50G y Baguette 75G resultó en una disminución del diámetro máximo alcanzado durante el horneado (Tabla 3.VII). Esto ocurre ya que al haber menor cantidad de grasa en el sistema se produce la hidratación de las proteínas del gluten, que posteriormente durante la cocción da lugar a la formación de una red (Pareyt *et al.*, 2009) y limita la expansión del gas. Esto, sumado a la reducción del efecto lubricante durante el amasado, genera un incremento de las propiedades elásticas y viscosas del sistema, resultando en un menor diámetro de las piezas con reducción de grasa. Por otro lado, las muestras con reducción de azúcar presentaron menor DM que el control (Tabla 3.VII). Como se explicó anteriormente, esto se debe a que al haber menor cantidad de azúcar, hay una mayor proporción de agua libre que puede hidratar los gránulos de almidón, produciendo una parcial gelatinización, lo que resulta en menor expansión de estas piezas. Estos resultados coinciden con lo observado en los ensayos de movilidad de agua y con el comportamiento reológico de la masa.

La altura máxima de las piezas en el horno no mostró diferencias significativas entre las harinas, como tampoco en la temperatura a la que se produce (Figura 3.20, Tabla 3.VIII). La forma general de las curvas de los cambios de altura es similar entre las muestras, donde se vio un incremento progresivo hasta que llega a un máximo, alrededor de los cinco minutos de horneado y luego, se produce un colapso de la pieza. Las muestras de masas de HTB no mostraron diferencias significativas con el control, mientras que en las de Baguette se vio un incremento de la altura cuando se reduce la grasa al 50% en la formulación.

El colapso se debe a la ausencia de una estructura lo suficientemente fuerte para soportar el crecimiento de la masa (Louise Slade, Levine, y Finley, 1989). Es sabido que en galletitas formuladas con harina de buena calidad (de trigo blando), se observa un colapso macroscópico debido a la falta de una red de gluten termoestable. En cambio, en las galletitas formuladas con harinas de calidad inferior (de trigo duro), se desarrolla algo de gluten y se observa una contracción elástica en lugar de un colapso macroscópico (Hoseney y Rogers, 1994). El comportamiento de las harinas de baja calidad es característico de una recuperación elástica en un sistema de polímeros elásticos termoestables, mientras que el comportamiento de las harinas de buena calidad es característico de un colapso estructural de un sistema de polímeros elásticos predominantemente termoplásticos (Donelson y Gaines, 1998a).

El colapso de las masas con reducción de grasa no mostró diferencias significativas con el control en ambas harinas, mientras que se vio una disminución progresiva de este parámetro con la reducción de azúcar. Esto significa que estas masas soportan mejor el colapso, lo que indica que se puede estar desarrollando una red tridimensional, es decir, algo de gluten. Se observó una correlación positiva ( $r= 0,76$   $p=0,02$ ) entre el colapso y el diámetro máximo,

confirmando que ambos parámetros son afectados por el mismo fenómeno. Es decir que cuando se desarrolla gluten o se produce una parcial gelatinización de almidón, la masa crece en altura en detrimento del diámetro, dando como resultado galletitas de menor calidad.

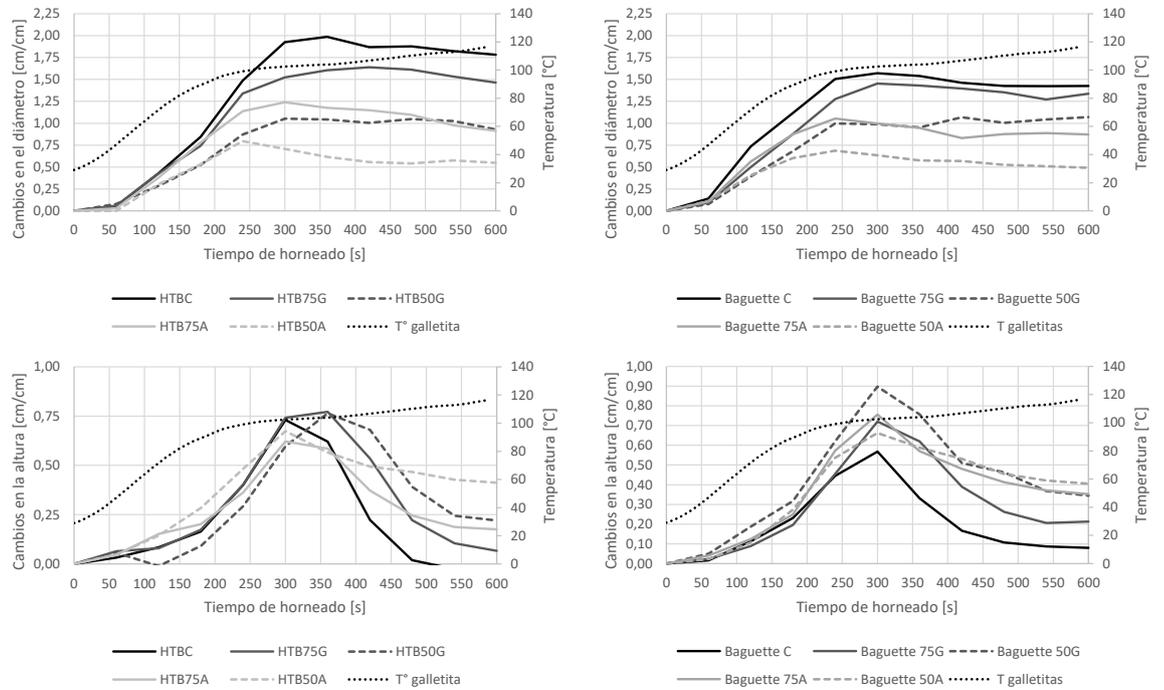


Figura 3.20. Curvas de la expansión de las galletitas durante el calentamiento. HTB: harina de trigo blando. Baguette: harina de trigo duro. C: control. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción.

Tabla 3.VII. Parámetros de expansión en el horneado. DM: diámetro máximo; TF: tiempo de fijación; T°F: temperatura de fijación; AM: altura máxima HTB: harina de trigo blando. Baguette: harina de trigo duro. C: control. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción.

Muestra	DM [cm]	TF [s]	T°F [°C]	AM [cm]	Colapso [cm]
HTB C	6,7 ± 0,3 <sup>Aa</sup>	360 ± 35 <sup>Aab</sup>	104 ± 0 <sup>Aab</sup>	2,0 ± 0,1 <sup>Aab</sup>	0,7 ± 0,2 <sup>Aa</sup>
HTB 75G	6,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	400 ± 35 <sup>a</sup>	106 ± 2 <sup>a</sup>	2,14 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,61 ± 0,02 <sup>ab</sup>
HTB 50G	5,8 ± 0,3 <sup>b</sup>	320 ± 35 <sup>bc</sup>	103,0 ± 0,8 <sup>bc</sup>	1,9 ± 0,1 <sup>ab</sup>	0,69 ± 0,02 <sup>a</sup>
HTB 75A	5,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	280 ± 35 <sup>cd</sup>	101,4 ± 0,6 <sup>c</sup>	1,94 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,44 ± 0,04 <sup>b</sup>
HTB 50A	5,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	240 ± 0 <sup>d</sup>	99,10 ± 0,00 <sup>d</sup>	1,82 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,22 ± 0,07 <sup>c</sup>
Baguette C	6,1 ± 0,2 <sup>Ba</sup>	320 ± 35 <sup>Ba</sup>	103,0 ± 0,8 <sup>Aa</sup>	1,78 ± 0,04 <sup>Ab</sup>	0,54 ± 0,05 <sup>Aa</sup>
Baguette 75G	6,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	300 ± 0 <sup>a</sup>	102,50 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,96 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,51 ± 0,01 <sup>ab</sup>
Baguette 50G	5,6 ± 0,1 <sup>b</sup>	300 ± 0 <sup>a</sup>	102,50 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,08 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,56 ± 0,00 <sup>a</sup>
Baguette 75A	5,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	240 ± 0 <sup>b</sup>	99,10 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,89 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,40 ± 0,05 <sup>b</sup>
Baguette 50A	5,2 ± 0,2 <sup>c</sup>	240 ± 0 <sup>b</sup>	99,10 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,79 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,07 <sup>c</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### Evaluación de la microestructura

En alimentos compuestos, las propiedades mecánicas se ven especialmente afectadas por la fracción de volumen y distribución de cada fase, y por la naturaleza y grado de interacción entre estas fases. La estructura de la masa de galletitas dulces ha sido estudiada por varios investigadores. Sin embargo, las descripciones varían según la formulación utilizada. Baltsavias, Jurgens y van Vliet (1997) describieron a las masas de galletitas dulces como un sistema bicontínuo, compuesto por una fase grasa y una fase no grasa, formada por una solución de sacarosa rodeando y uniendo partículas de harina/almidón. Chevallier *et al.* (2000), Pareyt, Brijs, *et al.* (2010) y Sciarini *et al.* (2013) rechazaron la descripción de las masas de galletitas como un sistema bicontínuo. Según ellos estas masas pueden ser descritas más bien como una suspensión de proteínas, asociaciones de almidón/proteínas y gránulos de almidón aislados en una solución líquida de azúcar continua, en la que se emulsionan los lípidos.

A partir de las imágenes tomadas mediante microscopía confocal se pudo conocer cómo se distribuyen los principales ingredientes en nuestro sistema y cómo afecta la reducción de grasa y azúcar a la microestructura del sistema. En las microfotografías se ve la grasa teñida de verde (Rojo Nilo), las proteínas de rojo (Rhodamina) y los gránulos de almidón de negro (sin tinción). Las imágenes tomadas en este trabajo coinciden con la descripción de Baltsavias, Jurgens y van Vliet (1997), ya que se observaron dos fases: una fase grasa y una no grasa, esta última compuesta de solución de sacarosa junto con partículas de harina/almidón (Figura 3.21). Coincidiendo con lo observado por Rodríguez-García *et al.* (2013), la grasa se encuentra distribuida homogéneamente como la fase continúa.

Dado que este ensayo se realizó con el objetivo de conocer la distribución de los ingredientes en la masa, se obtuvieron imágenes de masas formuladas con una harina de trigo duro y solo con los máximos niveles de reducción de grasa y azúcar (50G y 50A). En la masa control se observó que la grasa se encuentra rodeando los gránulos de almidón. Sin embargo, cuando se reduce la cantidad de grasa en la formulación, no solo se vio una mayor homogeneidad de la fase no grasa (rojo), sino que hubo un cambio en la distribución de la fase grasa, donde se agrega sin rodear a los gránulos de almidón. La reducción de azúcar en la formulación también afectó la distribución de las fases: a pesar de tener mayor proporción de grasa que la masa control, parece haber mayor predominancia de coloración roja en la micrografía, lo que indica que la fase continua es la proteica (ver en color rojo). Esto puede deberse a que la mayor disponibilidad de agua que hay en el sistema permita la formación de algo de gluten. Estos resultados coinciden con el comportamiento reológico de las masas.

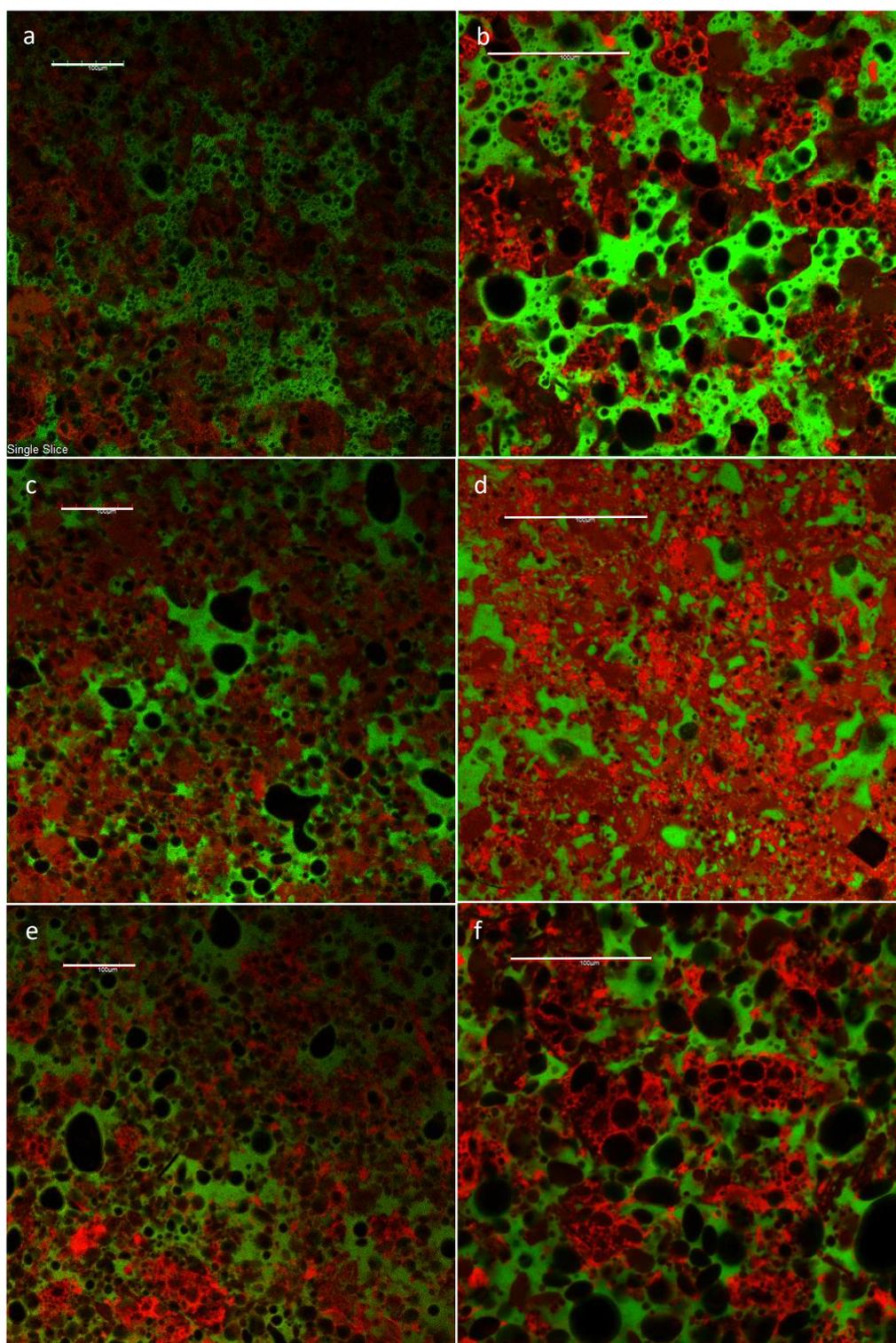


Figura 3.21. Microfotografías obtenidas por microscopía confocal. a: masa control 20x; b: masa control 40x; c: masa con reducción de grasa 50% 20x; d: masa con reducción de grasa 50% 40x; e: masa con reducción de azúcar 50% 20x; f: masa con reducción de azúcar 50% 40x. Barra= 100 µm.

## Evaluación de la calidad de las galletitas

### Factor galletita

El factor galletita (FG) es el principal parámetro que se utiliza para evaluar la calidad de las galletitas. Es una relación entre el diámetro y la altura de cuatro piezas tomadas al azar. Se considera que una galletita es de buena calidad cuanto mayor sea el diámetro y menor sea la altura o espesor, de modo que las harinas que produzcan valores más altos de FG y piezas más tiernas y crujientes son consideradas de mejor calidad para la elaboración de este tipo de productos (Yamazaki y Lord 1971).

En la Tabla 3.VIII se informan los valores obtenidos de FG, el porcentaje de reducción del FG con respecto al control, el diámetro y la altura de todas muestras. Los valores del FG oscilaron entre 3,83 (Baguette 50A) y 7,8 (HTB C). La reducción del contenido de grasa y azúcar produjo piezas de menor diámetro y mayor altura, para las dos harinas ensayadas. No se vieron diferencias significativas entre las muestras control formuladas con ambas harinas, tanto en el FG como el en diámetro y la altura. En general se observó que la reducción de azúcar afectó en mayor medida tanto el diámetro como la altura de las piezas, lo que resulta en una reducción mayor del FG, llegando a porcentajes de 43 y 49% para galletitas de Baguette 50A y HTB 50A, respectivamente.

El parámetro más afectado por las modificaciones de la formulación fue la altura de las piezas, ya que se vio un incremento de hasta 44% (en el caso de la muestra Baguette 50A), mientras que el diámetro mostró porcentajes de reducción que oscilaron entre 6% (Baguette 75G) y 27% (HTB 50A).

Como era esperado, el diámetro de las galletitas presentó una correlación significativa y positiva ( $r=0,88$ ;  $p<0,01$ ) con el diámetro máximo de las piezas alcanzado en el horno. También se observó una correlación negativa entre el diámetro y la altura de las galletitas ( $r=0,83$ ;  $p=0,01$ ).

Además, el contenido de grasa correlacionó positivamente con el diámetro de las galletitas ( $r=0,85$ ;  $p=0,02$ ) y con el FG ( $r=0,95$ ;  $p<0,01$ ) y como consecuencia correlacionó negativamente con la altura de las piezas ( $r=-0,96$ ;  $p<0,01$ ). Resultados similares fueron reportados por otros autores trabajando con galletitas a las que variaron el contenido de grasa (Pareyt, Brijs y Delcour, 2010; Sudha *et al.*, 2007).

El contenido de azúcar mostró efectos similares a la reducción de grasa: una correlación positiva con el diámetro ( $r=0,90$ ;  $p<0,01$ ) y con el FG ( $r=0,95$ ;  $p<0,01$ ) y negativa con la altura

( $r = -0,89$ ;  $p = 0,02$ ). Estos resultados son esperables, ya que la reducción de grasa y de azúcar afecta a la viscosidad de la masa. La grasa afecta la incorporación de aire durante el amasado. La cantidad de aire incorporada influye en la viscosidad del sistema (Jacob y Leelavathi, 2007), lo que repercute en la expansión de la galletita. Por otro lado, al haber menor cantidad de grasa, la masa tiene menos propiedades lubricantes. Esto junto con el desarrollo de gluten durante el calentamiento, se traducen en galletitas de menor diámetro. Por otro lado, como ya se mencionó, la reducción de azúcar deja más agua disponible para interactuar con las proteínas y partículas de la harina, resultando en gelatinización parcial del almidón. Esto genera masas con características más sólidas y galletitas de baja calidad.

El valor de FG de las galletitas control formuladas con HTB fue mayor que los valores informados por Moiraghi (2013), quienes trabajaron con 44 cultivares de trigo blando y obtuvieron un rango de valores de 5,03 a 7,56, con un promedio de 6,20. Las muestras HTB 75G y HTB 75A entran dentro del rango informado en la investigación realizada por M. Moiraghi (2013), es decir que presentan parámetros de calidad comparables con formulaciones control. A su vez, los valores de las galletitas de Baguette control mostraron valores más elevados de FG que los observados por Colombo *et al.* (2008), trabajando con 18 trigos panaderos argentinos, quienes informaron un rango de valores de 5,09-6,50, con una media de 5,73. En este caso solo la muestra Baguette 75G entra en el rango observado por estos investigadores.

En general, se pudo concluir que tanto la reducción de grasa como de azúcar afectaron en mayor medida a la harina de trigo blando. Estos resultados coinciden con los parámetros de expansión en el horneado, donde las masas formuladas con HTB fueron las más afectadas tanto en el diámetro máximo, como en el colapso de las piezas. A pesar de esto, los valores de FG de las galletitas de HTB siempre fueron mayores que las de Baguette.

Tabla 3.VIII. Parámetros de calidad de las galletitas. %R FG: % reducción del Factor galletita con respecto al control; HTB: harina de trigo blando. Baguette: harina de trigo duro. C: control. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción.

Muestras	Factor galletita	% Reducción	Diámetro [cm]	Altura [cm]
HTB C	7,8 ± 0,8 <sup>Aa</sup>	-	6,5 ± 0,3 <sup>Aa</sup>	3,4 ± 0,2 <sup>Ab</sup>
HTB 75G	5,94 ± 0,04 <sup>b</sup>	24	6,1 ± 0,5 <sup>a</sup>	4,1 ± 0,3 <sup>a</sup>
HTB 50G	4,71 ± 0,09 <sup>cd</sup>	39	5,6 ± 0,2 <sup>ab</sup>	4,75 ± 0,07 <sup>a</sup>
HTB 75A	5,2 ± 0,1 <sup>bc</sup>	33	5,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,4 ± 0 <sup>a</sup>
HTB 50A	4,0 ± 0,4 <sup>d</sup>	49	4,8 ± 0,7 <sup>b</sup>	4,77 ± 0,5 <sup>a</sup>
Baguette C	6,7 ± 0,6 <sup>Aa</sup>	-	6,3 ± 0,2 <sup>Aa</sup>	3,8 ± 0,2 <sup>Ad</sup>
Baguette 75G	5,4 ± 0,3 <sup>b</sup>	20	5,94 ± 0,1 <sup>b</sup>	4,5 ± 0,3 <sup>c</sup>
Baguette 50G	4,6 ± 0,2 <sup>c</sup>	31	5,6 ± 0,1 <sup>c</sup>	4,9 ± 0,1 <sup>b</sup>
Baguette 75A	4,56 ± 0,01 <sup>c</sup>	32	5,64 ± 0,07 <sup>c</sup>	4,95 ± 0,07 <sup>b</sup>
Baguette 50A	3,83 ± 0,08 <sup>d</sup>	43	5,2 ± 0,01 <sup>d</sup>	5,4 ± 0,1 <sup>a</sup>

### Color

El color de una galletita es una de las primeras impresiones que registra el consumidor y que influye sobre la aceptabilidad del producto. Durante el horneado, las reacciones de Maillard (o de pardeamiento no enzimático) que ocurren entre los aminoácidos de las proteínas y los azúcares reductores de los carbohidratos son la principal causa del desarrollo de los atractivos tonos pardo-rojizos en las galletitas (Belitz, Grosch y Schieberle, 1999) y por lo tanto, estas reacciones juegan un rol importante en su proceso de producción. Estas reacciones se producen hacia los 150-160 °C, temperaturas que se pueden conseguir en la superficie de la masa solamente y cuando el contenido de humedad es muy bajo, es decir que ocurre hacia el final del horneado (Manley, 2000). Es importante destacar que la caramelización del azúcar también influye sobre el color (Chan, 2006) debido a la cristalización de la sacarosa que se produce por la deshidratación de la superficie durante el horneado.

A nivel industrial es de suma importancia lograr un color estable a lo largo del tiempo. Generalmente la evaluación del color es realizada por técnicos que observan el color de las galletitas, y le asignan una categoría entre: crema, café claro, café, café oscuro y café muy oscuro, siendo indeseables las galletitas de color café oscuro y café muy oscuro (Sabattini, 1988). En este trabajo se determinaron los valores de luminosidad ( $L^*$ ), equilibrio entre el rojo y el verde ( $a^*$ ) y el equilibrio entre el amarillo y el azul ( $b^*$ ).

En la Tabla 3.IX se informan los valores de los parámetros medidos. Las galletitas control formuladas con ambas harinas no mostraron diferencias estadísticas en ninguno de los parámetros estudiados. Los valores de  $L^*$  oscilaron entre 66 (HTB C) y 74 (Baguette 50A). Todas las formulaciones con reducción de ingredientes resultaron en galletitas más pálidas (mayores valores de  $L^*$ ) que los controles, sin embargo solo las muestras con reducción de azúcar al 50% fueron significativamente diferentes. El valor  $a^*$  es una medida de la intensidad del color verde/rojo. Todas las muestras analizadas presentaron valores positivos, es decir que están indicando intensidad de coloración rojo. Las muestras formuladas con HTB fueron estadísticamente iguales entre sí, mientras que en las formuladas con Baguette la muestra 50A presentó un menor valor de este parámetro, indicando una menor intensidad del color rojo. El valor  $b^*$  es una medida de la intensidad del color amarillo. Los valores de  $b^*$  se observaron en un rango desde 28 (HTB 50G) hasta 29 (Baguette 75A) y no hubo diferencias significativas entre las muestras.

Como se mencionó anteriormente, además de las reacciones de Maillard, la caramelización del azúcar también afecta la coloración de las galletitas. Las muestras que presentaron diferencias en los parámetros de color fueron las formuladas con 50% de sacarosa. Este resultado es esperable, ya que al haber menor cantidad de azúcar en la masa y por lo tanto menor caramelización en la superficie, el producto resulta más pálido y menos marrón (menor  $a^*$ ).

Se observaron correlaciones negativas entre la luminosidad de la superficie de las galletitas con el diámetro de las piezas ( $r = -0,90$ ;  $p < 0,01$ ), el diámetro máximo alcanzado en el proceso de horneado ( $r = -0,94$ ;  $p < 0,01$ ) y el tiempo de fijación ( $r = -0,81$ ;  $p = 0,02$ ), mientras que la altura de las piezas correlacionó positivamente con  $L^*$  ( $r = 0,90$ ;  $p = 0,01$ ). Es decir que las piezas que se expandieron en el horno durante más tiempo, alcanzando mayores diámetros y, por lo tanto menor espesor, presentaron una coloración superficial más oscura.

En trabajos previos León (1995) y Ribotta *et al.* (2002) realizaron comparaciones entre las evaluaciones de color realizadas por técnicos y los parámetros medidos con el colorímetro, y observaron que las galletitas que presentan valores de  $L^*$  y  $b^*$  superiores a 55-57 y 20-22, respectivamente, son consideradas aceptables. Todos los valores de  $L^*$  y  $b^*$  reportados en el presente trabajo se encuentran por encima de los reportados por estos autores, es decir que teniendo en cuenta estos parámetros, tanto las galletitas control como las muestras reducidas en grasa y azúcar son consideradas aceptables a nivel industrial.

Tabla 3.IX. Parámetros de color de las galletitas. L\*: luminosidad; a\*: equilibrio entre el rojo y el verde; b\*: equilibrio entre el amarillo y el azul. HTB: harina de trigo blando. Baguette: harina de trigo duro. C: control. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción.

Muestra	L*		a*		b*	
HTB C	66 ± 5	Ab	6 ± 3	Aa	29 ± 3	Aa
HTB 75G	69 ± 2	ab	7 ± 1	a	28 ± 2	a
HTB 50G	70 ± 1	ab	5,8 ± 0,6	a	28 ± 2	a
HTB 75A	71,59 ± 0,01	ab	6,00 ± 0,05	a	28,78 ± 0,03	a
HTB 50A	73 ± 5	a	6 ± 2	a	29 ± 3	a
Baguette C	68 ± 4	Ab	7 ± 1	Aa	29 ± 1	Aa
Baguette 75G	68 ± 2	b	6,9 ± 0,7	a	28,9 ± 0,4	a
Baguette 50G	70,8 ± 0,6	ab	6,3 ± 0,4	ab	28,5 ± 0,5	a
Baguette 75A	72 ± 2	ab	6 ± 1	ab	29 ± 2	a
Baguette 50A	74 ± 1	a	5,3 ± 0,5	b	29 ± 1	a

### Textura

La textura, el sabor y la apariencia de los productos alimenticios son los aspectos más importantes para la aceptación por parte de los consumidores y son especialmente importantes cuando se trata de productos crujientes (Bourne, 1982). La estructura de las galletitas se ha definido como un sólido celular, con una textura porosa (Pareyt y Delcour, 2008). Lo que se espera de una galletita dulce es que sea crocante y fácil de morder (Zoulias, Oreopoulou y Tzia, 2000). En general su textura se puede describir como “frágil”. Esta naturaleza frágil le da poca o nada de elasticidad y el producto se rompe en trozos irregulares durante la masticación. La textura de las galletitas puede estar influenciada por variaciones en sus ingredientes, como también por el contenido de humedad de las piezas. Las galletitas que contienen más de 10% de humedad son menos frágiles, mientras que si tienen menos de 5%, resultan más crujientes (Matz, 1962).

La textura de las galletitas puede ser medida a través de técnicas sensoriales o instrumentales. El método instrumental que ha mostrado mejor correlación con el sensorial es el ensayo de quiebre de tres puntas, que evalúa la fuerza máxima necesaria para producir el quiebre total de la estructura. El movimiento lento de la sonda provoca la deformación del producto antes del quiebre (Gaines, 1994).

La dureza de las galletitas depende fundamentalmente de las dimensiones y de la estructura de las muestras. Se evaluaron tres parámetros en las galletitas: módulo de deformabilidad (Def), fuerza máxima de quiebre o dureza (FM) y esfuerzo de ruptura ( $\sigma$ ) (Tabla

3.X). El Def es una medida de cuánto se deforma la pieza antes de que se produzca el quiebre de la estructura.

Las galletitas control formuladas con ambas harinas no mostraron diferencias significativas en la fuerza máxima de quiebre. La reducción de azúcar al 75% incrementó este parámetro 61% y 7% para las galletitas de HTB y Baguette, respectivamente. Sin embargo, cuando el azúcar se redujo al 50% de la formulación control, la fuerza máxima disminuyó, llegando a valores 57% menores que el control, en el caso de Baguette. La reducción de grasa produjo un incremento progresivo y significativo de este parámetro en las galletitas formuladas con ambas harinas. La deformabilidad de las galletitas control no mostró diferencias significativas entre los controles de las dos harinas. Las galletitas con reducción de azúcar y de grasa incrementaron el valor de este parámetro, indicando que estas modificaciones en la formulación generan que la pieza se deforme en mayor medida antes de quebrarse. La reducción de grasa fue la que más afectó el Def, mostrando incrementos de hasta 187% sobre el control (Baguette 50G). Con respecto al esfuerzo de quiebre, el control de HTB fue significativamente mayor que el de Baguette. Las muestras presentaron la misma tendencia que en la FM: la reducción de azúcar en el máximo nivel disminuyó el valor, mientras que la reducción de grasa incrementó progresivamente este parámetro. Esto se debe a que la grasa tiene como función suavizar el sistema, disminuyendo la densidad de la galletita y haciéndola más tierna. Estudios previos llevados a cabo por otros autores mostraron el efecto contrario cuando se incrementó el contenido de grasa (Pareyt, Brijs y Delcour, 2010; Sudha *et al.*, 2007). Estos autores informaron que la porosidad de la galletita aumentó cuando aumentó la cantidad de grasa en la formulación, lo que indicó que el aire incorporado está determinado por el nivel de grasa.

Se observó una correlación positiva y significativa entre la deformabilidad y la altura de las piezas ( $r= 0,92$ ;  $p=0,02$ ) y una correlación negativa con el factor galletita ( $r= -0,92$ ;  $p=0,03$ ). Esto indica que cuando las galletitas son más gruesas y de menor diámetro, se tornan menos frágiles y por lo tanto, cuando son mordidas sufren una deformación por compresión antes de quebrar su estructura. Por otro lado, la FM mostró una correlación negativa con el diámetro de las galletitas ( $r= -0,65$ ;  $p=0,04$ ). Es decir que las piezas de mayor diámetro resultaron más frágiles, ya que sufrieron menor deformación y requirieron menor fuerza para quebrarse al ser mordidas. Otros autores (Malena Moiraghi *et al.*, 2011; Pareyt y Delcour, 2008) han demostrado que la dureza o FM de la galletitas presentó una correlación inversa con el factor galletita, lo cual se ha relacionado con un producto de mayor espesor. En este trabajo no se observaron correlaciones entre estos parámetros, lo que sugiere que las piezas de mayor altura no necesariamente tienen mayor dureza. Las galletitas que presentaron mayor altura fueron las

50A y se relacionó a la gelatinización parcial de almidón. Esto hace al producto más esponjoso, por lo que es esperable que se deforme y comprima sin requerir mucha fuerza para quebrarlo.

Existen diversos factores asociados a la harina, como la textura del grano, el contenido de proteínas y la capacidad de la harina de absorber agua, que afectan la textura de las galletitas (Gaines, Kassuba y Finney, 1994). Lo que se esperaba, era que la harina que contiene mayor cantidad de almidón dañado presente los valores más altos de dureza. Sin embargo, solo un parámetro acusó diferencias estadísticas y el resultado fue inverso al esperado: las muestras de harina de trigo blando, que presentan menor contenido de almidón dañado resultaron más duras que las de harina de trigo duro. Este resultado se puede explicar por las características de la harina Baguette, ya que se trata de un trigo duro de muy baja calidad para panificación, dado su escaso contenido proteico y la calidad del gluten que generan. Otros autores observaron correlaciones entre el contenido de almidón dañado y la dureza de las galletitas (Abboud, Hosney y Rubenthaler, 1985; Barak, Mudgil y Khatkar, 2014; Donelson y Gaines, 1998b; Gaines, Donelson y Finney, 1988).

Tabla 3.X. Parámetros de textura de las galletitas. Def: módulo de deformabilidad. FM: fuerza máxima.  $\sigma$  : Esfuerzo de ruptura. HTB: harina de trigo blando. Baguette: harina de trigo duro. C: control. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción.

Muestra	FM [kgf]	%FM	Def [seg]	% Def	$\sigma$ [Pa]	% $\sigma$
HTB C	61 ± 9 <sup>Ac</sup>	-	1,2 ± 0,3 <sup>Ad</sup>	-	7 ± 1 <sup>Ab</sup>	-
HTB 75G	98 ± 20 <sup>b</sup>	69	1,9 ± 0,5 <sup>bc</sup>	62	8 ± 1 <sup>b</sup>	12
HTB 50G	176 ± 20 <sup>a</sup>	183	3 ± 0,5 <sup>a</sup>	155	14 ± 2 <sup>a</sup>	93
HTB 75A	98 ± 10 <sup>b</sup>	61	1,6 ± 0,3 <sup>cd</sup>	38	8,3 ± 0,8 <sup>b</sup>	14
HTB 50A	49 ± 10 <sup>d</sup>	-25	2,2 ± 0,5 <sup>b</sup>	90	3,1 ± 0,8 <sup>c</sup>	-57
Baguette C	59 ± 10 <sup>Ac</sup>	-	1,2 ± 0,2 <sup>Ac</sup>	-	5,6 ± 0,9 <sup>Bc</sup>	-
Baguette 75G	108 ± 20 <sup>b</sup>	86	2,4 ± 0,8 <sup>b</sup>	98	7 ± 1 <sup>b</sup>	20
Baguette 50G	147 ± 29 <sup>a</sup>	155	3 ± 1 <sup>a</sup>	187	9 ± 2 <sup>a</sup>	52
Baguette 75A	59 ± 10 <sup>c</sup>	7	2 ± 0,2 <sup>b</sup>	66	4,6 ± 0,7 <sup>c</sup>	-19
Baguette 50A	25 ± 5 <sup>d</sup>	-57	2,2 ± 0,3 <sup>b</sup>	87	1,6 ± 0,3 <sup>d</sup>	-71

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### Estructura superficial

Otro parámetro de calidad importante en las galletitas dulces es el grado y uniformidad del patrón de agrietamiento. Un producto de buena calidad presenta un alto grado y uniformidad de grietas en su superficie.

A pesar de que las galletitas dulces son productos que se formulan con un bajo contenido de agua, es importante tener en cuenta que existe un gradiente de humedad dentro de las piezas hacia el final del proceso de horneado. La humedad solo se puede eliminar desde la superficie. El mayor contenido de humedad se encuentra en una lámina delgada ubicada en el centro de la galletita, paralela a la superficie y la zona de menor humedad está en la superficie del producto y en los bordes (Wade, 1988). A medida que el gradiente de humedad a través de la pieza de masa va aumentando durante el secado, se producen tensiones debidas a la contracción de la estructura del almidón y a la cristalización de la sacarosa en la superficie.

Debido a este gradiente y a la expansión de la galletita, y dado que la sacarosa cristaliza a altas temperaturas, el agua difunde produciendo la ruptura de la superficie que se observa como la formación de grietas (Hoseney, 1994b). Mientras mayor sea la pérdida de agua, mayor será la expansión de la galletita durante el horneado, mayor será el agrietado de la superficie, y mejor la calidad del producto.

La fracción de área (FA) es un parámetro que está relacionado con la proporción de la superficie de la galletita que presenta grietas, mientras que, la dimensión fractal (D) de la textura superficial es un parámetro que provee una descripción numérica de la morfología de la superficie de las galletitas y está asociado con estructuras complejas e irregulares. Hasta ahora, no se han registrado numerosas publicaciones relacionadas con galletitas en donde se reporte la utilización del análisis de imágenes como metodología de estudio, a excepción de lo informado por Davidson, Ryks y Chu (2001), quienes mediante un análisis de imágenes digitales de galletitas con chocolate estimaron características físicas, tales como tamaño, forma y color, y la fracción de la superficie superior que poseía chocolate (Brosnan y Sun, 2004), y lo publicado por Stevenson, Fok y Edwards (2010), quienes mediante un análisis digital evaluaron diferentes patrones de agrietamiento de la superficie de galletitas dulces elaboradas con harinas de trigo blando de diferentes calidades para la producción de galletitas.

En relación al parámetro fracción de área de agrietamiento (FA), no se ha informado la utilización de este parámetro como herramienta descriptiva en el análisis de galletitas, aunque numerosos estudios relacionados a la calidad panadera han descrito la aplicación de este parámetro al análisis de miga de pan, donde la fracción de área representa la proporción del área total de la miga que es ocupada por alveolos (Eugenia Steffolani *et al.*, 2012; Ribotta *et al.*, 2010; Roccia *et al.*, 2012; Sciarini *et al.*, 2012). La dimensión fractal de la textura superficial es

un parámetro que ha sido utilizado para explicar cambios en la estructura de productos panificados como consecuencia de su procesamiento (Pérez-Nieto *et al.*, 2010; Quevedo *et al.*, 2002), sin embargo, no se han registrado antecedentes de la utilización de esta herramienta descriptiva en el estudio de galletitas.

La muestra control formulada a partir de HTB presentó una mayor fracción de área que la de Baguette (Tabla 3.XI). La reducción de grasa en ambas harinas incrementó el valor de este parámetro en las muestras 75G (aunque solo en Baguette este aumento fue significativo), mientras que las 50G fueron iguales a sus respectivos controles. La reducción de azúcar mostró una disminución progresiva de la fracción de área de grieta, alcanzando el menor valor en Baguette 50A (5,7% del control). Otros autores también observaron que la reducción de azúcar en la masa de galletitas resulta en una superficie muy suave (Finney, Morris y Yamazaki, 1950; Pareyt Y Delcour, 2008).

Con respecto a la dimensión fractal, no se observaron diferencias significativas entre los controles de ambas harinas. La reducción de grasa no mostró diferencias estadísticas en las muestras formuladas con Baguette, mientras que en las de HTB el valor de este parámetro disminuyó levemente en la muestra 75G, y la 50G fue igual al control. La reducción de azúcar disminuyó progresivamente el valor de D, en las muestras de Baguette y en las de HTB solo la mayor reducción de sacarosa fue significativamente menor que el control. Menores valores de D se relacionan con superficies menos complejas y rugosas. Dado que el craquelado de las galletitas está dado por la cristalización de la sacarosa durante el calentamiento en el horno, es esperable que al reducir la proporción de azúcar en la formulación la superficie de las piezas resulte menos agrietada.

Se sabe que las galletitas que más se extienden durante el horneado tendrán un mayor número de grietas en la superficie (Pareyt y Delcour, 2008). En este trabajo no se observó correlación entre los parámetros de expansión en el horneado y las grietas superficiales.

Tabla 3.XI. Parámetros de textura superficial de las galletitas. FA: fracción de área de grieta; D: dimensión fractal. HTB: harina de trigo blando. Baguette: harina de trigo duro. C: control. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción.

Muestra	FA		D	
HTB C	7,6 ± 0,2	<sup>Aa</sup>	1,38 ± 0,06	<sup>Aa</sup>
HTB 75G	7,88 ± 0,05	<sup>Aa</sup>	1,23 ± 0,06	<sup>b</sup>
HTB 50G	7,2 ± 0,2	<sup>Aa</sup>	1,36 ± 0,04	<sup>a</sup>
HTB 75A	2 ± 1	<sup>b</sup>	1,43 ± 0,06	<sup>a</sup>
HTB 50A	1,4 ± 0,2	<sup>b</sup>	1,11 ± 0,02	<sup>b</sup>
Baguette C	5,75 ± 0,07	<sup>Bb</sup>	1,43 ± 0,06	<sup>Aa</sup>
Baguette 75G	10,2 ± 0,7	<sup>a</sup>	1,5 ± 0,1	<sup>a</sup>
Baguette 50G	6,65 ± 0,04	<sup>b</sup>	1,38 ± 0,07	<sup>ab</sup>
Baguette 75A	3 ± 1	<sup>c</sup>	1,25 ± 0,06	<sup>b</sup>
Baguette 50A	0,3 ± 0,3	<sup>d</sup>	1,01 ± 0,01	<sup>c</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### Evaluación sensorial

La evaluación sensorial es una disciplina científica utilizada para medir, analizar e interpretar reacciones de aquellas características de productos o materiales, que son percibidos a través de los sentidos de la vista, olfato, tacto y audición (Dijksterhuis, 1997; Stone y Sidel, 1993).

Muchos atributos de los productos de panificación, al igual que el resto de los alimentos, pueden ser evaluados solo a través de técnicas sensoriales. La crujencia, cohesividad durante la masticación y la aceptabilidad, son algunos ejemplos de características que no pueden medirse por métodos químicos o mecánicos. El uso de la evaluación sensorial cobra mayor importancia a nivel industrial, ya que asegura una valoración parcial y confiable cuando se quieren probar ingredientes y procesos alternativos o nuevas formulaciones.

Las galletitas con las que se realizó la evaluación sensorial fueron formuladas a partir de una harina de trigo comercial, ya que no se contaba con suficiente cantidad de las dos harinas utilizadas en los ensayos anteriores. Además, el objetivo de este análisis fue conocer el impacto de la reducción de grasa y de azúcar sobre la preferencia y la percepción de los atributos por parte de los jueces.

En la Tabla 3.XII y Figura 3.22 se muestran los valores promedio de cada uno de los atributos evaluados por los jueces. La reducción de grasa resultó en un incremento de la dureza de la galletita percibida por los jueces, solo en el máximo nivel de reducción (50G), mientras que la reducción de azúcar disminuyó este atributo. Como era esperado, estos resultados presentaron una correlación positiva con los valores de textura obtenidos instrumentalmente,

tanto la fuerza máxima ( $r= 0,86$ ;  $p=0,03$ ), como el esfuerzo de quiebre ( $r= 0,83$ ;  $p=0,03$ ). La crujencia de las galletitas no se vio afectada por la reducción de grasa, pero los jueces percibieron las muestras con reducción de azúcar como menos crujiente. La crujencia es el sonido percibido cuando se produce el quiebre de la estructura de la galletita, es decir que depende de la textura superficial de la pieza. En la elaboración de las galletitas dulces solo una parte del azúcar se disuelve durante el batido, el resto se disuelve en el horneado (Abboud y Hosney, 1984). El azúcar se cristaliza en la superficie de la galletita en el horno (Hosney, 1994b). La superficie se seca y agrieta a medida que la pieza se expande, produciendo un craquelado en la superficie y el desarrollo de la textura crujiente (Hosney y Rogers, 1994; Maitan-alfenas y Visser, 2015). Al haber menor cantidad de azúcar, es lógico esperar que haya una menor cristalización en la superficie durante el horneado y por lo tanto resulte en una galletita menos crujiente. Se observó una correlación positiva entre la crujencia de las galletitas y el contenido de azúcar ( $r= 0,94$ ;  $p<0,01$ ), como también con la dureza ( $r= 0,88$ ;  $p=0,02$ ), es decir que las galletitas más duras fueron percibidas como más crujientes.

Con respecto al gusto dulce, como era esperado, las muestras con reducción de azúcar presentaron los valores más bajos. Por otro lado la reducción de grasa resultó en un incremento de la percepción dulce por parte de los jueces. Esto se debe a que cuando se reduce el contenido de grasa, proporcionalmente hay mayor cantidad de azúcar: mientras que en la muestra control el porcentaje de azúcar es de 27% (del total de los ingredientes secos), en las muestras 50G, el contenido de sacarosa es alrededor de 30%. Es por esto que se observó una alta correlación positiva con el contenido de azúcar ( $r= 0,99$ ;  $p<0,01$ ) y una correlación negativa con el contenido de grasa ( $r= -0,88$ ;  $p=0,01$ ).

La palatabilidad es la sensación grasa que se percibe en el paladar luego de tragar. Contrario a lo esperado, no se observaron diferencias significativas entre las muestras y el control. Tampoco se observaron diferencias en los atributos masticabilidad y granulosidad.

Tabla 3.XII. Atributos de la evaluación sensorial. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al contenido.

Muestra	Dureza	Crujencia	Gusto dulce	Palatabilidad	Masticabilidad	Granulosidad
Control	3,79 ± 0,41 <sup>ab</sup>	3,84 ± 0,41 <sup>a</sup>	3,39 ± 0,45 <sup>a</sup>	3,87 ± 0,45 <sup>a</sup>	3,90 ± 0,36 <sup>a</sup>	3,46 ± 0,42 <sup>ab</sup>
75A	2,91 ± 1,05 <sup>bc</sup>	2,67 ± 1,28 <sup>bc</sup>	3,06 ± 0,84 <sup>b</sup>	3,89 ± 0,77 <sup>a</sup>	3,28 ± 0,86 <sup>a</sup>	3,31 ± 0,65 <sup>bc</sup>
50A	2,42 ± 0,88 <sup>c</sup>	2,09 ± 1,14 <sup>c</sup>	2,20 ± 0,85 <sup>c</sup>	3,88 ± 1,25 <sup>a</sup>	3,03 ± 1,05 <sup>a</sup>	3,03 ± 1,30 <sup>c</sup>
75G	3,48 ± 0,98 <sup>bc</sup>	3,00 ± 0,96 <sup>ab</sup>	3,84 ± 0,60 <sup>a</sup>	3,75 ± 0,75 <sup>a</sup>	3,44 ± 0,66 <sup>a</sup>	3,51 ± 0,65 <sup>abc</sup>
50G	4,36 ± 1,04 <sup>a</sup>	3,42 ± 1,22 <sup>ab</sup>	4,15 ± 1,18 <sup>a</sup>	3,47 ± 0,68 <sup>a</sup>	3,45 ± 0,82 <sup>a</sup>	3,96 ± 0,49 <sup>a</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

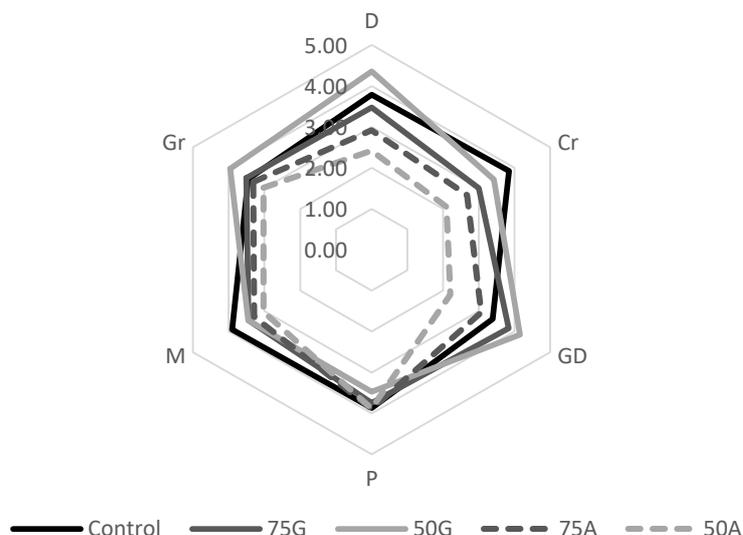


Figura 3.22. Atributos de la evaluación sensorial. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción. D: dureza. Cr: crujencia. GD: gusto dulce. P: palatabilidad. M: masticabilidad. Gr: granulosidad.

Con el objetivo de conocer las preferencias del panel, tanto del aspecto visual como de la textura y el sabor de las galletitas, se llevó a cabo un test de consumidores (Figura 3.23) en el que se evaluó la apariencia, la textura y el sabor. Con respecto a la apariencia de las galletitas, los jueces prefirieron las muestras 75A, seguido por 50G y 75G. Estas tres muestras presentaron mayor preferencia que el control, mientras que 50A fue la que presentó menor puntaje. En cuanto a la textura la preferida por los jueces fue la muestra control, seguida por 75A y 75G (con el mismo puntaje). Con respecto al sabor, las muestras preferidas fueron 50G, seguidas por el control y luego 75G. Es decir que a pesar de no percibir diferencias en palatabilidad, los jueces eligieron las galletitas reducidas en grasa.

Para resumir la preferencia en un solo parámetro, se hizo una suma algebraica de los puntajes que cada muestra obtuvo en el aspecto visual, textura y sabor (Figura 3.24). Se observó que los jueces prefirieron la muestra control (138,6 puntos), seguida por 50G, 75G y 75A con casi el mismo puntaje entre sí (133, 132 y 131, respectivamente). La muestra con 50% de azúcar fue la menos elegida (93 puntos). A partir de estos resultados se puede afirmar que el azúcar es el ingrediente determinante de la aceptabilidad de las galletitas dulces. Otros investigadores observaron resultados similares trabajando con galletitas reducidas en azúcar y en grasa (Drewnowski, Nordensten y Dwyerc, 1998). Ellos atribuyen estos resultados a que los consumidores son más sensibles a pequeñas variaciones en el contenido de azúcar, mientras

que la grasa es difícil de detectar en productos alimenticios sólidos. A partir de nuestro trabajo, también se pudo confirmar con mediciones instrumentales que la reducción de azúcar afectó en mayor medida la calidad del producto final.

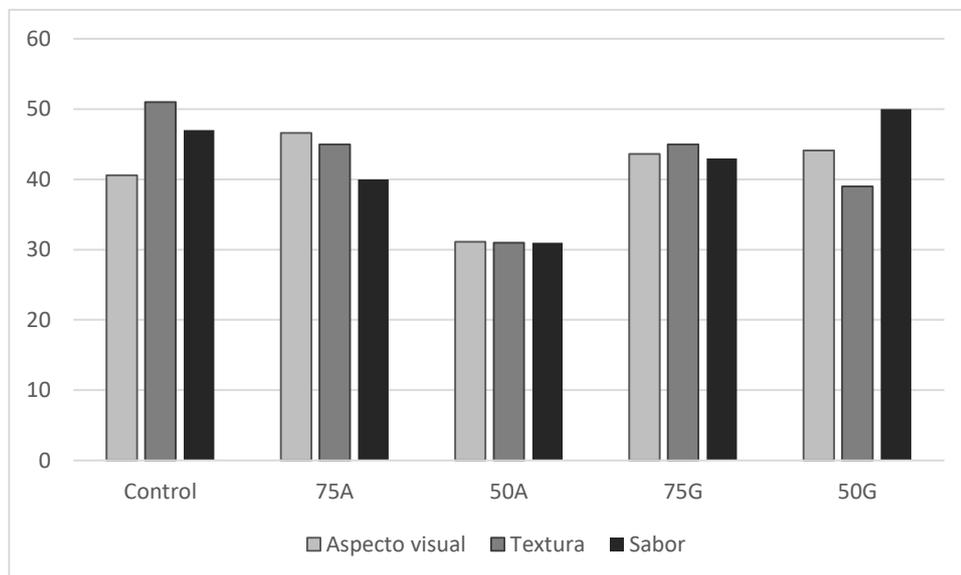


Figura 3.23. Test de preferencia en aspecto visual, textura y sabor. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción. Los valores se obtuvieron como la sumatoria de los puntajes asignados por cada juez.

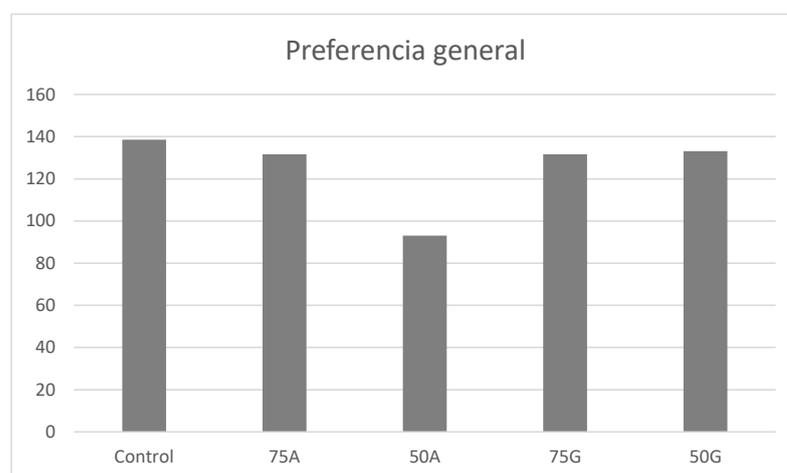


Figura 3.24. Preferencia general. G: grasa. A: azúcar. 50 y 75 hacen referencia al nivel de reducción. Los valores se obtuvieron como la sumatoria de los puntajes asignados por cada juez.

Tal como se esperaba, las modificaciones en la formulación de las galletitas produjeron cambios en la reología de las masas y en la calidad del producto final. Sin embargo, el grado de estos cambios dependió de la harina utilizada en la formulación. La mayor diferencia de las características de las harinas radica en el contenido de almidón dañado: la harina de trigo duro

presentó un 23,5% más de AD que la harina de trigo blando y por lo tanto, es esperable que absorba más agua. Esto trae aparejado varios problemas: por un lado, es sabido que las harinas que presentan alta retención de agua producen galletitas de mala calidad. Por otro lado, si la masa requiere mayor cantidad de agua para formarse, se genera una serie de inconvenientes tecnológicos durante su procesamiento: no solo los problemas de adherencia de las masas a las superficies, sino también se requiere de un mayor tiempo de horneado para eliminar el exceso de agua y mayores costos energéticos derivados de esto (Faridi, Gaines y Finney 1994).

Los componentes más higroscópicos presentes en la masa de galletitas son la harina y el azúcar. Una menor absorción de agua por parte de la harina genera una mayor absorción de agua por parte del azúcar. Esto produce un incremento en el volumen de la solución de sacarosa que trae aparejado una disminución en la viscosidad de la masa durante el horneado, permitiendo mayor expansión de la pieza, que se traduce en galletitas de mejor calidad (L Slade y Levine, 1994). Es por esto que las harinas que tienen menor contenido de almidón dañado producen galletitas de mejor calidad.

Los efectos de la reducción de azúcar y de grasa sobre las masas y las galletitas presentaron la misma tendencia, tanto en el comportamiento de la masa como en la calidad del producto final.

Durante el amasado, el azúcar se disuelve parcialmente en la escasa cantidad de agua de la formulación de las masas de galletitas. Esto, previene que las partículas hidrofílicas de la harina absorban el agua y de esta forma el desarrollo de gluten y la gelatinización del almidón se inhiben o retrasan. Cuando la masa es sometida al proceso de horneado, la temperatura hace que el azúcar se disuelva por completo, disminuyendo la viscosidad del sistema y promoviendo la expansión de la pieza. Más tarde en el horneado, la superficie de la galletita se seca y se produce la cristalización de la sacarosa superficial, que al no dejar salir la humedad del interior se agrieta produciendo el característico craquelado. Cuando en la formulación de las galletitas se reduce la cantidad de azúcar, queda más agua disponible para ser absorbida por las partículas de harina. De esta forma se puede desarrollar algo de gluten durante el amasado y puede ocurrir gelatinización parcial de almidón en el horneado. Esto, genera un incremento en la viscosidad y no permite una gran expansión durante el horneado. La galletita resultante presenta una superficie más suave y menos crujiente.

La grasa es uno de los principales ingredientes lubricantes de las galletitas. Recubre las partículas de harina, impidiendo que se hidraten. Por otro lado, atrapa y retiene el aire incorporado durante el amasado, disminuyendo la densidad y haciendo que la masa resultante sea suave. A medida que aumenta la temperatura en el horno, la grasa se funde y disminuye la viscosidad, contribuyendo a la expansión de la pieza. Cuando la cantidad de grasa es insuficiente,

parte de las partículas de harina y las proteínas se hidratan, resultando en la formación de gluten. Es decir que la masa resulta más dura. A su vez, se produce una menor expansión de la pieza en el horneado y la galletita resultante presenta una estructura menos porosa, más dura, de menor diámetro y con grietas superficiales de mayor tamaño y poco homogéneas.

A partir de todos los resultados mostrados en el presente capítulo, se puede afirmar en términos generales que el ingrediente más crítico en la reología de la masa fue la grasa, ya que su reducción resultó en masas más consistentes que la formulación control. Sin embargo, luego de someter las piezas al proceso de horneado, las galletitas con reducción de azúcar presentaron menor calidad. Sumado a esto, a partir de la evaluación sensorial se evidenció que la sacarosa es el factor clave de la aceptación de este tipo de producto.

## Conclusión

A nivel mundial para la formulación de galletitas se utiliza harina de trigo blando, debido a las características de su composición. En muchos países, incluida la Argentina, esto representa una complicación ya que se carece que cultivos extensivos de variedades de trigos blandos. Es sabido que las galletitas formuladas con Baguette son de menor calidad que las de HTB, sin embargo, en este trabajo se demostró que la harina de trigo duro (trigo pan) generaría menos inconvenientes tecnológicos que la harina de trigo blando durante el procesamiento cuando se producen variaciones en la formulación de las masas y generan productos de una calidad aceptable. Tanto la grasa como el azúcar son ingredientes clave en la formulación de este tipo de producto, pero su consumo en exceso se relaciona con problemas de salud. Los resultados obtenidos en este capítulo muestran que tanto la reducción de grasa como de azúcar afectan negativamente la calidad de las galletitas elaboradas con ambas harinas. Sin embargo, es posible lograr un producto de calidad aceptable, reduciendo estos ingredientes hasta cierto nivel y aun así logrando una mejora en el perfil nutricional. En este capítulo se estudió con profundidad la función de cada uno de los ingredientes principales en el sistema y el impacto que produce su reducción sobre la masa de galletita y en el producto terminado. También se profundizó en los efectos de la reducción de grasa y azúcar sobre la disponibilidad de agua y su distribución, lo que permitió explicar los cambios reológicos de las masas y su efecto sobre la calidad de las galletitas. Esta información sirve de base para los siguientes capítulos, en los que se estudia la incorporación de nuevos ingredientes con la idea de mejorar la calidad nutricional, manteniendo la calidad de las galletitas.

CAPÍTULO 4  
EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE  
INCORPORACIÓN DE FIBRA  
ALIMENTARIA SOBRE LAS  
PROPIEDADES DE LA MASA Y  
GALLETITAS

## Introducción

En las últimas décadas la demanda de los consumidores en el campo de los alimentos ha cambiado considerablemente. Las nuevas tendencias mundiales en la alimentación han llevado a los consumidores a la búsqueda de alimentos que contribuyan directamente a su salud (Siró *et al.*, 2008). Estas variaciones en los patrones de alimentación generaron una nueva área de desarrollo en la ciencia de los alimentos y de la nutrición.

Desde hace años, existe evidencia científica respecto a que los cereales tienen el potencial para mejorar la salud más allá de la provisión de los nutrientes y que su consumo puede disminuir sustancialmente el riesgo de padecer enfermedades crónicas relacionadas con la dieta (David Topping, 2007).

Gran parte del interés en los cereales y su impacto sobre la salud ha surgido de estudios de poblaciones en las que se compara el consumo de alimentos a base de cereales integrales con el consumo de alimentos a base de cereales refinados. En el primer caso, el pericarpio, la aleurona y el germen son retenidos y por lo tanto, también lo son la fibra alimentaria, los micronutrientes, los lípidos y las proteínas; mientras que en el caso de los cereales refinados, solo se conserva el endospermo durante el proceso de molienda.

Estos estudios, han demostrado que el consumo de granos de cereales intactos se encuentra directamente relacionado con el mantenimiento de una buena salud y el control de enfermedades relacionadas con la dieta, tales como enfermedades cardiovasculares (Jacobs, Slavin y Marquart, 1998; S. Liu *et al.*, 1999; K. A. Meyer, Kushi y Folsom, 1999), diabetes tipo 2 (S. Liu *et al.*, 2000; K. A. Meyer *et al.*, 2000) y algunos tipos de cáncer (Jacobs, Slavin y Marquart, 1998).

La posibilidad de aplicación de los cereales y sus componentes en la formulación de alimentos puede resumirse de la siguiente manera (Charalampopoulos *et al.*, 2002):

- Como sustratos fermentables, para el crecimiento de microorganismos probióticos.
- Como fibra alimentaria, promoviendo efectos fisiológicos benéficos.
- Como prebióticos, debido a su contenido de carbohidratos no digeribles.
- Como materiales, para encapsular probióticos en virtud de aumentar su estabilidad.

Los hidratos de carbono (disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos), nutrientes mayoritarios de la dieta, presentan una biodisponibilidad que depende de la posibilidad de ser absorbidos en el intestino delgado. Según sean o no hidrolizados en el tracto gastrointestinal, se clasifican en disponibles y no disponibles. Los disponibles (azúcares simples y almidón) se caracterizan por tener uniones  $\alpha$  entre sus monómeros, mientras que los no degradables (oligosacáridos y polisacáridos no almidón), constituyen la fracción indigerible, con uniones  $\beta$ , no hidrolizables, también llamada fibra alimentaria. Estos compuestos no degradables, presentes en las estructuras vegetales, llegan intactos al intestino grueso, donde pueden ser sustratos de las enzimas bacterianas de la flora intestinal, provocando diferentes efectos fisiológicos en el huésped: sobre el funcionamiento intestinal, la colesterolemia, glucemia e insulinemia (Roberfroid, 1999).

Existe una clasificación conceptualmente simple de fibra alimentaria que ha resultado muy útil desde el punto de vista clínico, es en función de su solubilidad y fermentabilidad por las bacterias colónicas. Desde el punto de vista de sus propiedades físicas, y más concretamente de su grado de solubilidad en agua, se clasifica la fibra alimentaria en fibra soluble e insoluble. Esta distinción es de mucha importancia ya que determina en gran medida sus propiedades fisiológicas (D. Topping, 1991). La fibra soluble es fácilmente fermentable por la flora bacteriana, mientras que la fibra insoluble es fermentada de forma lenta.

Existen diferentes mecanismos a través de los cuales las fibras soluble e insoluble ejercen sus efectos beneficiosos sobre la salud.

#### A) Formación de geles en el estómago y en el intestino delgado.

Las fibras alimentarias hidrosolubles, en contacto con el agua del contenido intestinal, reaccionan rápidamente formando una masa gelatinosa viscosa capaz de retener más agua, así como otras sustancias presentes en la luz intestinal tales como cationes bivalentes, ácidos biliares y otras sustancias orgánicas (Story y Kritchevsky, 1976), aumentando por tanto el volumen fecal. Se cree que éste es el mecanismo mediante el cual las fibras solubles enlentecen el vaciado gástrico, aceleran el tránsito del intestino delgado y demoran la absorción de nutrientes, como la glucosa (Jenkins *et al.*, 2004). Tanto el aumento del residuo indigerible que provoca la fibra insoluble, como la retención de agua y el aumento de la masa bacteriana que provoca la fibra soluble, suponen un aumento de la masa fecal y por tanto un aumento del peristaltismo y velocidad de tránsito intestinal (Cummings, Edmond y Magee, 2004). Las fibras solubles determinan en gran parte el índice glucémico de los alimentos. Los alimentos con un índice glucémico bajo son digeridos y absorbidos lentamente a lo largo del intestino delgado y producen menor glucemia postprandial y menor respuesta de insulina. Estos alimentos pueden ser útiles en el tratamiento dietético de la obesidad, la intolerancia a la glucosa y la diabetes

(James *et al.*, 2003). En cambio, las fibras insolubles tienen menor capacidad de formar geles viscosos en la luz intestinal. Tienen efecto variable sobre el índice glucémico dependiendo particularmente de las propiedades de la fibra evaluada, pero pueden tener influencia sobre las propiedades físicas del alimento que las contiene (James *et al.*, 2003).

B) Efectos de la fermentación de la fibra por parte de las bacterias colónicas.

El colon es un órgano fundamental en la digestión de todos aquellos nutrientes que escapan a la acción de las enzimas digestivas en el intestino delgado, debido a que la flora bacteriana colónica produce enzimas capaces de degradarlos. Este proceso tiene lugar en condiciones anaeróbicas y se denomina fermentación (Gibson *et al.*, 2004).

Un efecto importante de la fibra alimentaria es el de formar parte del sustrato fermentable de la flora bacteriana colónica. Los productos de la fermentación ejercen efectos fisiológicos y una alteración de las condiciones químicas del colon que afectan el crecimiento bacteriano y su actividad metabólica (Kay, 1982).

La fermentación implica la formación y liberación de los ácidos grasos de cadena corta (AGCC): acético, propiónico y butírico, en proporción molar casi constante (60:25:15, respectivamente) (Guarner y Malagelada, 2003; Titgemeyes *et al.*, 1991). Éstos tienen un papel importante en el mantenimiento de la integridad de la mucosa colónica, al representar el principal sustrato de las células de la mucosa intestinal. Por último, la fermentación colónica provoca la formación y liberación de diversos gases como el metano, dióxido de carbono e hidrógeno (Guarner y Malagelada, 2003).

En este punto, es importante mencionar que el grado de fermentación de la fibra, y por tanto la producción de AGCC, depende de diversos factores, como la naturaleza de la flora bacteriana colónica, el tiempo de tránsito intestinal en el colon y las características físico-químicas de la propia fibra alimentaria (Macfarlane y Macfarlane, 2003).

Ciertos tipos de fibras pueden estimular, durante su fermentación, el crecimiento de determinadas bacterias intestinales beneficiosas para la salud como por ejemplo *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y otras bacterias ácido-lácticas (Hartemink, Van Laere y Rombouts, 1997). Por ello, estas fibras pueden incluirse dentro de los alimentos considerados como prebióticos, es decir, aquellos componentes no digeribles de los alimentos, que resultan beneficiosos para el huésped porque producen la estimulación selectiva del crecimiento y/o la actividad de una o de un número limitado de especies bacterianas en el colon (Gibson, Willems, Reading, y Collins, 1996).

Por otra parte, las fibras insolubles son poco fermentables por parte de la flora bacteriana colónica y productoras de AGCC. Es el caso de la celulosa, algunas hemicelulosas y la lignina. Sin embargo, la combinación de fibras fermentables con otras menos fermentables,

puede provocar un efecto más extendido en el colon y un mayor contacto del epitelio colónico con los productos de la fermentación (James *et al.*, 2003).

C) Efecto absortivo y trófico en el colon.

Las fibras insolubles actúan también a modo de esponja. Poseen la capacidad de fijación del agua esencialmente en el colon y, de esta manera, aumentan el volumen de las heces. Gracias a esta propiedad, también son capaces de fijar moléculas como los ácidos biliares y, presumiblemente, sustancias carcinógenas. En este sentido, el agua atrapada o inmovilizada por la fibra alimentaria, en la luz intestinal, tiene un papel muy importante en la eliminación del colon de moléculas hidrófobas. Concretamente, las fibras capaces de formar geles de poca densidad pueden atrapar o inmovilizar mejor el agua. La consiguiente separación de la superficie mucosa de partículas hidrófobas carcinogénicas o potencialmente carcinogénicas, puede ser posible por la presencia de fibra alimentaria no fermentada (Chaplin, 2003).

Las fibras insolubles, debido al estímulo físico que supone su contacto con las paredes intestinales, son capaces de tener un efecto trófico sobre el epitelio intestinal, un incremento de la función de barrera física y un efecto supresor de la carcinogénesis (Sengupta, Tjandra y Gibson, 2001).

En definitiva, es importante recalcar que todos los efectos gastrointestinales descritos de la fibra alimentaria, son la base fundamental sobre la que se ha asentado la recomendación de su ingesta como una herramienta terapéutica para múltiples procesos patológicos.

Las Dietary Guidelines for Americans, publicadas cada 5 años desde 1980 por el Department of Health and Human Services (HHS) y el Department of Agriculture (USDA), recomiendan en la última edición de 2010, un consumo de 25 g/2000 Kcal consumidas (Dietary Guidelines for Americans, 2010). En niños, la American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition recomienda un consumo de 0,5 g/Kg de peso (Gidding *et al.*, 2005), mientras que la American Health Foundation recomienda, para niños mayores a 2 años de edad, una ingesta de fibra alimentaria equivalente a la edad en años más 5 g/día (Williams, 1995). No existen estudios que permitan establecer ingestas recomendadas de fibra para niños menores de 2 años, no obstante, se aconseja introducirla progresivamente a partir del año, siempre en función del grado de maduración del sistema digestivo (Tabla 4.I).

Tabla 4.1. Ingesta recomendada de fibra alimentaria.

Organismo	Edad pediátrica*	Adultos
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT)	-	25 g/día
Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC)	Edad (años) + 5 g/día	>25 g/día
Organización Mundial de la Salud (OMS)	-	>25 g/día
Dietary Guidelines for Americans (HHS) (USDA)	-	25 g/2000 kcal
American Academy of Pediatrics (AAP)	0,5 g/ kg de peso	-
American Health Foundation (AHF)	Edad (años) + 5 g/día	-

\* Edad > 2 años.

Es creciente el interés de numerosos estudios que establecen la relación entre flora intestinal y salud. La posibilidad de modificar la microflora intestinal mediante algún componente de la dieta ha atraído la atención tanto de tecnólogos, industriales y científicos como por parte de los consumidores, porque de esto derivan efectos fisiológicos de importante repercusión en la salud humana. Esta capacidad de modificar la flora se conoce como efecto prebiótico y los prebióticos se definen como “ingredientes no digeribles de los alimentos que afectan beneficiosamente al huésped por una estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una o un limitado grupo de bacterias en el colon” (Gibson *et al.*, 2004). Para que un componente sea incluido en la categoría de prebiótico se deberán cumplir dos criterios: 1) escapar de la digestión por las enzimas endógenas del tracto digestivo humano (componente resistente); 2) ser fermentado selectivamente por las bacterias sacarolíticas de la microflora colónica (*Bifidobacterias* y *Lactobacillus*). Estas bacterias intestinales metabolizan en forma rápida estos oligosacáridos y polisacáridos, produciendo ácidos grasos de cadena corta (butírico, acético y propiónico) que bajan el pH en el lumen del intestino grueso. Las *Bifidobacterias* y *Lactobacillus* son resistentes al medio ácido mientras que las bacterias perjudiciales, como el *Clostridium*, son sensibles a las condiciones ácidas.

### Inulina

La inulina es un carbohidrato de reserva presente en las raíces y tubérculos de una gran variedad de plantas comestibles, entre ellas se destacan las *Liliaceae* (ajo, cebolla, puerro, espárragos), *Asteraceae* (topinambur, achicoria), *Poaceae* (trigo) y *Musaceae* (plátano) (Van Loo *et al.*, 1995; A. Zuleta y Sambucetti, 2006).

Los fructanos del tipo inulina, están compuestos por D-fructosas unidas por enlaces  $\beta$  (2-1). El primer monómero de la cadena puede ser un residuo de D-glucosa o D-fructosa (Figura 4.1). Generalmente, los polisacáridos que tienen un grado de polimerización entre 10 y 12 son denominados inulina, mientras que la oligofruktosa, producida por hidrólisis parcial de la inulina, tiene un grado de polimerización de 4. La inulina, a la cual se le han eliminado los oligómeros de bajo peso molecular, se la denomina inulina de alto rendimiento o *high-performance* (HP) y tiene un grado de polimerización de 25 (Niness, 1999).

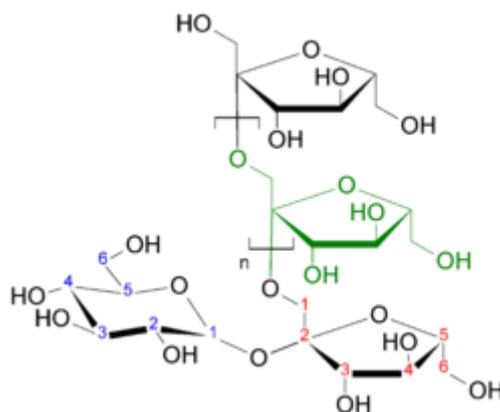


Figura 4.1. Estructura química simplificada de la inulina

Los enlaces  $\beta$  (2-1) previenen que la inulina sea digerida como un carbohidrato típico y que solo una enzima, la inulinasa, sea capaz de hidrolizarla, siendo los responsables del valor calórico reducido y de los efectos como fibra alimentaria en el tracto gastrointestinal humano; pasando por la boca, estómago e intestino delgado sin ser metabolizada (Pak, 2006).

En este sentido, la inulina puede ser utilizada como un ingrediente alimenticio de muy baja energía. Su contenido energético es solo el 40 – 50% respecto de los carbohidratos digeribles, con un contenido calórico de 1,0 – 2,0 Kcal/g (CAA).

Industrialmente, la inulina se extrae en agua caliente de la raíz de achicoria (*Cichorium intybus*) (A. Zuleta y Sambucetti, 2006), carece de sabor dulce pero por su capacidad de formar geles se usa como reemplazante de grasas en una gran variedad de productos (Roberfroid, 1999).

La inulina es un tipo de fibra soluble (Lunn y Buttriss, 2007) que puede ser incorporada en productos alimenticios con el objeto de modular funciones fisiológicas clave (Gibson *et al.*, 1995) como la absorción de calcio (Kaur y Gupta, 2002) o posiblemente el metabolismo lipídico, y finalmente podría tener un papel importante en la disminución del riesgo de padecer cáncer de colon (K. A. Meyer *et al.*, 2000). Asimismo, es un ingrediente apto para el desarrollo de productos para el control de peso (bajo valor calórico) debido a sus efectos hipoglucemiantes e hipoinsulinémicos, y además posee efectos prebióticos y saciantes (D. Meyer, 2007).

Como ya se señaló, la inulina, por sus características fisiológicas y propiedades físicas, tiene un comportamiento similar al de la fibra soluble, por lo tanto se la declara como tal. Cabe recordar que en los métodos enzimático-gravimétricos propuestos por AOAC para la determinación de fibra alimentaria, la fibra soluble se separa por insolubilización con alcohol al 78% v/v, que no precipita aquellos compuestos de menor peso molecular como la inulina y los fructooligosacáricos, de manera tal que no son cuantificados a través de esta metodología (Prosky y Hoebregs, 1999). Por lo tanto el contenido de inulina se puede determinar mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)(Zuleta y Sambucetti, 2001).

La inulina es ampliamente utilizada en todo el mundo con el propósito de incorporar fibra y como reemplazo de grasa, en productos alimenticios como quesos (Hennelly, Dunne, O'Sullivan, y O'Riordan, 2006), chocolate (Rezende, Benassi, Vissotto, Augusto, y Grossmann, 2015), helados (Tiwari, Sharma, Kumar, y Kaur, 2015), como también productos elaborados con harina como snacks (Colla y Gamlath, 2015) y muffins (Zahn, Pepke, y Rohm, 2010). Respecto de muchas otras fibras tiene la particularidad de no tener *flavour* y puede ser incorporada en los alimentos sin generar gran aumento de la viscosidad. Estas propiedades permiten la formulación de productos con alto contenido de fibra alimentaria con sabor y aspecto similar respecto a aquellos con formulaciones estándares, convirtiéndose en una forma “invisible” de aumentar el porcentaje de fibra de los alimentos.

En relación a los efectos adversos que pudiera generar el consumo elevado de inulina, Roberfroid y Delzenne (1998) publicaron que en un producto líquido, una sola dosis diaria de 10 g no causa síntomas de malestar intestinal, mientras que una sola dosis de 20 g puede producir malestar y con 30 g de dosis diaria única, probablemente se generan efectos adversos en gran parte de los individuos, con excepción de los que consumen altos niveles de fibra. Si las dosis se fraccionan en varias porciones durante el día, los síntomas se reducen y pueden desaparecer, aún con ingestas diarias de 20 – 30 g. Los productos líquidos que contienen fructanos es más probable que induzcan malestar intestinal, respecto de las formulaciones sólidas, y el riesgo se reduce si el alimento se consume como parte de una comida completa.

### **Fibra insoluble de avena**

La fibra insoluble es fundamental en la dieta para mantener las funciones colónicas saludables y reducir la constipación. Por esto, las fuentes de fibra insoluble, además del salvado de trigo, presentan hoy un marcado interés por parte de la industria para el desarrollo de nuevos productos. Tradicionalmente, la cáscara de avena era descartada durante el procesamiento, pero la necesidad de nuevas fuentes de fibra insoluble para el consumo humano, ha resultado

en la producción de fibra de cáscara de avena para uso en alimentación humana (Stephen, Dahl, Johns, y Englyst, 1997).

La fibra insoluble de avena contiene fundamentalmente lignina (~50%),  $\beta$ -glucanos (~25%) y arabinoxilanos (Shinnick, Longare, Ink, y Marlett, 1988). Los  $\beta$ -glucanos son un grupo de polímeros lineales de glucosa, unidos por enlaces  $\beta$  (1-4) en un 70% y  $\beta$  (1-3) el 30% restante. La lignina, el componente mayoritario de la fibra insoluble de avena, es un compuesto fenólico con una estructura muy compleja, relativamente hidrofóbico (Figura 4.2) (H. Liu *et al.*, 2007; Manthey, Hareland y Huseby, 1999).

La fibra insoluble de avena tiene asociada una alta capacidad de retención de agua que contribuye a incrementar el número de deposiciones (Manthey, Hareland y Huseby, 1999). Stephen *et al.* (1997) concluyeron que la fibra de avena entera tiene un efecto significativo en el tránsito intestinal, ya que recorre todo el tracto gastrointestinal sin ser digerida ni fermentada. Las fuentes de fibra insoluble que resisten la fermentación, como la avena, tienen beneficios en la salud de las personas que las incluyen en su dieta diaria ya que reducen la constipación, aunque existe aún controversia respecto de su efecto en el metabolismo de la glucosa (Kendall, Esfahani y Jenkins, 2010).

La fibra insoluble de avena es un agente aglutinante, que actúa transportando y absorbiendo componentes asociados a la fibra alimentaria y otros nutrientes (Kay, 1982). Sin embargo, el efecto del procesamiento en sus propiedades no ha sido estudiado suficientemente (Mälkki y Virtanen, 2001).

Gran parte de las investigaciones se han focalizado en fibra soluble de avena, debido a su elevada proporción de  $\beta$ -glucanos. Estos estudios han expuesto claramente los efectos en el metabolismo de la glucosa (Hallfrisch y Behall, 2000; Mälkki y Virtanen, 2001). Algunos trabajos hacen referencia a semillas de avena sin cáscara, las cuales tienen un bajo porcentaje de fibra alimentaria insoluble, y por lo tanto contienen una importante cantidad de  $\beta$ -glucanos (Hallfrisch y Behall, 2000). Por otro lado, muy pocos estudios se han concentrado en la fracción de fibra insoluble de avena.

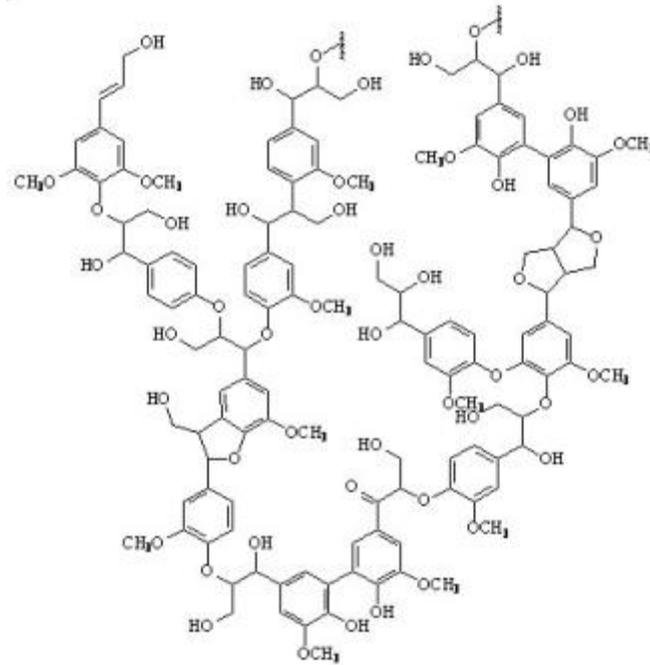


Figura 4.2. Estructura química simplificada de la lignina.

### Almidón resistente

El almidón es la mayor fuente de carbohidratos en la dieta, es el polisacárido de reserva más abundante en las plantas, y se encuentra en forma de gránulos en los cloroplastos de hojas verdes y en los amiloplastos de semillas y tubérculos (Tester, Karkalas y Qi, 2004).

Los gránulos de almidón contienen dos polímeros: la amilosa, polímero esencialmente lineal y la amilopectina, altamente ramificado. La primera, constituye el 20 al 30% del almidón y son cadenas lineales de unidades de  $\alpha$ -D-glucosas unidas por enlaces  $\alpha$ -(1-4) con escasos puntos de ramificación formados por enlaces  $\alpha$ -(1-6) (Shibanuma *et al.*, 1994). Las cadenas de amilosa pueden formar hélices simples o dobles, poseen un grado de polimerización (GP) entre 500-6000 unidades de glucosa (Shibanuma *et al.*, 1994).

La amilopectina, generalmente corresponde al 70-80% del almidón, siendo el 4 al 5% de los enlaces glucosídicos, puntos de ramificación. Cada 9 a 20 unidades de  $\alpha$ -D-glucosas unidas por enlaces  $\alpha$  (1-4) se presenta una ramificación por un enlace  $\alpha$  (1-6) (BeMiller y Whistler, 1996).

Recientemente, se ha reconocido a la digestión y a la absorción incompleta del almidón en el intestino delgado como un fenómeno normal, produciéndose un marcado interés en las fracciones no digeribles del almidón (Cummings *et al.*, 1996). Estas fracciones son llamadas “almidones resistentes” y diversos estudios han demostrado que su consumo genera efectos fisiológicos beneficiosos en la salud, de manera similar a la fibra alimentaria.

El almidón resistente (AR) se refiere a la porción de almidón y productos del almidón que resisten la digestión en el tracto gastrointestinal. El almidón resistente es un rango muy amplio y diverso de materiales y existen cuatro tipos de acuerdo a sus características físicas y químicas (Nugent, 2005):

- Tipo I: almidones físicamente inaccesibles para las enzimas digestivas, lo que explica la resistencia a la digestión de gránulos de almidón nativo. Por ejemplo: granos, semillas y tubérculos (Haralampu, 2000).
- Tipo II: almidones que se encuentran estructurados de manera tal que previenen que las enzimas digestivas puedan hidrolizarlos (Figura 4.3). Por ejemplo: papas crudas y bananas verdes.
- Tipo III: gránulos de almidón que han formado nuevos cristales resistentes a la digestión luego de haber sufrido una desorganización en su estructura debido a un calentamiento en un exceso de agua (gelatinización) (Haralampu, 2000; Holm *et al.*, 1988). Este tipo de condiciones se dan frecuentemente durante el procesado de los alimentos luego de enfriar un producto que previamente ha sido calentado, dando lugar a lo que se denomina almidón retrogradado. Estas formas de almidón se encuentran en pequeñas cantidades en alimentos tales como “*corn-flakes*”, papas cocidas y enfriadas, tales como las usadas en las ensaladas.
- Tipo IV: almidones modificados químicamente por eterificación, esterificación y entrecruzamiento, con enlaces que no pueden ser reconocidos por las enzimas digestivas (Figura 4.3).

El almidón resistente no es un componente de la pared celular de los vegetales como el resto de la fibra alimentaria, sin embargo, es nutricionalmente más parecido a los polisacáridos no amiláceos en relación con el almidón digerible. En los últimos años, el almidón resistente ha sido considerado un nuevo ingrediente en la formulación de alimentos enriquecidos en fibra alimentaria.

Al escapar de la digestión en el intestino delgado, el almidón resistente puede interactuar con otros componentes en tracto gastrointestinal. Es fermentado en el colon resultando en la producción de dióxido de carbono, metano, hidrógeno, ácidos orgánicos y AGCC (Brouns, Kettlitz y Arrigoni, 2002). Diversos estudios han demostrado que los efectos del almidón resistente son mediados por la producción de AGCC a nivel del colon, más que al efecto espesante de este tipo de fibra alimentaria (Cummings *et al.*, 1996; Nugent, 2005).

El consumo de fibra soluble otorga beneficios a nivel de la salud cardiovascular, influyendo en el metabolismo de lípidos y glucosa. El almidón resistente tiene algunas

propiedades en común con la fibra alimentaria soluble desde el momento en que es levemente digerida en el intestino delgado y altamente fermentable a nivel de colon. Sin embargo, a diferencia de la fibra soluble, la fracción de almidón resistente que llega al colon no es viscosa, y por ello puede ser fácilmente incorporada en la formulación de diversos alimentos a base de almidón, por considerarse con mejores propiedades de palatabilidad (Brown, 2004). Un número significativo de estudios se han focalizado en los efectos del almidón resistente sobre los metabolismos de lípidos y glucosa, el gasto energético y la oxidación de macronutrientes (Annison and Topping, 1994; Nugent, 2005).

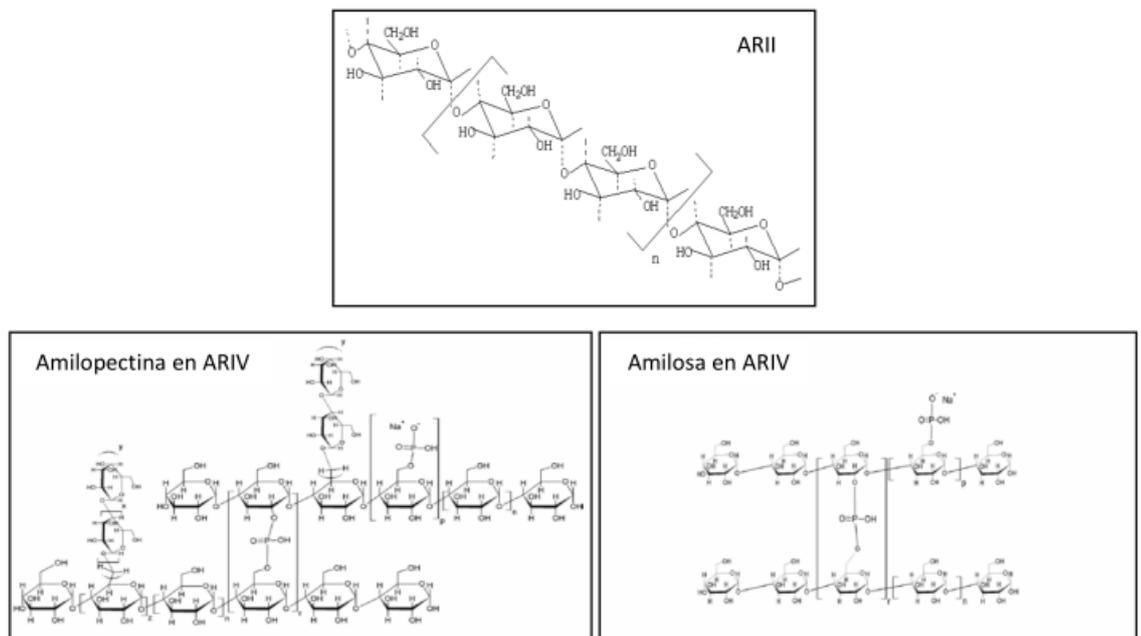


Figura 4.3. Estructura química de almidón resistente tipo II y IV.

La incorporación de fibra en las matrices alimentarias produce alteraciones en sus estructuras y propiedades que pueden afectar los procesos productivos y la calidad de los productos. Particularmente, las galletitas dulces presentan una estructura muy compleja, en la que cada ingrediente de la formulación juega un rol fundamental. A pesar de estar en baja concentración, el agua tiene una función compleja, ya que afecta la naturaleza de las interacciones entre los ingredientes, determina el estado conformacional de los polímeros y contribuye a la estructura de la masa, modificando su comportamiento reológico (Maache-Rezzoug *et al.*, 1998).

Tanto el tipo de fibra utilizada como el nivel de incorporación, son parámetros tecnológicamente y nutricionalmente críticos y deben ser evaluados. Desde un punto de vista práctico, estos parámetros dependen de las dificultades que pueda introducir la fibra durante el

procesamiento y del efecto de la fibra sobre las cualidades sensoriales de los productos enriquecidos.

Las propiedades de las fibras alimentarias dependen de ciertos parámetros, entre los que se destacan, el tamaño de partícula y las propiedades de hidratación. Fuentes (1998) señaló que el tamaño ideal de partículas de fibra para consumo humano se ubica en un rango de 50 a 500  $\mu\text{m}$ ; tamaños mayores pueden afectar la apariencia del producto e impartir una sensación fibrosa, dificultando la masticación y deglución, mientras que tamaños menores pueden presentar problemas en la hidratación al favorecerse la formación de grumos, ocasionar apelmazamiento y por lo tanto compresión del producto. Por otro lado, de las propiedades de hidratación de las fibras depende su efecto fisiológico y máximo nivel de incorporación a un alimento (Zambrano *et al.*, 1998), ya que afecta la viscosidad de los productos, modificando su procesamiento.

En base a esto, el objetivo de este capítulo fue incorporar fibras alimentarias con diferentes características en la formulación de las galletitas dulces, sin modificar apreciablemente los parámetros productivos y la calidad del producto final.

## Procedimiento experimental

En este capítulo, inicialmente se caracterizaron las cuatro fibras, como también la harina utilizada para la elaboración de las masas. Se evaluó el efecto de la incorporación de las cuatro fibras (en dos niveles) sobre las propiedades reológicas, el comportamiento térmico de las masas y la movilidad del agua y los cambios en las piezas durante el proceso de horneado. Luego, se determinaron los efectos de las fibras sobre la calidad de la galletita horneada. Finalmente, se realizó un análisis sensorial descriptivo y de preferencia con todas las muestras estudiadas.

Para la elaboración de las galletitas, se utilizó una harina comercial (proteínas=10,4%, humedad=11,9%, cenizas= 0,62%, gluten= 23,4%, W=260, P=130, L=45, FN=545 s).

Se trabajó con cuatro tipos de fibras alimentarias. Las fibras utilizadas en la formulación de galletitas fueron: almidón de maíz alto en amilosa (ARII) (Hi maize® National Starch, EUA), fosfato de dialmidón fosfatado (ARIV) (Novelose® National Starch, EUA), fibra insoluble de avena (FA) (Canadian Harvest, Oat Fibers 200/58, Sunopta, EUA) e inulina (IN) (Orafti Food Ingredients, Belgium), con un grado de polimerización mayor a 23. También se analizó almidón de trigo sin modificar (S5127 Sigma-Aldrich número de CAS 9005-25-8).

### **Caracterización de las fibras**

Se determinaron las propiedades de hidratación, la ultraestructura mediante SEM y la distribución del tamaño de partícula de las muestras de fibra y la harina secas e hidratadas, según se indicó en el Capítulo 2.

Las propiedades de viscosidad de las mezclas de harina y fibra se determinaron según se describió en el Capítulo 2. Además, para conocer el comportamiento de las mezclas en presencia de azúcar, se llevaron a cabo ensayos utilizando una solución de sacarosa al 50%, en lugar de agua como solvente.

### **Elaboración de masas y galletas**

Las masas se elaboraron según la metodología descrita en el Capítulo 2. Todas las fibras alimentarias fueron incorporadas en dos niveles: 6 y 12 g (en sustitución de harina), correspondiente a 6 y 12% del total de los ingredientes secos de la formulación, por lo que se utilizó 39 y 33 g, en lugar de 45 g de harina, respectivamente. El porcentaje de agua utilizado en todas las formulaciones fue 8,5% del total de los ingredientes secos.

### **Evaluación de las masas**

Se estudió la microestructura de las masas con el máximo nivel de incorporación de fibra mediante microscopía confocal (Capítulo 2).

Se realizaron mediciones de RMN según la metodología descrita en el Capítulo 2. Solo se estudiaron las masas y galletitas con 12% de incorporación de fibra.

El comportamiento térmico de las masas elaboradas con incorporación de las fibras se evaluó mediante análisis termo-gravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC) como se mencionó en el Capítulo 2.

Las masas se caracterizaron reológicamente mediante ensayos de fluencia y de viscoelasticidad, como también el comportamiento durante el horneado (Capítulo 2).

### **Evaluación de la calidad de galletitas**

La evaluación de la calidad de las galletitas con incorporación de fibra alimentaria, se llevó a cabo mediante la determinación del factor galletita, el color superficial, el análisis de la textura y la estructura superficial, según la metodología descrita en el Capítulo 2.

Se determinó el contenido de fibra alimentaria total de las fibras y la harina. Al ser la inulina una fibra soluble, su contenido se determinó mediante HPLC (Capítulo 2).

### **Evaluación sensorial**

Los ensayos sensoriales descriptivo y de preferencia fueron realizados por un panel de 16 jueces semientrenados (4 hombres y 12 mujeres) del Laboratorio de Química Biológica (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba) según se describió en el Capítulo 2. Con el objetivo de no saturar el paladar de los evaluadores, las muestras se separaron en dos tandas: 6% fueron evaluadas un día y 12% otro día.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó según se describió en el Capítulo 2.

## Resultados y discusión

### Caracterización de harina y fibras

#### Propiedades de hidratación de las fibras

Se analizaron las propiedades de hidratación de las fibras. La capacidad de retención de agua se cuantifica como los gramos de agua que son retenidos por cada gramo de muestra seca, luego de hidratarlas, mientras que la fracción soluble en agua es el porcentaje en gramos de cada muestra que se solubilizó en agua. En la Figura 4.4 se reportan los valores observados de estos dos parámetros. Se observó que la inulina y la fibra de avena retienen 2 y 1,35% más agua que la harina de trigo. Los almidones resistentes tipo II y tipo IV presentaron valores similares a los del almidón nativo comercial y la harina. Con respecto a la solubilidad de las muestras, el mayor valor observado fue de inulina (casi ocho veces más que la harina de trigo), seguida por la harina de trigo. El resto de las muestras presentaron valores aún inferiores.

A partir de estos ensayos quedó en evidencia que la inulina presentó alta solubilidad en agua. Ha sido informado que la fracción insoluble de la inulina tiene la capacidad de formar microcristales en soluciones acuosas (pero no en estado anhidro). La estructura de estos cristales fueron estudiadas detalladamente por (André *et al.*, 1996; André, Mazeau y Tvaroska, 1996), quienes determinaron que la inulina en solución acuosa se puede observar en dos estados polimórficos: hidratada y semihidratada, dependiendo de las condiciones de hidratación del cristal. La principal diferencia entre esta dos conformaciones radica en la cantidad de moléculas de agua por celda: la forma hidratada presenta 12 moléculas de agua (una por cada residuo fructosil, es decir que es mono-hidratada) mientras que la semi-hidratada contiene seis moléculas de agua (una cada dos residuos fructosil, por lo que es hemi-hidratada). Cuando estos cristales se unen en una red forman un gel cuyas propiedades reológicas difiere mucho de otros polisacáridos y más bien se asimila a la estructura de una red de cristales de grasa en aceite. Es por esto que la inulina ha sido utilizada como ingrediente para sustituir grasa en ciertos alimentos (Bot *et al.*, 2004; Teeuwen, Thone y Vandorpe, 1992).

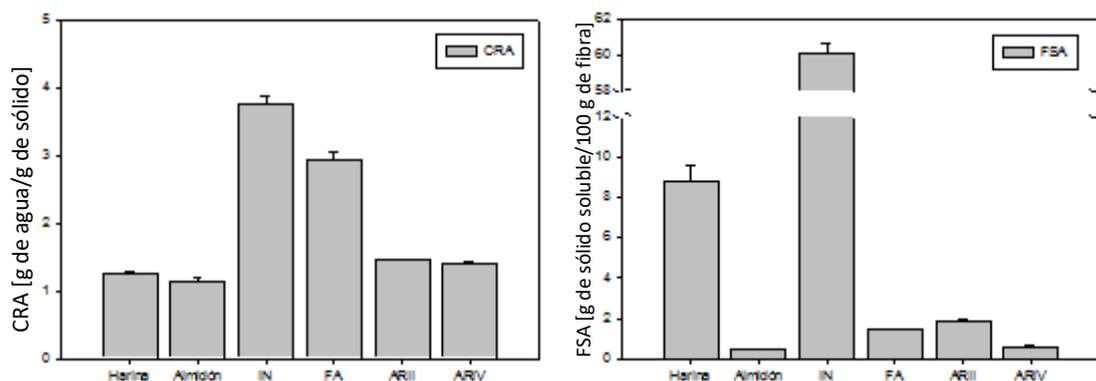


Figura 4.4. Capacidad de retención de agua (CRA) y fracción soluble en agua (FSA) de la harina de trigo, almidón de trigo, inulina (IN), fibra de avena (FA), almidón resistente tipo II (ARII) y almidón resistente tipo IV (ARIV).

### Microscopía electrónica de barrido

A partir de las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido (Figura 4.5), se pudo conocer la forma y disposición de cada una de las muestras de fibra alimentaria como también de la harina comercial utilizada en la formulación de las galletitas. En la microfotografía de harina de trigo se observa la formación de agregados de partículas de diversos tamaños que se distribuyen de manera relativamente heterogénea. En la imagen de la inulina se observaron partículas de aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ , formando pequeños agregados con una distribución espacial homogénea. La fibra de avena presentó partículas de formas irregulares y escamosas, donde se pueden distinguir grandes trozos entre otros más pequeños, y una agregación heterogénea. Ambos almidones resistentes mostraron forma esférica con un diámetro de partícula de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$ . ARII presentó una distribución más homogénea que ARIV y en la imagen de esta última fibra se pueden ver grandes agregados de partículas (Figura 4.5).

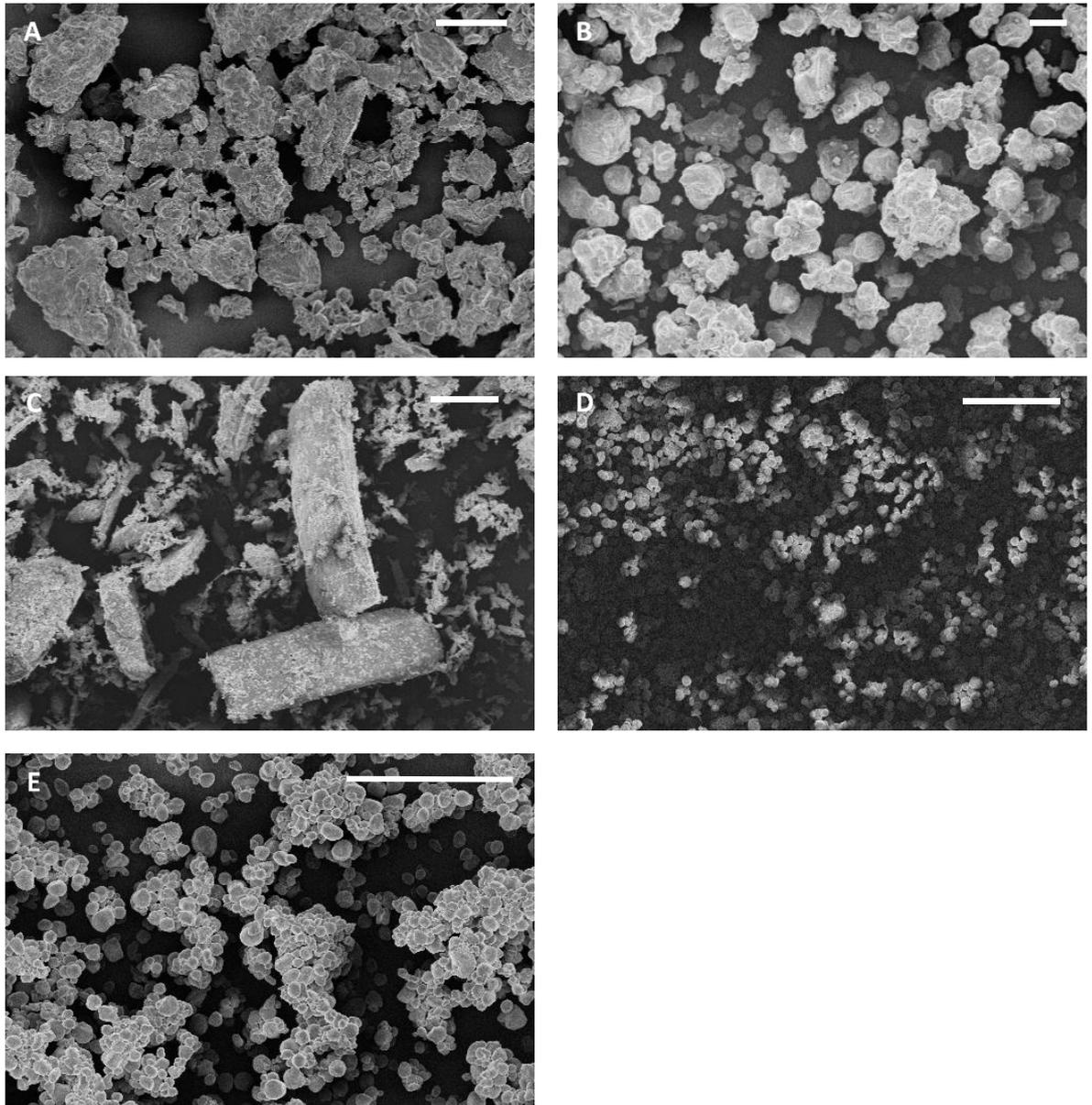


Figura 4.5. Imágenes obtenidas a partir de microscopía electrónica de barrido de: A: Harina de trigo; B: Inulina; C: Fibra de avena; D: Almidón resistente tipo II; E: Almidón resistente tipo IV. Barra= 100  $\mu\text{m}$ .

#### Tamaño de partícula

La distribución del tamaño de las partículas de las muestras fue determinado mediante difracción láser. Esta técnica mide las distribuciones de tamaño de partícula a partir de la variación angular de la intensidad de la luz dispersada cuando un rayo láser pasa a través de una muestra de partículas dispersas. Las partículas grandes dispersan la luz en ángulos pequeños en relación con el rayo láser, y las partículas pequeñas dispersan la luz en ángulos grandes. Luego, se analizan los datos de la intensidad de dispersión angular para calcular el tamaño de las partículas responsables de crear el patrón de dispersión, utilizando la teoría Mie de la dispersión

de luz (Mie, 1908). El tamaño de partícula se registra como un diámetro de esfera equivalente al volumen.

La Figura 4.6 muestra la distribución del tamaño de las partículas secas e hidratadas de las fibras alimentarias y de la harina utilizada en la formulación. Con respecto a las muestras secas, confirmando lo observado en las imágenes de SEM, la harina de trigo presenta una distribución bimodal, con un rango entre 10 y 110  $\mu\text{m}$  y los picos alrededor de 26  $\mu\text{m}$  y 55  $\mu\text{m}$ , que se superponen en gran parte. Estos tamaños de partícula corresponden a gránulos de almidón y a fracciones de endospermo, respectivamente. La inulina presentó una distribución homogénea, con un solo pico alrededor de 187  $\mu\text{m}$  y un rango de distribución entre 30 y 100  $\mu\text{m}$ . Las partículas de fibra de avena, tal como se observó en las microfotografías, presentaron una distribución bimodal con un pico de  $\sim 14$   $\mu\text{m}$  y otro más ancho con su máximo en  $\sim 150$   $\mu\text{m}$ , en un amplio rango entre 5 y 300  $\mu\text{m}$ . Los picos corresponden a las escamas y los agregados de fibras que se observaron en las imágenes de SEM. Ambos almidones resistentes presentaron dos picos y las partículas se observaron entre 50 y 300  $\mu\text{m}$ , pero la forma de las curvas fue muy distinta. ARII presentó un pico de  $\sim 14$   $\mu\text{m}$  y otro más pequeño de  $\sim 230$   $\mu\text{m}$ , mientras que ARIV mostró dos picos solapados, a  $\sim 23$  y  $\sim 50$   $\mu\text{m}$  (que se ve como un pequeño hombro del primero) y luego un pico alrededor de 250  $\mu\text{m}$ . Los últimos picos de ambos almidones corresponden a los agregados de partículas que se vieron en las imágenes de SEM.

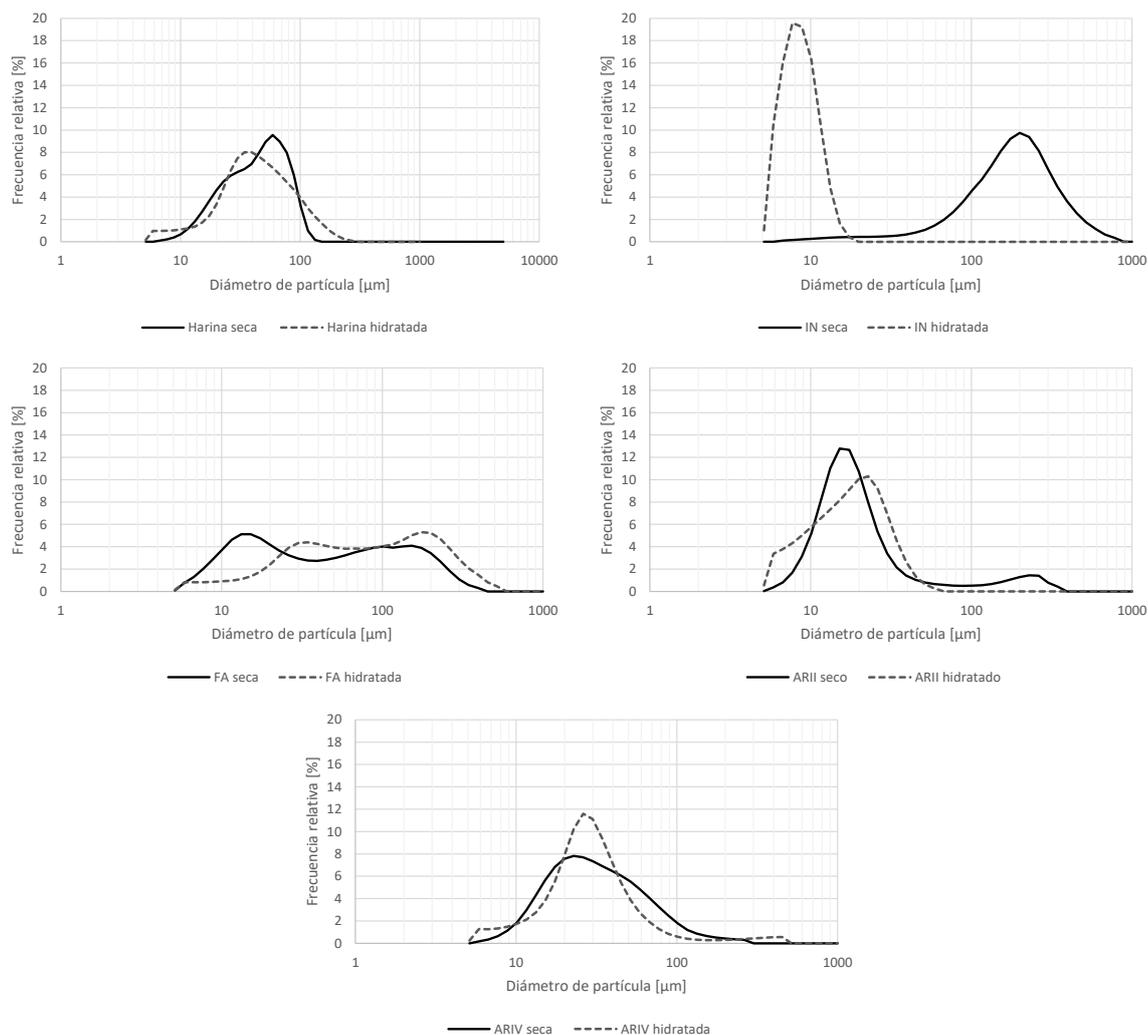


Figura 4.6. Distribución de tamaño de partícula de las muestras secas e hidratadas de harina de trigo y de las fibras. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV.

Dado que la solubilidad y la capacidad de retención de agua de las fibras y harina utilizadas en la formulación fueron muy diferentes entre sí, para nuestro estudio fue muy importante conocer el comportamiento de estos ingredientes en presencia de agua. Por este motivo, se determinó la distribución del tamaño de las partículas de las fibras y de la harina en una suspensión de solución acuosa (Figura 4.6, líneas discontinuas). La harina de trigo en estas condiciones presentó una sola curva ancha, con su máximo alrededor de 39  $\mu\text{m}$ . A diferencia de la curva de la harina no hidratada (que presentó una distribución del diámetro de partículas que va desde  $\sim 5$  hasta  $\sim 400$   $\mu\text{m}$ , en el caso de harina hidratada, el tamaño de las partículas osciló entre  $\sim 5$  y 200. Esto indica que las partículas más grandes son las más solubles en agua y por lo tanto no se detectaron en la muestra en suspensión. La inulina en solución presentó una curva

muy diferente a la de inulina seca, donde se vio un solo pico en el rango de  $\sim 5$  a  $\sim 20$   $\mu\text{m}$  y con su máximo en  $\sim 7,67$   $\mu\text{m}$ . Si bien esta fibra presentó una solubilidad del 60% y es probable que las moléculas más grandes sean las más solubles (como en el caso de la harina de trigo), esto no es suficiente para explicar este fenómeno. Como se mencionó anteriormente, la inulina en solución tiene la capacidad de formar microcristales cuyo diámetro es menor al de la molécula extendida (André *et al.* 1996; André, Mazeau Tvaroska 1996). Estos resultados concuerdan con lo informado por Cooper y Carter (1986), quienes afirmaron que la inulina normalmente cristaliza en agua tomando forma ovoide con diámetros entre 1 a 10  $\mu\text{m}$  (P. D. Cooper, Steeley Algammulin 1991).

En el caso de la fibra de avena, la distribución en solución fue similar a la fibra seca, pero mostró mayor proporción de partículas de mayores tamaños. Presentó una forma bimodal, con un ancho de curva de 5 a 500  $\mu\text{m}$  y picos alrededor de 30  $\mu\text{m}$  y 150  $\mu\text{m}$ . Esta similitud se debe a la menor respuesta de la fibra de avena en presencia de agua, con respecto a la harina de trigo y a las otras muestras. Las curvas de ARII y ARIV presentaron curvas muy semejantes entre sí, con un solo pico alrededor de 25  $\mu\text{m}$  y un ancho que oscila entre 5 y 80  $\mu\text{m}$ . La diferencia entre estas curvas y las de las muestras anhidras se debe a que cuando la muestra es suspendida, los aglomerados se desintegran y solo quedan gránulos individuales que se hidratan y se hinchan.

A partir de este ensayo quedó claro que la hidratación de las fibras cambia su tamaño y distribución, por lo que se espera que el comportamiento de la harina se vea modificado por la presencia de fibra.

#### Análisis de la viscosidad de harina y fibras alimentarias

Con el objetivo de evaluar el efecto de la incorporación de fibra sobre el perfil de *pasting* de la harina, se realizaron mezclas de harina con fibra y agua y se midió su viscosidad con un equipo RVA (Rapid Visco Analyser). Este equipo permite analizar el comportamiento de una pasta en un ciclo de enfriamiento/calentamiento, registrando la viscosidad de la solución. La pasta formada por la mezcla de harina y agua, luego del calentamiento se considera un material compuesto, en el que una fase continua (que consta principalmente de una red de amilosa y proteínas dispersas) se entremezcla con partículas (gránulos hinchados de almidón). Las características de este sistema dependen de numerosos factores, incluyendo las propiedades reológicas de la fase continua, la fracción del volumen y la deformabilidad de las partículas, y las interacciones entre la fase dispersa y continua (Copeland *et al.*, 2009; Fustier, Castaigne, Turgeon, y Biliaderis, 2009).

En la Figura 4.7 y la Tabla 4.II se muestra el efecto de la adición de fibra al perfil de viscosidad. El remplazo de harina por fibra alimentaria afectó las propiedades de *pasting* de la harina de trigo. En todas las muestras analizadas se observó una disminución de la viscosidad durante todo el proceso y en todos los casos, esta disminución resultó proporcional al nivel de reemplazo. Los parámetros de viscosidad (PV, VF, BD, SB y VM) disminuyeron significativamente con la incorporación de fibra. Estos cambios se deben a que hay una menor cantidad de gránulos de almidón para la gelatinización. Por otro lado, las fibras retienen más agua que la harina de trigo, por lo tanto hay una reducción del agua disponible, lo que dificultaría el hinchamiento de los gránulos de almidón (Parra Rocha, Ribotta y Ferrero 2015; Symons and Brennan 2004). Esto explicaría la disminución que se observó en el pico de viscosidad de las mezclas. La temperatura de pico aumentó significativamente con la incorporación 12% de todas las fibras y en el caso de IN y ARII también con el 6%. Por otro lado, el tiempo de pico disminuyó con la incorporación de las fibras, siendo significativo solo en las muestras FA12, ARII12 y ARIV12. Se observó una correlación negativa ( $r = -0,7$ ;  $p = 0,04$ ) entre el tiempo y la temperatura de pico, lo que indica que cuando se incorporan las fibras, el pico se produce a mayor temperatura pero en menor tiempo. El retraso en el aumento de la viscosidad de las mezclas puede ser importante para las propiedades de expansión de la masa de las galletitas durante el horneado, ya que se relaciona con el tiempo de fijación de la estructura durante la cocción.

La viscosidad de pico está relacionada a la capacidad del almidón de ligar agua. A pesar que la inulina y la fibra de avena retienen más agua que la harina de trigo, el mayor valor de este parámetro fue para la HT (2901 cp), ya que es la que presenta mayor proporción de almidón. En todas las otras muestras, los valores de VP fueron significativamente menores. Las mezclas de 6% de fibra presentaron valores desde 1915 cp (ARII6) hasta 2340 cp (ARIV6) y las mezclas de 12% oscilaron entre 1108 cp (ARII12) hasta 1641 cp (IN12).

La viscosidad media es una medida de la estabilidad de la pasta. Al igual que el resto de los parámetros, se relaciona con las propiedades del almidón, por lo que el mayor valor observado fue el de HT (1820 cp). Las muestras con incorporación de 6% de fibras oscilaron entre 1164 cp (ARII6) y 1438 cp (ARIV6), mientras que las de 12% lo hicieron entre 721 cp (ARII12) y 1144 cp (IN12).

Mientras mayor es el valor de BD, menor será la resistencia. Nuevamente, el mayor valor obtenido fue el de HT (1080 cp), ya que fibras disminuyeron progresivamente este parámetro. Los valores resultaron entre 683 cp (IN6) y 912 cp (FA6) para las muestras con 6% de fibra, y entre 387 cp (ARII12) y 497 cp (IN12) para las muestras con 12%. El valor BD se relaciona con la resistencia de los gránulos de almidón, por lo que estos resultados coinciden con lo esperado.

Con respecto a la viscosidad final (VF), que es la que se registra luego del enfriamiento, la HT presentó el mayor valor (3382 cp), mientras que la incorporación de fibras redujo el valor de este parámetro.

Los cambios en la viscosidad de las pastas registrados durante el proceso se relacionan a la acción diluyente de las fibras sobre el almidón de la harina. La inulina fue la fibra que produjo el mayor PV.

Cabe destacar que el reemplazo de harina por ARII y ARIV también resultó en una disminución del perfil de viscosidad. Si bien estas fibras son almidones, éstos se caracterizan por no presentar hinchamiento ni gelatinización significativas a estas temperaturas bajo las condiciones de este ensayo y no presentan el efecto espesante característico del almidón nativo (Cummings *et al.*, 1996; Nugent, 2005; Ratnayake y Jackson, 2008).

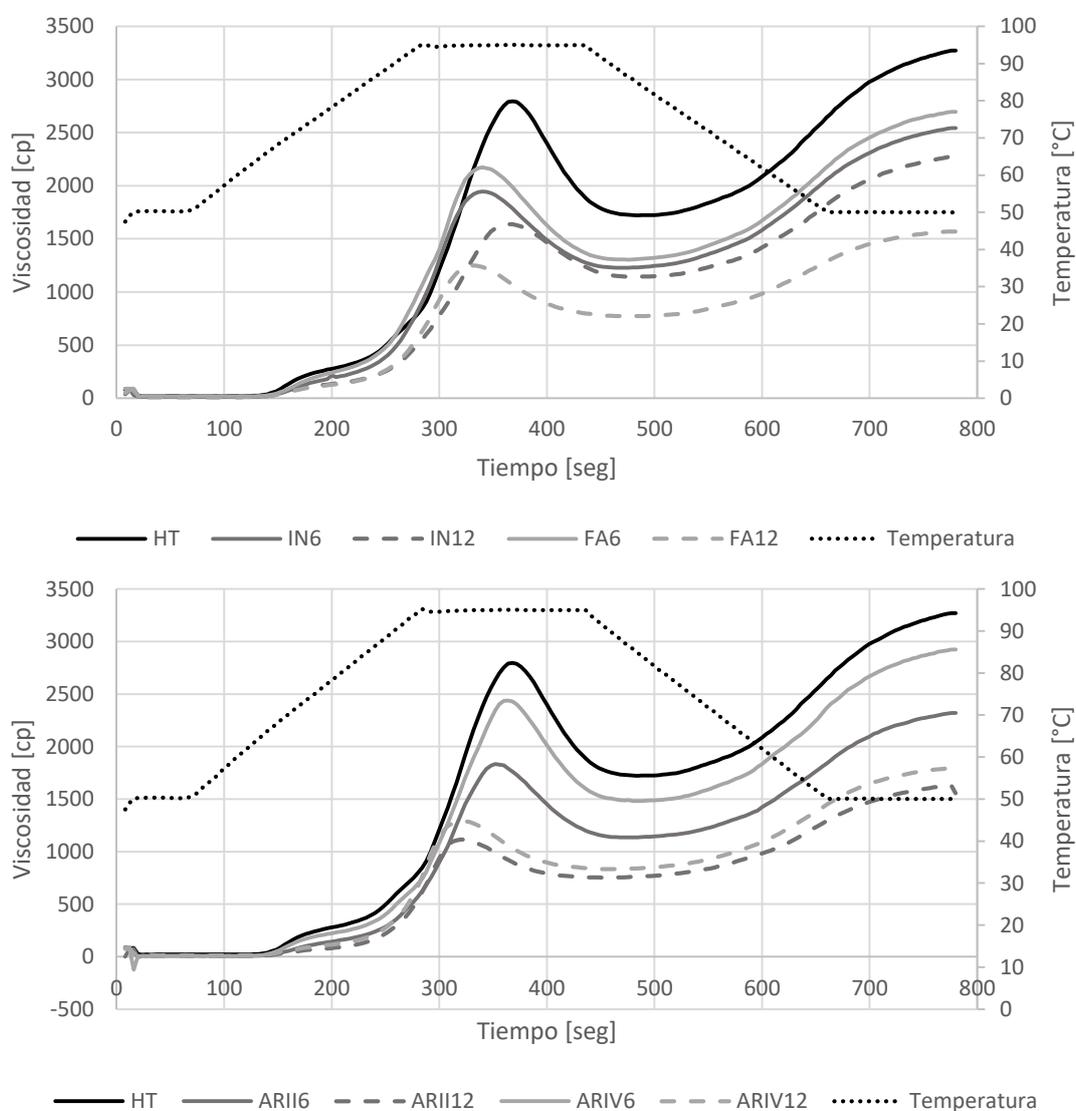


Figura 4.7. Curvas de viscosidad de harina de trigo (HT) y muestras con incorporación de 6 y 12% de fibra alimentaria. IN: inulina; FA: fibra de avena; ARII: Almidón resistente tipo II; ARIV: Almidón resistente tipo IV. 6 y 12 se refieren a las muestras con 6% y 12% de incorporación de fibra.

Tabla 4.II. Valores de las propiedades de *pasting* de harina de trigo y muestras con incorporación de 6 y 12% de fibra alimentaria. C: Control; IN: inulina; FA: fibra de avena; ARII: Almidón resistente tipo II; ARIV: Almidón resistente tipo IV. 6 y 12 se refieren al porcentaje de incorporación de fibra.

Muestra	Pico de viscosidad [cp]	Viscosidad media [cp]	Breakdown [cp]	Viscosidad final [cp]	Setback [cp]	T° de pico [°C]	Tiempo de pico [min]
HT	2901 ± 35 <sup>a</sup>	1820 ± 25 <sup>a</sup>	1081 ± 60 <sup>a</sup>	3382 ± 28 <sup>a</sup>	1562 ± 53 <sup>a</sup>	67,8 ± 0,0 <sup>c</sup>	6,23 ± 0,05 <sup>a</sup>
IN6	2000 ± 394 <sup>bc</sup>	1317 ± 234 <sup>bcd</sup>	683 ± 160 <sup>c</sup>	2616 ± 315 <sup>bcd</sup>	1300 ± 81 <sup>bc</sup>	73 ± 6 <sup>ab</sup>	6,10 ± 0,05 <sup>ab</sup>
IN12	1641 ± 12 <sup>cd</sup>	1144 ± 1 <sup>d</sup>	497 ± 11 <sup>d</sup>	2274 ± 5 <sup>de</sup>	1130 ± 4 <sup>cd</sup>	87,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	5,9 ± 0,3 <sup>a</sup>
FA6	2327 ± 217 <sup>b</sup>	1415 ± 156 <sup>bc</sup>	912 ± 61 <sup>b</sup>	2825 ± 182 <sup>bc</sup>	1411 ± 26 <sup>ab</sup>	69 ± 1 <sup>bc</sup>	5,9 ± 0,3 <sup>ab</sup>
FA12	1238 ± 159 <sup>de</sup>	745 ± 98 <sup>e</sup>	493 ± 62 <sup>d</sup>	1521 ± 178 <sup>f</sup>	776 ± 81 <sup>f</sup>	88 ± 2 <sup>a</sup>	5,6 ± 0,2 <sup>b</sup>
ARII6	1915 ± 206 <sup>c</sup>	1164 ± 153 <sup>cd</sup>	751 ± 52 <sup>bc</sup>	2418 ± 379 <sup>cd</sup>	1255 ± 226 <sup>bcd</sup>	85 ± 2 <sup>a</sup>	5,8 ± 0,2 <sup>ab</sup>
ARII12	1108 ± 45 <sup>e</sup>	721 ± 79 <sup>e</sup>	387 ± 34 <sup>d</sup>	1557 ± 202 <sup>f</sup>	836 ± 122 <sup>ef</sup>	86,7 ± 0,5 <sup>a</sup>	5,43 ± 0,05 <sup>b</sup>
ARIV6	2340 ± 139 <sup>b</sup>	1438 ± 61 <sup>b</sup>	902 ± 78 <sup>b</sup>	2923 ± 2 <sup>ab</sup>	1485 ± 59 <sup>ab</sup>	67,8 ± 0,0 <sup>c</sup>	5,8 ± 0,4 <sup>ab</sup>
ARIV12	1327 ± 76 <sup>de</sup>	854 ± 76 <sup>e</sup>	473 ± 0 <sup>d</sup>	1898 ± 190 <sup>ef</sup>	1044 ± 115 <sup>de</sup>	86 ± 1 <sup>a</sup>	5,5 ± 0,1 <sup>b</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

La formulación de las galletitas dista mucho del sistema harina/fibra+agua evaluado mediante RVA. El azúcar es el segundo ingrediente mayoritario, luego de la harina de trigo, y su presencia limita la disponibilidad del agua para hidratar otras partículas, ya que actúa como antiplastificante de polímeros (comparada con el agua sola) cuando se encuentra en una concentración elevada. Como se mencionó en el Capítulo anterior, el azúcar previene el desarrollo de gluten y la gelatinización del almidón (L Slade y Levine, 1994).

Kweon *et al.* (2009) estudiaron los efectos de diferentes azúcares en masa de galletitas dulces. Con el objetivo de simular este sistema en RVA, reemplazaron el agua por soluciones de azúcar al 50%. Si bien la masa de galletitas es aún más compleja, el sistema generado por estos autores puede aportar conocimiento al comportamiento de las fibras en el sistema. Para conocer cómo se modifica el comportamiento de la harina con la incorporación de fibras, se llevaron a cabo ensayos de HT y de las mezclas con fibras al 6 y 12% en una solución de sacarosa 50%. En la Figura 4.8 se muestra el perfil de viscosidad de HT y de las mezclas al 12% para hacer más clara la lectura del gráfico (las mezclas al 6% se muestran en el Anexo II). La forma general de las curvas difiere mucho de las curvas obtenidas utilizando agua sola como solvente. En este caso, la viscosidad de las mezclas comienza a aumentar alrededor de los 280 segundos de comenzado el ensayo, cuando la temperatura ya llegó al máximo (95 °C). A partir de ese momento, se produce un pronunciado incremento en la viscosidad de las mezclas, hasta que la temperatura comienza a bajar nuevamente y la pendiente de la viscosidad disminuye. Alrededor de los 600 segundos se vuelve a producir un pequeño incremento de esta pendiente y llega a la viscosidad máxima. Estos resultados coinciden con los observados por Kweon *et al.* (2009), quienes obtuvieron curvas con la misma forma general. A partir de estas curvas se obtuvieron dos parámetros: viscosidad de pico (considerada como la máxima viscosidad a la que llega la mezcla durante el calentamiento) y viscosidad final (Figura 4.9).

En la Figura 4.8 se observa que la incorporación de todas las fibras disminuyó la viscosidad de la HT, sin cambiar sustancialmente la forma general de la curva. La fibra que menor viscosidad presentó fue la IN, seguida de ARIV y luego ARII y FA (que no mostraron diferencias entre sí). Este comportamiento diferente que presenta la inulina está relacionado con la particular conformación molecular de la inulina que le otorga la capacidad de formar geles bajo ciertas condiciones. Kim, Faqih y Wang (2001) realizaron un exhaustivo trabajo en el que estudiaron los factores que afectan la formación de geles de este polisacárido. Observaron que este fenómeno se produce bajo dos condiciones: cuando una mezcla de inulina y agua es sometida a un esfuerzo de cizalla o cuando la mezcla se calienta. En el ensayo tradicional de RVA (Figura 4.7) se dan estas dos condiciones juntas, es decir que se agita la muestra a medida que se calienta. A partir de los resultados obtenidos, se puede afirmar que las mezclas de

harina+inulina y agua presentan mayores parámetros de viscosidad que el resto de las muestras porque la inulina forma un gel.

En la Figura 4.9 se comparan los valores de viscosidad de pico y viscosidad final de todas las mezclas analizadas. Se puede observar que la HT presentó viscosidades significativamente mayores al resto de las muestras y que la inulina presentó los menores valores. Es importante destacar que la tendencia de las viscosidades de pico fue inversa a las observadas en los ensayos en los que se utilizó agua como solvente y las mayores diferencias se vieron con la inulina, donde la disminución de la viscosidad fue drástica. Además la diferencia entre la HT y las muestras con fibra fue mayor en el ensayo con la solución de sacarosa. Esto evidencia una gran competencia entre la harina y las fibras por el agua, ya que la solución de sacarosa deja menor cantidad de agua disponible para la hidratación del almidón. Como se mencionó anteriormente, la inulina presenta una alta solubilidad en agua, mucho mayor que el resto de las fibras y que la harina de trigo. Sin embargo, tal como ocurre con el azúcar, la solución formada por la sacarosa, la inulina y el agua disminuye drásticamente la disponibilidad del agua para la gelatinización del almidón y por lo tanto la viscosidad de la mezcla.

La viscosidad final resultó ser alrededor de 30% más alta que la viscosidad de pico. En comparación con los perfiles en los que se utilizó agua como solvente, la solución de sacarosa incrementó la temperatura de pasting alrededor de 15 °C en todas las muestras, es decir que se produce un retardo de la gelatinización del almidón. Estos resultados coinciden con lo informado por Kweon *et al.* (2009) y L Slade and Levine (1994). Las únicas muestras que presentaron diferencias con el control (92,43 °C) fueron IN12 (94,5 °C) ARII12 (93,70 °C), ARIV6 (93,68 °C) y ARIV12 (93, 68 °C).

La inulina mostró un comportamiento diferente al resto de las fibras. Esto se relacionó con la capacidad que presenta la inulina de formar microcristales cuando se encuentra en solución. Estas estructuras atrapan el agua en su interior, dejando menor cantidad de agua disponible para que se produzca la gelatinización del almidón de la harina de trigo.

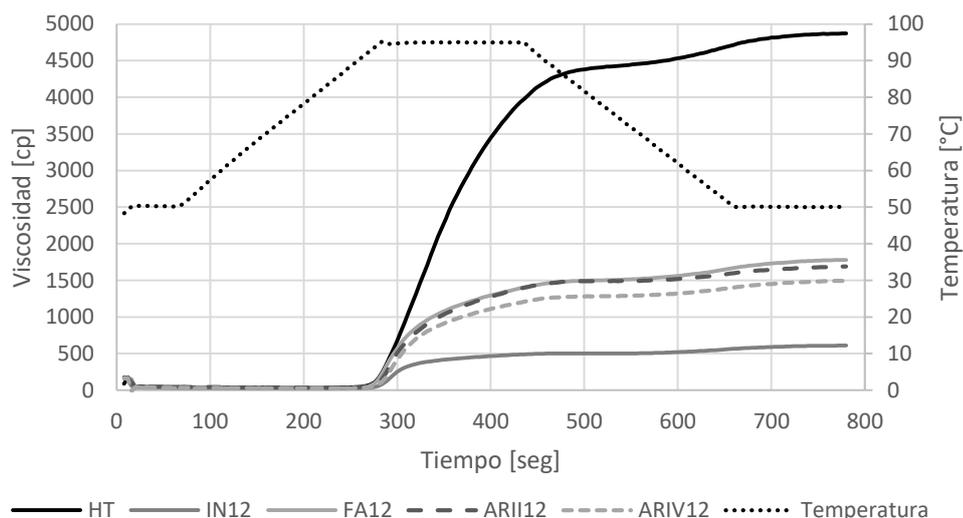


Figura 4.8. Curvas de viscosidad de harina de trigo (HT) y muestras con incorporación de 12% de fibra alimentaria con una solución de sacarosa 50% como solvente. IN: inulina; FA: fibra de avena; ARII: Almidón resistente tipo II; ARIV: Almidón resistente tipo IV.

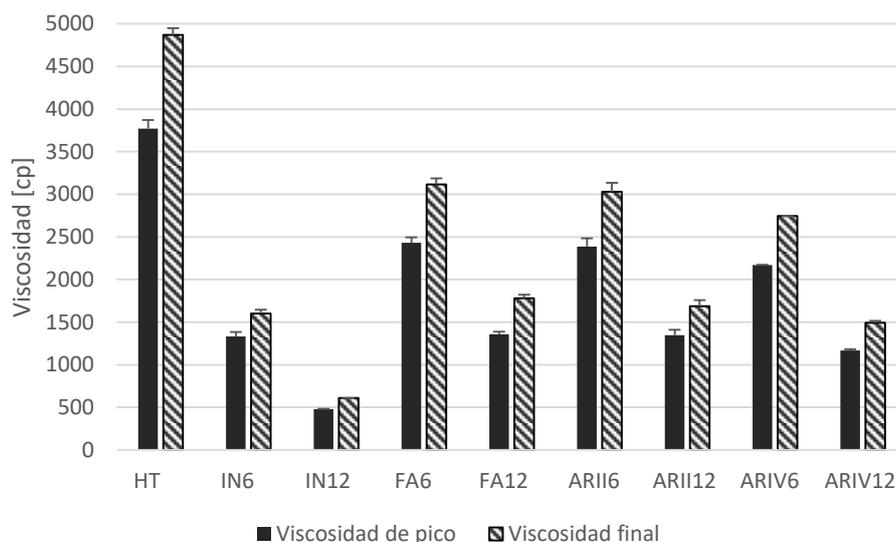


Figura 4.9. Parámetros de viscosidad obtenidos mediante ensayos de RVA con solución de sacarosa 50% como solvente. HT: harina de trigo. IN: inulina; FA: fibra de avena; ARII: Almidón resistente tipo II; ARIV: Almidón resistente tipo IV. 6 y 12 hacen referencia a 6% y 12% de incorporación de fibra.

### Evaluación de la microestructura

La distribución de los ingredientes en la masa de galletitas se estudió mediante microscopía confocal en las muestras con 12 g de fibra (Figura 4.10). Como se indicó en el Capítulo anterior, las micrografías obtenidas muestran un sistema bicontinuo, donde se observaron dos fases: una fase grasa (fase continua) teñida de verde y una fase no grasa teñida de rojo, compuesta de jarabe de azúcar con partículas de harina/almidón (negro). Se observaron diferencias entre las muestras. Las masas de ARII y ARIV parecen tener mayores proporciones de gránulos de almidón; presentaron una distribución de fases similar al control. Las muestras de IN y FA fueron bastante diferentes que la masa control, ya que la fase no grasa estuvo aparentemente más desarrollada con la incorporación de fibras. La fibra de avena autofluoresce en verde cuando es excitada con láser y fluoresce en roja cuando se tiñe con Rodamina B. Por lo tanto, es ciertamente razonable observar mayor fase roja (no grasa) en esta muestra. La inulina no mostró autofluorescencia o tinción, por lo que las diferencias en las micrografías se adjudicaron a cambios en la distribución de las fases. La fase no grasa es aparentemente menos homogénea, formando agregados de proteínas y gránulos de almidón más grandes que los de la masa control.

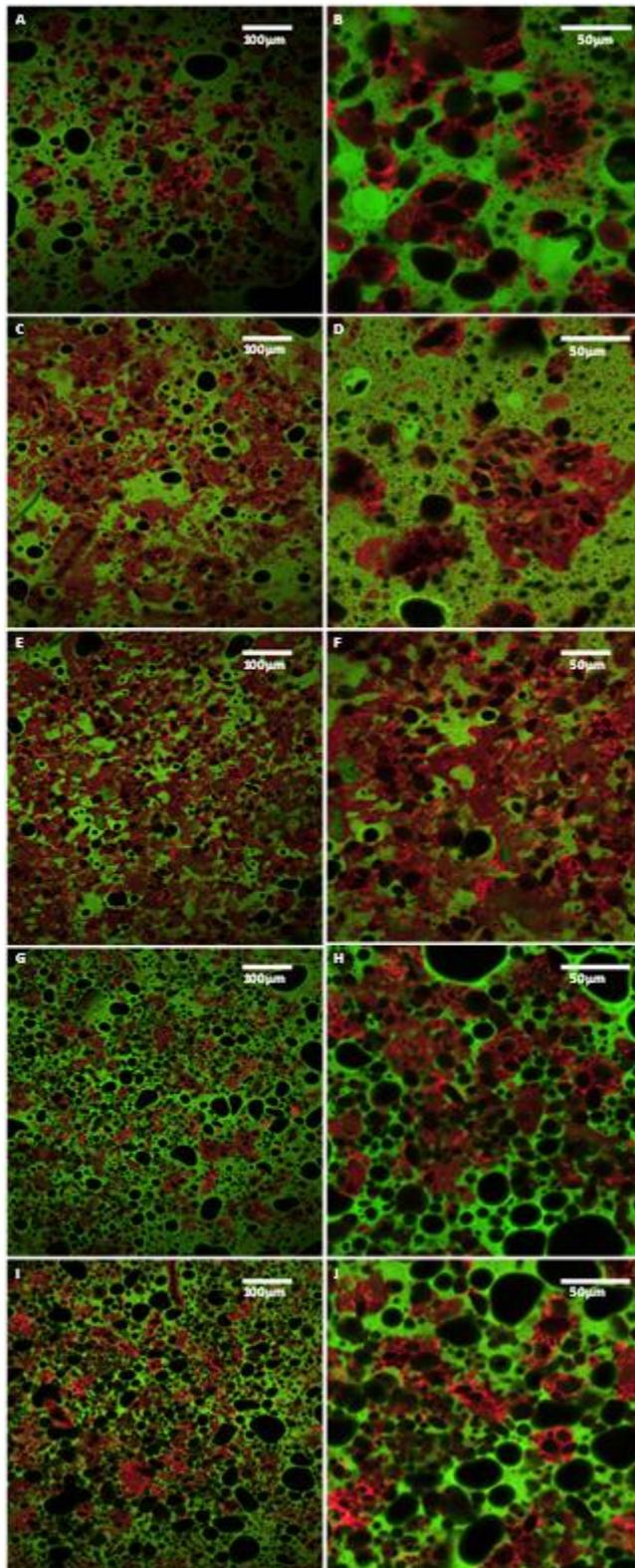


Figura 4.10. Imágenes de microscopía confocal. Masa teñida con Rodamina B (proteínas y carbohidratos en rojo) y Rojo Nilo (grasa en verde). Los gránulos de almidón no están teñidos (negro). A y B: control; C y D: Inulina 12g; E y F: fibra de avena 12g; G y H: ARII 12g; I y J: ARIV 12g.

### Comportamiento térmico

El análisis termo-gravimétrico (o TGA por sus siglas en inglés) es el método térmico más utilizado mundialmente. Se basa en la medida de la pérdida de masa de un material en función de la temperatura. De esta manera, se obtiene un gráfico del cambio de masa vs la temperatura cuando la muestra es calentada a velocidad constante. En la Figura 4.11 se muestra un gráfico típico de la masa control, obtenido mediante TGA. Se puede observar que el peso de la muestra va disminuyendo a medida que la temperatura aumenta.

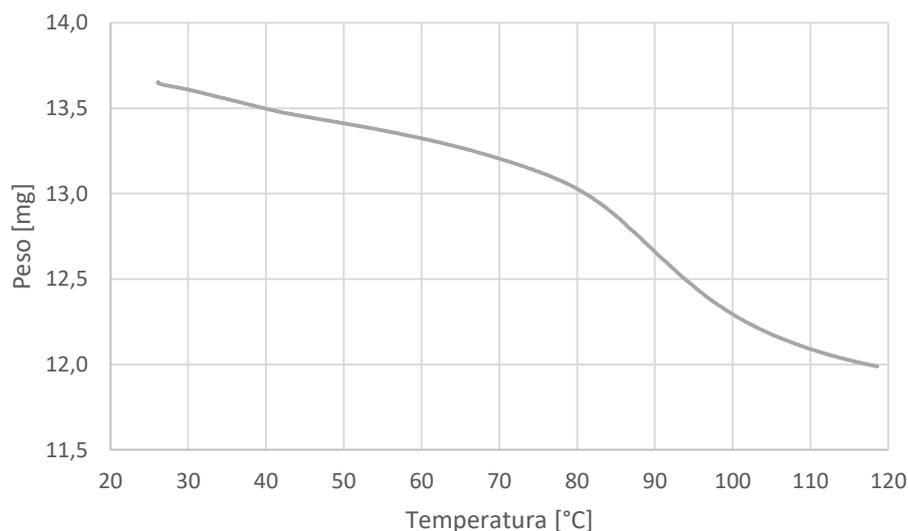


Figura 4.11. Curva típica de pérdida de peso en función de la temperatura de masa de galletita control, obtenida mediante análisis termo-gravimétrico (TGA).

Los datos de peso vs temperatura de todas las muestras, se transformaron a porcentaje de pérdida de peso vs temperatura. Dado que en el rango de temperatura analizado no se produce la descomposición de ningún ingrediente de las masas de galletitas, la pérdida de peso se atribuye a la pérdida de agua por evaporación.

El agua en presencia de calor establece un gradiente de vapor de alta presión dentro de las masas. Como ya se mencionó, el agua es el principal impulsor de los cambios químicos y físicos, es decir, actúa plastificando a las proteínas y solubilizando el almidón. Estos componentes compiten activamente por el agua disponible y retienen y capturan agua de diferentes maneras. En masas con alto contenido de agua, el almidón retiene el agua mediante puentes hidrógeno entre la amilosa y las ramas de amilopectina y las hélices inter amilopectina (Orlowska, Utzig Randzio 2009). Estas hélices tienen la capacidad de formar zonas de unión

donde puede quedar almacenada gran cantidad de agua (Chaplin, 2003). Las proteínas de gluten favorecen la formación de enlaces disulfuros covalentes a través de los grupos cisteína de las gluteninas. Además, forman puentes hidrógenos a través de los residuos de glutamina. Éstos unen más estrechamente el agua que resistirá la remoción por un período mayor de tiempo, durante el calentamiento (Durchschlag y Zipper, 2001).

Como se mencionó en el Capítulo anterior, en la masa de galletitas existen numerosos componentes en diversos estados con diferentes afinidades por el agua. Esto, junto con la escasa cantidad de líquido que caracteriza al sistema, hace que el agua se distribuya entre los distintos componentes originando zonas de agua más o menos estructuradas. Cuando en un sistema tan complejo se incorporan nuevos ingredientes con propiedades de hidratación diferentes, se espera que la distribución de agua cambie sustancialmente.

En la Figura 4.12 se muestran las curvas promedios de las masas control y con incorporación de las fibras al mayor nivel de sustitución (12%). Las curvas de las masas con 6% de fibras, se muestran en el Anexo II. Los termogramas presentaron un aumento continuo de la pérdida de peso entre 25 y 120 °C. Las curvas de la masa control, ARII y ARIV mostraron una inflexión bien marcada alrededor de los 85 °C, a partir de la cual se produce aumento de la velocidad de evaporación del agua. Las masas con inulina y fibra de avena presentan curvas distintas al resto, con un crecimiento continuo, sin inflexión y disminución de la pendiente a partir de los 95 °C.

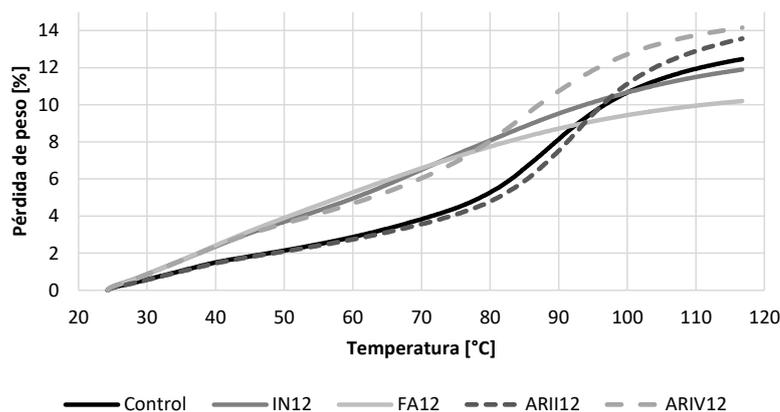


Figura 4.12. Curva de pérdida de peso de las muestras control y con 12% de incorporación de fibra durante el calentamiento. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV.

Se calculó el porcentaje de pérdida de peso de cada muestra al finalizar el ensayo (Tabla 4.III). Los valores oscilaron entre 10,2 y 14,14%. El valor más bajo fue obtenido en la muestra FA12%, mientras que ARII y ARIV presentaron mayor pérdida de peso que la masa control. Además se determinó la temperatura a la cual las masas pierden el 50% del agua. Solo se observaron diferencias significativas para las muestras de IN, FA y ARII, todas con 12% de sustitución. En el caso de las primeras dos fibras, la temperatura fue menor a la de la masa control. Esto significa que en el horneado, estas masas pierden agua a mayor velocidad que la masa control, durante los primeros minutos. La temperatura en la masa ARII12 fue significativamente superior a la del resto de las muestras, es decir que la mayor cantidad de agua en esta muestra se pierde más tarde en el horneado.

Tabla 4.III. Efecto de la incorporación de fibras sobre la evaporación del agua durante el calentamiento de las masas de galletitas. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Muestra	T° pérdida de 50% de peso [°C]	Pérdida de peso [%]
C	83,9 ± 0,6 <sup>bc</sup>	12,5 ± 0,4 <sup>bc</sup>
IN6	78 ± 4 <sup>bc</sup>	11,9 ± 0,6 <sup>c</sup>
IN12	67 ± 6 <sup>de</sup>	11,9 ± 0,2 <sup>c</sup>
FA6	84 ± 1 <sup>bc</sup>	13,14 ± 0,03 <sup>ab</sup>
FA12	59 ± 5 <sup>e</sup>	10,2 ± 0,5 <sup>d</sup>
ARII6	87 ± 3 <sup>ab</sup>	13,73 ± 0,05 <sup>a</sup>
ARII12	93 ± 1 <sup>a</sup>	13,6 ± 0,4 <sup>ab</sup>
ARIV6	85,2 ± 0,1 <sup>ab</sup>	12,8 ± 1,3 <sup>bc</sup>
ARIV12	76 ± 9 <sup>cd</sup>	14,14 ± 0,08 <sup>a</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

A partir de los datos de las curvas de TGA se obtuvo la derivada primera (denominada DTGA), que da información sobre la velocidad de pérdida de agua de las muestras (Figura 4.13). Se observó que cada curva resultó de la combinación de diferentes picos. Las muestras control, ARII y ARIV presentaron curvas similares, donde se destacó un máximo entre 85 y 95 °C y otro pico de menor altura a alrededor de 40 °C. Los gráficos de las masas con IN y FA mostraron el mismo pico alrededor de 40 °C, sin embargo, la forma de estas curvas cambió significativamente a partir de 50 °C.

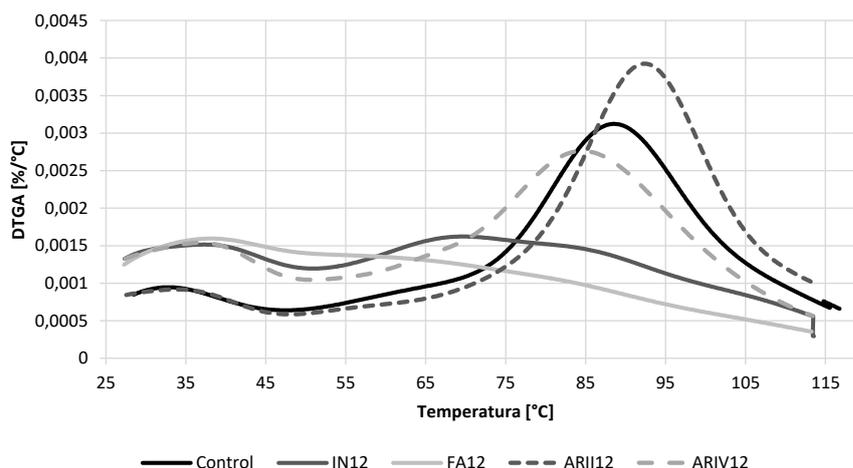


Figura 4.13. Curvas de velocidad de pérdida de peso (DTGA) de las muestras control y con incorporación de 12% de fibras durante el calentamiento. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV.

Con el objetivo de conocer el estado del agua dentro de la matriz de cada una de las muestras, los perfiles de DTGA se deconvolucionaron en los diferentes picos que los componen. De esta forma, cada uno de estos picos se puede relacionar con el agua asociada a algún componente de la masa. La deconvolución se realizó a través de un modelo con cuatro picos generados por funciones gaussianas. Las curvas ajustadas presentaron valores de  $R^2$  mayores a 0,998 (Figura 4.14). En la Tabla 4.IV se muestran las temperaturas a la que ocurren los máximos de los picos de cada muestra y las áreas de cada pico, en relación a sus áreas totales (%). Tanto las curvas como los datos de los picos que se muestran, pertenecen a las masas control y con 12% de incorporación de fibra, para que sea más clara la lectura. Las figuras de las masas con 6% de fibra se encuentran en el Anexo II. A partir del perfil de las curvas, se podría concluir que las muestras ARII y ARIV presentan una forma y distribución de picos similar al control, mientras que IN12 y FA12 son muy diferentes.

En la Figura 4.15 se comparan las áreas (a) y la temperatura del centro (b) de cada uno de los picos obtenidos mediante la deconvolución de las curvas DTGA. A simple vista se puede observar una gran disparidad en el área de la mayoría de los picos. El área del pico 1 aumentó significativamente con la incorporación de todas las fibras, con respecto al control, siendo la inulina la que más afectó este valor, incrementándola 217%. El pico 2 fue el más homogéneo, ya que solo ARIV12 presentó una mayor área (34% más que el control). El reemplazo de harina por IN y FA al 12% disminuyó el área del tercer pico, mientras que ARII la incrementó notablemente (67,5 % más que el control). Por último el área del pico 4 fue menor que el control en las muestras IN12 y ARIV12 (42,2 y 61,1% del control, respectivamente) y mayor en FA12 y ARII12, observándose mucha diferencia entre esta última masa y el resto de las muestras (90% más que el control). Esto confirma que la incorporación de las fibras alimentarias produjo una significativa redistribución entre los componentes hidrofílicos del sistema.

Los picos asociados a la masa control presentaron un máximo alrededor de 38, 66, 88 y 97 °C. Se puede observar que el gráfico de las temperaturas del centro de los picos es bastante homogéneo, es decir que no hay grandes diferencias entre las muestras. Sin embargo, la masa FA12 presentó temperaturas menores a las del control en todos los picos, excepto el primero que fue estadísticamente igual (la temperatura del último pico fue casi 20 °C menor que en el control) y ARII12 mostró mayor temperatura en todos los picos.

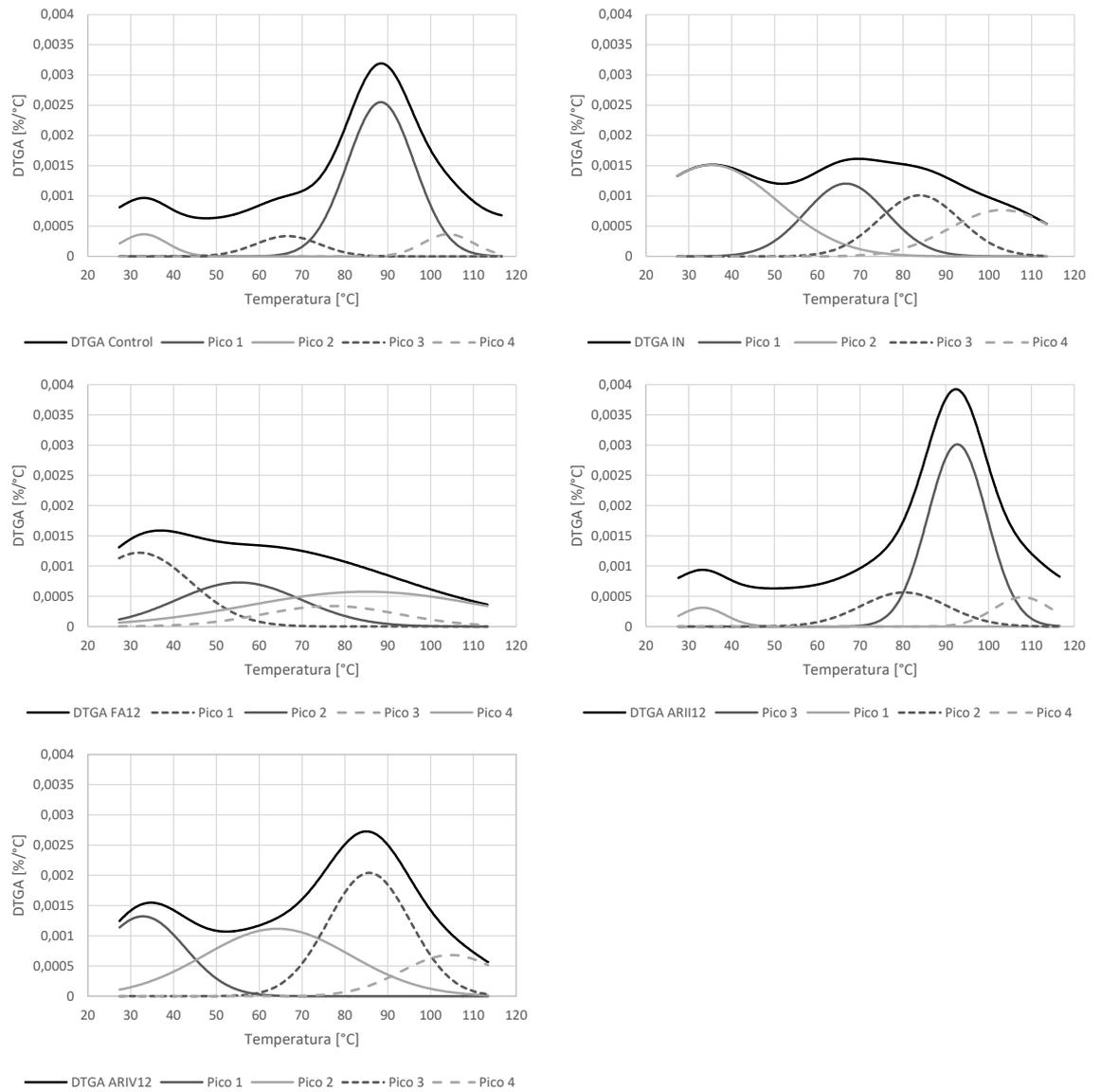


Figura 4.14. Curvas de velocidad de pérdida de peso (DTGA) y su deconvolución de las muestras Control y con 12% de incorporación de fibras. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV.

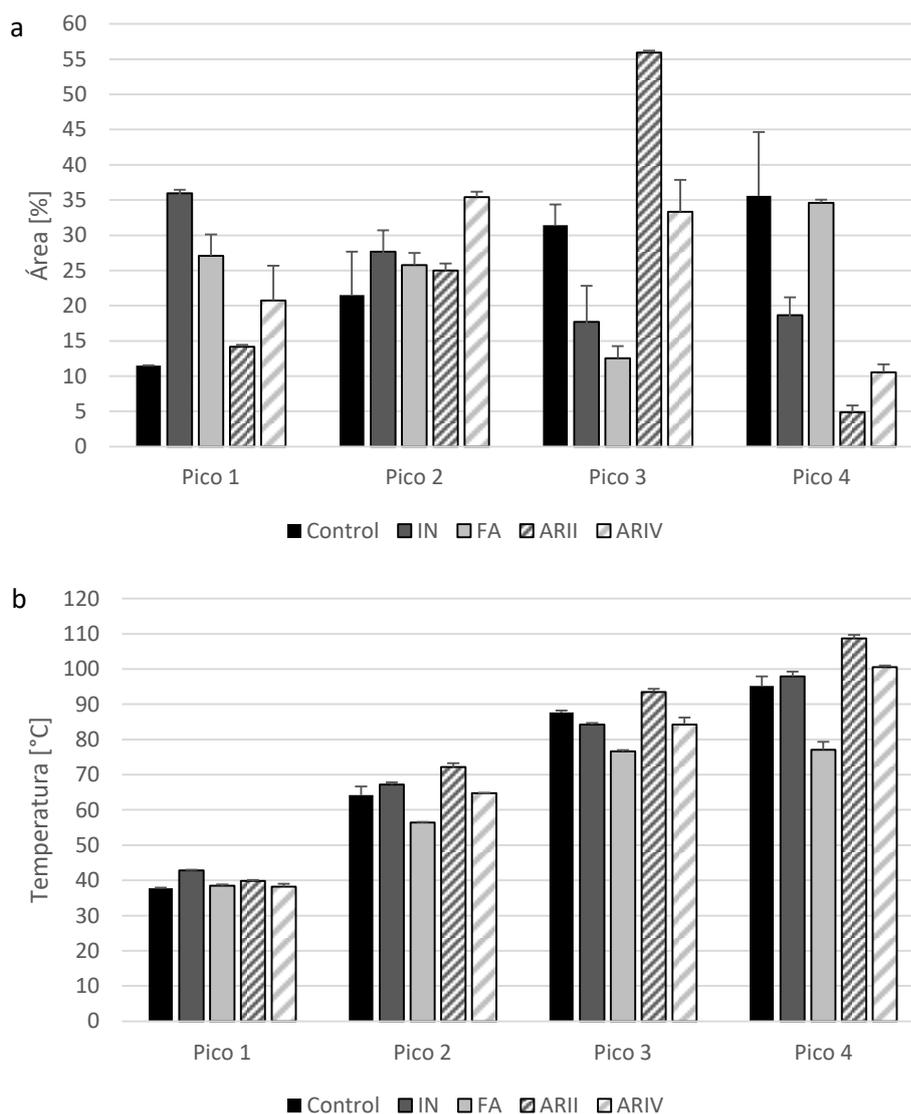


Figura 4.15. Área (a) y temperatura del centro (b) de cada pico obtenidos por deconvolución de DTGA de las muestras Control y con 12% de incorporación de fibras. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV.

Roozendaal, Abu-hardan y Frazier (2012), realizaron análisis termogravimétricos de suspensiones de harina de trigo y salvado de trigo. A partir de la deconvolución de las curvas DTGA observaron cuatro picos. El primer pico, cuyo máximo fue alrededor de 40 °C, fue atribuido al exceso de agua, es decir, el agua menos ligada y que evapora más fácilmente. Estos mismos autores relacionaron dos picos, uno con centro a ~60 °C y el segundo con centro a ~70 °C, con el agua ligada al almidón. En nuestro trabajo se observó un solo pico a 65 °C que por analogía se relacionó con el agua retenida por el almidón. Es posible que este pico sea el producto del solapamiento de dos picos. Fessas and Schiraldi (2001) y Roozendaal, Abu-hardan y Frazier

(2012), trabajando con masas formadas a partir de harina de trigo y agua, observaron que el agua que se evapora a mayores temperaturas se relaciona con las proteínas de la masa.

En la Figura 4.14, se puede observar que el tercer y cuarto pico, se solapan en gran medida, por lo que ambos picos se atribuyen al agua ligada a las proteínas de las masas. El pico 3 se relaciona al agua menos ligada, mientras que el pico 4 se debe a agua más ligada a las proteínas. Estos resultados coinciden con los informados por Roozendaal, Abu-hardan y Frazier (2012), cuyos picos resultaron a valores alrededor de 80-85 °C y 90-95 °C. Es notorio que la incorporación de inulina produzca un incremento en el primer pico, atribuido al agua menos ligada, en detrimento de los picos relacionados a las proteínas. Esto indica que la inulina es muy higroscópica pero probablemente la afinidad por el agua sea menor, ya que la libera fácilmente ante un aumento de la temperatura. ARII produjo una redistribución del agua relacionada a las proteínas, donde el máximo nivel de incorporación mostró un aumento de casi el 70% en el área del tercer pico y una disminución de más del 80% del cuarto pico, con respecto a la curva control. La fibra de avena mostró el efecto contrario a ARII, ya que disminuyó el área del tercer pico y aumentó la del cuarto pico.

Estos resultados, sugieren que las fibras absorben agua en diferentes proporciones y modifican su distribución dentro de las masas de galletita, afectando la calidad del producto final. Las masas con inulina y la fibra de avena presentan aparentemente mayor proporción de la fracción de agua libre respecto al control a temperaturas inferiores a 70 °C. Esto puede deberse a que en las masas con inulina y fibra de avena se produce menor hidratación del almidón que en el resto de las muestras, ya que el almidón retiene más fuertemente el agua a menores temperaturas.

#### Calorimetría diferencial de barrido

Para conocer cómo afecta la incorporación de las fibras a las transiciones térmicas de la masa de galletita, se realizaron ensayos de calorimetría diferencial de barrido solo con las muestras del nivel más alto de reemplazo (12%).

Todos los termogramas obtenidos mostraron un primer pico alrededor de 40-55 °C que coincide con la temperatura de fusión de la margarina utilizada en la formulación de las galletitas (Figura 4.16, Tabla 4.IV). El valor del área de este pico presentó valores que oscilaron entre -1,4 y -2,3, correspondientes a la masa control y ARII12%, respectivamente, sin embargo no hubo diferencias significativas entre las muestras. La temperatura del pico también fue estadísticamente igual entre las distintas masas, con valores que fueron desde 46,5 hasta 47,9 °C.

Además, todas las muestras presentaron un pico ancho a partir de los 60 °C (Figura 4.16). Varios autores han estudiado las transiciones sufridas en productos de panificación con bajo contenido de agua (Louise Slade *et al.*, 1996; Walker, Seetharaman y Goldstein, 2012) y observaron que la gelatinización del almidón ocurre alrededor de esa temperatura. Sin embargo, en nuestro sistema, la cantidad de agua es tan escasa que no alcanza para que ocurra este fenómeno extensivamente. Este pico ancho sugiere que se estaría produciendo un evento en la masa, sin observarse una transición definida, lo que puede atribuir al hinchamiento de los gránulos de almidón, sin llegar a que gelatinicen. Dadas las características de este pico no fue posible integrarlo porque tuvo un gran error asociado. Sin embargo, se pudo observar que las masas con ambos almidones resistentes presentaron mayor área de pico. Tanto RSII como RSIV son almidones que no presentan gelatinización en el rango de temperatura analizada (W. Ratnayake y Jackson, 2008), por lo tanto, este incremento en el área sugiere que el agregado de almidones permite que una mayor proporción de agua esté disponible para la hidratación y gelatinización parcial del almidón presente en la harina de trigo.

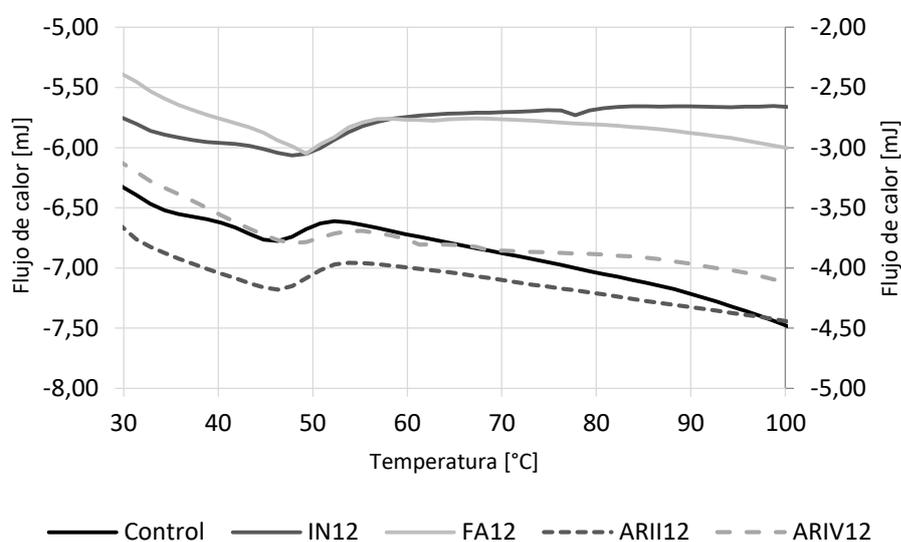


Figura 4.16. Termogramas de DSC de masas control y con 12% de incorporación de fibras. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV.

Tabla 4.IV. Parámetros obtenidos a partir de las curvas de calorimetría diferencial de barrido de las muestras control y con 12% de incorporación de fibras. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV.

Muestra	$\Delta H$ [mJ/g]	T° de pico
Control	-1,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	47 ± 2 <sup>a</sup>
IN12	-1,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	47,7 ± 0,1 <sup>a</sup>
FA12	-2,0 ± 0,6 <sup>a</sup>	47,9 ± 0,2 <sup>a</sup>
ARI12	-2,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	46,5 ± 0,3 <sup>a</sup>
ARIV12	-1,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	47,15 ± 0,09 <sup>a</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### Estudios reológicos

#### Ensayo de fluencia

Para conocer el comportamiento de las masas sometidas a grandes deformaciones, se llevaron a cabo ensayos de relajación y los resultados se ajustaron al mismo modelo que en el Capítulo 3: un elemento de Maxwell y un resorte residual en paralelo. Los datos obtenidos a partir del ensayo de relajación fueron satisfactoriamente ajustados a la Ecuación 1 (Capítulo 3), alcanzando valores de  $R^2 \geq 0,998$ , en todos los casos.

A partir de este ensayo se obtuvieron cuatro parámetros (Tabla 4.V): la fuerza máxima a la que es sometida la muestra ( $FM$ ), los módulos elásticos 1 y 2, correspondientes a los resortes del modelo aplicado ( $E_1$  y  $E_2$ ) y el módulo viscoso ( $\eta$ ).

Los resultados mostraron que las características de la masa fueron afectadas por la sustitución de harina de trigo por las fibras. La incorporación de inulina incrementó gradualmente tanto la  $FM$  como los módulos elásticos  $E_1$  y  $E_2$  y el módulo viscoso,  $\eta$  (los incrementos de IN12 fueron de 145, 97 185 y 135% sobre los valores de la masa control, respectivamente), presentando los valores más altos de todas las muestras. Los parámetros de IN6 también aumentaron, resultando en valores intermedios entre el control e IN12. Los incrementos registrados en todos los parámetros indican matrices estructurales con resistencia a la deformación. Rodríguez-García *et al.* (2013) estudiaron el efecto del reemplazo parcial de grasa por inulina en niveles de 0 a 40 % en masas de galletitas dulces. Al igual que en nuestro estudio, observaron un incremento de la dureza de la masa con la cantidad de inulina. Sin embargo, en este caso, este comportamiento se debe al efecto combinado de la incorporación de inulina junto con la reducción de grasa, ya analizada en el Capítulo anterior.

La fibra de avena en la masa también produjo un incremento progresivo de todos los parámetros. La elasticidad y viscosidad de la masa cambiaron, como resultado de la unión de agua con  $\beta$ -glucanos (Courtin, Roelants y Delcour 1999). FA6 presentó valores intermedios entre

FA12 y el control y solo afectó significativamente  $E_2$ , que corresponde al módulo de equilibrio a tiempo infinito. Estos resultados coinciden con los informados por (Piteira *et al.*, 2006), quienes observaron un progresivo y significativo incremento en la firmeza de las masas de galletitas cuando se incorporan cantidades crecientes de fibra de avena.

Tabla 4.V. Parámetros de relajación de las masas.  $E_1$ : componente elástica 1.  $E_2$ : componente elástica 2.  $FM$ : fuerza máxima.  $\eta$ : componente viscosa. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Muestra	$E_2$ [Pa]	$E_1$ [Pa]	$FM$ [N]	$\eta$ [Pa.s]
Control	13,5 ± 0,9 <sup>d</sup>	26,0 ± 0,9 <sup>c</sup>	20 ± 3 <sup>cd</sup>	261 ± 10 <sup>de</sup>
IN6	24 ± 2 <sup>b</sup>	37 ± 6 <sup>b</sup>	33 ± 4 <sup>b</sup>	389 ± 28 <sup>c</sup>
IN12	38,4 ± 3 <sup>a</sup>	51 ± 5 <sup>a</sup>	50 ± 4 <sup>a</sup>	613 ± 47 <sup>a</sup>
FA6	17 ± 1 <sup>c</sup>	26 ± 2 <sup>c</sup>	24 ± 2 <sup>c</sup>	285 ± 22 <sup>d</sup>
FA12	25 ± 2 <sup>b</sup>	40 ± 5 <sup>b</sup>	35 ± 3 <sup>b</sup>	433 ± 36 <sup>b</sup>
ARI6	12 ± 2 <sup>de</sup>	21 ± 4 <sup>cd</sup>	18 ± 3 <sup>de</sup>	238 ± 39 <sup>ef</sup>
ARI12	10,7 ± 0,1 <sup>e</sup>	13,4 ± 0,7 <sup>e</sup>	12,7 ± 0,3 <sup>f</sup>	166 ± 11 <sup>g</sup>
ARIV6	12,8 ± 0,7 <sup>de</sup>	16,7 ± 0,6 <sup>de</sup>	16 ± 1 <sup>ef</sup>	209 ± 20 <sup>f</sup>
ARIV12	13,2 ± 0,7 <sup>d</sup>	16 ± 1 <sup>de</sup>	16 ± 1 <sup>ef</sup>	210 ± 17 <sup>f</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

La incorporación de ARII en el nivel más bajo solo modificó los valores del módulo viscoso de la masa (representando una disminución del 36% con respecto al control), mientras que  $FM$ ,  $E_1$  y  $E_2$  no presentaron diferencias significativas con el control. Los módulos elásticos  $E_2$  de las masas ARIV con ambos niveles de reemplazo fueron estadísticamente iguales al control. Sin embargo en el resto de los parámetros ( $E_1$ ,  $FM$  y  $\eta$ ) se observó una disminución con la incorporación de este almidón. Estos resultados coinciden con los observados por Korus *et al.* (2009), quienes informaron una disminución de los parámetros obtenidos a partir de un ensayo de fluencia, en masas de panes libres de gluten a los que se sustituyó parcialmente almidón nativo por almidón resistente.

### Viscoelasticidad

Para los ensayos de pequeñas deformaciones a temperatura ambiente se llevaron a cabo barridos de frecuencia de 0,01 a 20 Hz. Al igual que en el Capítulo anterior, en todas las muestras se observó un predominio de la componente elástica ( $G'$ ) sobre la viscosa ( $G''$ ) en el rango de frecuencia analizado, una respuesta típica de una red de polímeros entrecruzados. Esto significa que la masa tiene un comportamiento más de sólido viscoelástico, como un gel. La forma general de las curvas fue similar en todas las muestras (Figura 4.17). Ambos módulos ( $G'$  y  $G''$ ) presentaron una leve dependencia de la frecuencia, observándose en todos los casos un ligero incremento con el aumento de la frecuencia, pero manteniendo las características elásticas predominantes. En la Figura 4.17 se muestra el comportamiento mecánico solo de las masas de galletitas control y con 12% de incorporación de fibra para hacer más clara la lectura del gráfico. Las masas de 6% se encuentran en el Anexo II.

Si bien ambos módulos mostraron dependencia de la frecuencia,  $G''$  presentó mayores incrementos a altas frecuencias. Estos resultados indican que la recuperación del esfuerzo de la red de la masa fue un proceso lento, es decir, la red no fue completamente elástica, tal como lo señaló Agyare *et al.* (2004). Nuestros resultados coinciden con los observados por Agyare *et al.* (2004) y (Dreese, Faubion y Hosney 1988) en sus trabajos con masas de harina de trigo blando y masas con gluten, respectivamente.

Con respecto a la  $\tan \delta$ , el perfil general mostró una disminución significativa de los valores entre 0,01 y alrededor de 0,5 Hz, que se debe a un mayor incremento de  $G'$  sobre  $G''$ , indicando que el sistema cambió hacia propiedades más elásticas en ese rango. A frecuencias mayores a 0,5 Hz, la  $\tan \delta$  aumentó en todas las masas, mostrando un comportamiento más viscoso.

A pesar de su gran solubilidad y capacidad de retención de agua, la incorporación de inulina resultó en masas ligeramente menos consistentes, sin embargo no hubo diferencias significativas con el control en ninguno de los niveles de reemplazo. Estos resultados coinciden con lo informado por Juszczak *et al.* (2012), quienes estudiaron el comportamiento reológico de masas libres de gluten con la incorporación de varios tipos de inulina con diferentes grados de polimerización. Estos autores observaron que la masa que presenta comportamiento más similar al control es la que contiene inulina HP, que es la misma fibra utilizada en nuestra formulación. Hager *et al.* (2011) trabajaron con masas de pan libres de gluten a las que le incorporaron  $\beta$ -glucanos de avena e inulina. A partir de barridos de frecuencia determinaron la cantidad de agua necesaria de las masas para alcanzar la misma consistencia que el control. Estos autores informaron una disminución de la cantidad de agua necesaria en la masa. Esta reducción fue atribuida a la capacidad que presenta esta fibra de formar microcristales cuando

es batida en una solución acuosa, los cuales interactúan formando un gel particulado que genera una textura cremosa y suave. A diferencia de otras fibras solubles que presentan gran capacidad de ligar agua, las moléculas de inulina forman zonas de unión donde queda encerrada gran cantidad de agua (Kaur y Gupta, 2002). Hager *et al.* (2011) sugirieron que las propiedades de la inulina se basan en la inmovilización del agua durante la formación de este gel, más que en el hecho de ligar agua. En nuestro sistema no hay suficiente cantidad de agua para formar un gel, sin embargo sí es posible la formación de microcristales de inulina que inmovilizan cierta cantidad de agua, lo que se puede relacionar con el comportamiento durante el ensayo de barrido de frecuencia.

Peressini y Sensidoni (2009) estudiaron la incorporación de diferentes tipos de inulina en masa de pan. Estos autores mostraron que el módulo de almacenamiento aumentó progresivamente y la  $\tan \delta$  disminuyó con el incremento de los niveles de inulina, contribuyendo a la elasticidad y fuerza general de la masa. Además notaron que el grado de polimerización de la inulina era un factor muy importante para determinar el nivel de cambio en las propiedades viscoelásticas lineales de la masa. Cuando analizaron el comportamiento viscoelástico a una absorción de agua constante (54,2%), el módulo de almacenamiento de las muestras con inulina ST (grado de polimerización promedio= 10) fue menor que el del control. Los autores sugieren una acción diluyente de la masa cuando se incorpora inulina con bajo grado de polimerización. Sin embargo se observó el comportamiento opuesto con inulina HP (grado de polimerización promedio= 23): a cualquier nivel de humedad, la inulina HP mostró mayor elasticidad y comportamiento más sólido que los de la muestra control. Los autores sugieren la formación de redes elásticas debido a interacciones inulina-inulina. En otro estudio Wang, Hamer, Vliet, y Oudgenoeg (2002), propusieron la existencia de interacciones entre inulina y gluten para explicar el efecto sobre la masa.

En nuestro estudio, la masa de galletita se obtiene con mínimo amasado y bajo contenido de agua, lo que resulta en una masa “corta” con mínima o nula formación de gluten. Se piensa que parte de la inulina es capaz de ingresar parcialmente en la fase acuosa de la masa y también puede ser parte de la matriz sólida. La inulina como parte de la fase acuosa de la masa puede contribuir a incrementar su volumen y de esta forma reducir la consistencia de la masa. Al mismo tiempo, la inulina como parte de la matriz sólida puede competir con otros constituyentes de la harina por el agua disponible, incrementando la consistencia de la masa. El resultado neto de estos efectos no cambia significativamente las propiedades viscoelásticas de la masa con inulina a temperatura ambiente, comparada con la masa control, ya que se produce un balance entre ambos fenómenos.

Los resultados obtenidos en este ensayo coinciden con lo informado por numerosos autores, sin embargo no son consistentes con los observados en el ensayo de relajación. Las propiedades de las masas medidas bajo condiciones de baja deformación no necesariamente correlacionan con aquellas obtenidas a altas deformaciones, ya que los factores que adquieren importancia a baja deformación (enlaces transitorios o interacciones moleculares débiles, como puentes de hidrógeno) no son los mismos que gobiernan el comportamiento a deformaciones mayores (enlaces y entrecruzamientos permanentes). Esto puede deberse al tipo de esfuerzo al que fueron sometidas las masas. Si bien ambas son deformaciones, en el ensayo de relajación se aplica un esfuerzo mecánico mucho mayor que en el barrido de frecuencia y no se da tiempo a la masa a que recupere su estructura. En cambio, en el ensayo de reología dinámica las deformaciones son tan pequeñas que la estructura de la masa se puede recuperar y atenuar el efecto del esfuerzo.

Las muestras con ambos almidones resistentes al 6 y 12% de incorporación, produjeron una disminución significativa en  $G'$  y  $G''$  comparada con la masa control, mientras que la fibra de avena incrementó estos parámetros, alcanzando el valor más alto de los módulos cuando se agregó 12 g de FA (Tabla 4.VI). Estos resultados, indican que la masa con FA presentó un comportamiento elástico y viscoso mayor que las masas control, y el resto de las muestras. Hager *et al.* (2011) en su trabajo observaron resultados similares en masas con incorporación de  $\beta$ -glucanos de avena. La incorporación de fibra de avena en la masa produjo un incremento de la cantidad de agua necesaria en el sistema para lograr la misma consistencia que el control. Skendi, Papageorgiou y Biliaderis (2006) también coincidieron con estos resultados al informar que el módulo elástico de masas formuladas a partir de harina de trigo incrementó su valor al adicionar fibra de avena. Lazaridou y Biliaderis (2007) informaron el mismo efecto cuando agregaron esta fibra a una formulación libre de gluten a base de harina de arroz.

Los  $\beta$ -glucanos insolubles, provenientes de los polisacáridos no almidonosos de la avena tienen una alta fracción de enlaces  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) que facilitarían la unión por puentes de hidrógeno entre cadenas de polímeros y también con moléculas de agua. Se sugiere que los polisacáridos no almidonosos de la avena pueden influir en la distribución de agua y la viscosidad de la masa, atrapando agua, ya que no pueden entrar en la fase acuosa debido a su baja solubilidad. En trabajos realizados con arabinosilanos no extraíbles en agua, Courtin, Roelants y Delcour (1999) y Pareyt y Delcour (2008) describieron un comportamiento similar al hallado en este estudio.

Con respecto a las masas con almidones resistentes, Korus *et al.* (2009) observaron el efecto contrario trabajando con masas de panes libres de gluten con reemplazo de almidón nativo por almidón resistente. Estos autores informaron un incremento de los módulos  $G'$  y  $G''$  cuando se incorporó almidón resistente en el sistema. En nuestro trabajo, ambos almidones

resistentes ARII y ARIV presentaron capacidad de retención de solvente similares a los de la harina y menores que los de la fibra de avena, en concordancia con los bajos valores de los módulos  $G'$  y  $G''$ .

En todos los casos la  $\text{Tan } \delta$  no mostró diferencias significativas entre las muestras y comparadas con el control a frecuencia 1 de Hz. El hecho de que las propiedades viscoelásticas ( $\text{tan } \delta$ ) no se vieron alteradas indicaría que no se produjeron cambios significativos en la estructura de la masa. Por lo tanto, se puede afirmar que el tipo de organización estructural no fue significativamente afectada con la incorporación de fibras (Laguna, Hernández, Salvador, y Sanz, 2013).

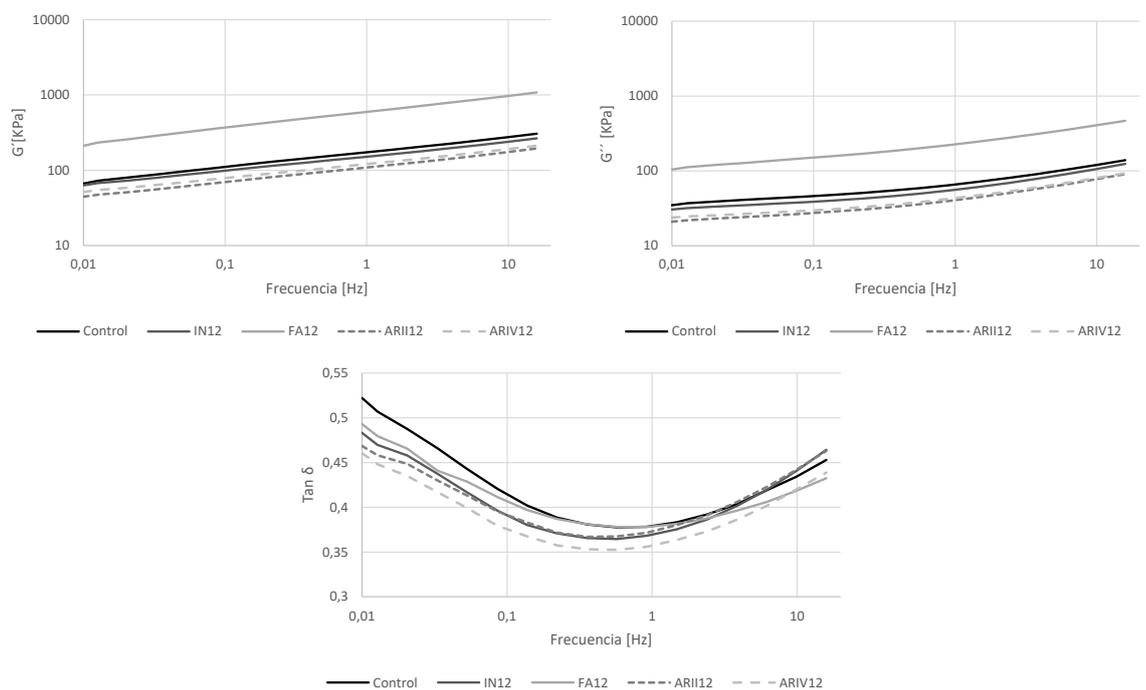


Figura 4.17. Efecto de la incorporación de fibra sobre el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y módulo de pérdida ( $G''$ ) obtenidos por barrido de frecuencia. C: control. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 12 indica la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Tabla 4.VI. Parámetros reológicos de las masas de galletita con incorporación de fibra a 25 °C y frecuencia 1 Hz. C: control. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Muestra	G'(kPa)	G''(kPa)	tan $\delta$
Control	171 <sup>c</sup>	65 <sup>c</sup>	0,378 <sup>a</sup>
IN6	144 <sup>cde</sup>	55 <sup>cd</sup>	0,389 <sup>a</sup>
IN12	149 <sup>cde</sup>	55 <sup>cde</sup>	0,368 <sup>a</sup>
FA6	281 <sup>b</sup>	108 <sup>b</sup>	0,383 <sup>a</sup>
FA12	586 <sup>a</sup>	222 <sup>a</sup>	0,379 <sup>a</sup>
ARII6	134 <sup>de</sup>	51 <sup>def</sup>	0,380 <sup>a</sup>
ARII12	107 <sup>e</sup>	40 <sup>f</sup>	0,372 <sup>a</sup>
ARIV6	113 <sup>de</sup>	42 <sup>ef</sup>	0,369 <sup>a</sup>
ARIV12	119 <sup>de</sup>	42 <sup>def</sup>	0,356 <sup>a</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

Con el objetivo de evaluar el comportamiento viscoelástico durante el calentamiento, se llevaron a cabo barridos de temperatura de 25 a 100 °C en todas las muestras (Figura 4.18). A partir de los gráficos, se pueden diferenciar tres zonas principales en el perfil general de la masa control. En la primera zona, entre 25 y 50 °C, se observó una rápida disminución de  $G'$  y  $G''$ , debida a la fusión de grasa y solubilización del azúcar. En la segunda zona, entre 50 y 75 °C, la consistencia se mantiene constante o disminuye levemente con la temperatura. Finalmente, entre 75 y 100 °C, el comportamiento de  $G'$  y  $G''$  dependió de la formulación de la masa, es decir, estos valores mostraron un pequeño incremento o bien, siguieron la misma tendencia de la segunda zona. Estos resultados coinciden con los observados por otros autores en estudios previos de barridos de temperatura en masa de galletitas (Laguna, Vallons, Jurgens, y Sanz, 2012), quienes estudiaron el efecto de la sacarosa y de su reemplazo en las características de las masas.

En la masa con inulina, tanto  $G'$  como  $G''$  disminuyeron de 25 a 40-45 °C y luego permanecieron relativamente constantes hasta el final de la segunda zona, donde ambos módulos disminuyeron, permaneciendo un poco por encima de la masa control durante todo el ensayo. Un comportamiento similar fue observado por otros investigadores en ensayos de barridos de frecuencia con inulina de alta *performance* (HP) (Juszczak *et al.* 2012; Kim, Faqih y Wang 2001).

Este comportamiento diferencial de las masas con inulina puede explicarse mediante la teoría de lubricación. El agua juega un rol importante en la determinación del comportamiento viscoelástico de las masas. Como se determinó mediante TGA dentro de la masa de galletitas, parte del agua presenta una mayor movilidad (agua menos ligada), mientras que la fracción

restante se encuentra estructurada solvatando las proteínas y el almidón, flexibilizando de esta manera los polímeros (Sluimer, 2005). El agua, es una molécula que tiene la capacidad de actuar como plastificante ya que permite la flexibilización de numerosos polímeros debido a que puede introducirse entre las cadenas poliméricas espaciándolas. La teoría de lubricación afirma que los plastificantes (el agua en este caso) se comportan como lubricantes internos, los cuales permiten que las cadenas poliméricas se deslicen entre sí reduciendo la fricción entre ellas. Por lo tanto, los plastificantes reducen la viscosidad de los sistemas promoviendo el flujo del material y aumentando la plasticidad, lo que los torna más maleables. Sin embargo, cuando estos se hallan presentes en cantidades insuficientes normalmente se comportan como antiplastificantes, aumentando la dureza del sistema. (Fennema, 2000; Seymour y Carraher, 1995). La inulina es un polímero, por lo tanto en las masas con inulina hay mayor proporción de polímeros. Esto sumado al bajo contenido de agua que caracteriza a las masas de galletitas podría resultar en que el agua actúe como antiplastificante, incrementando la consistencia del sistema.

Nuevamente, la masa de fibra de avena mostró la mayor resistencia a la deformación a lo largo de todo el barrido de temperatura. Además se observó un pequeño incremento de ambos módulos en la segunda zona, mientras que en la tercera zona,  $G''$  continuó disminuyendo y  $G'$  se mantuvo constante. Al igual que en los ensayos a temperatura ambiente, este comportamiento sugiere una mayor capacidad de la fibra de avena de atrapar agua, incrementando la viscosidad del sistema durante el calentamiento de la masa.

ARII y ARIV no mostraron diferencias significativas comparadas con el control en la primera y segunda zona, pero a partir de 75°C y hasta el final del ensayo, ambas muestras presentaron un incremento más pronunciado de  $G'$  y  $G''$  que el control. Los almidones resistente tienen absorción de agua similar que la harina de trigo y ambos, ARII y ARIV, típicamente no gelatinizan en el rango de temperatura analizada (W. Ratnayake y Jackson, 2008). Esto indica que puede haber más agua disponible para el hinchamiento y gelatinización parcial de los gránulos de almidón de trigo, incrementando la viscosidad de la masa a altas temperaturas.

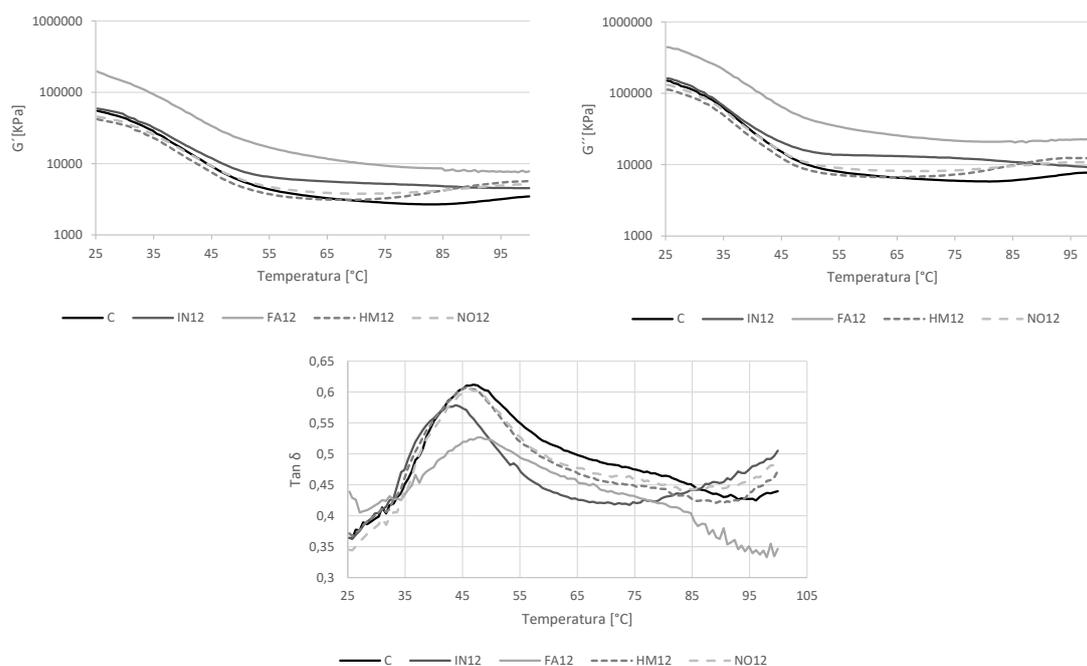


Figura 4.18. Efecto de la incorporación de fibra en masas de galletita sobre el módulo de almacenamiento ( $G'$ ), módulo de pérdida ( $G''$ ) y  $\tan \delta$ , obtenidos por barrido de temperatura. C: control. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Las masas mostraron un valor máximo de  $\tan \delta$  entre 44 y 48 °C (Figura 4.18 Tabla 4.VII). Este pico indica un comportamiento de la matriz con mayores características de fluido viscoso, debido a la fusión de grasa y solubilización de azúcar. El valor máximo de la  $\tan \delta$  se corrió a menores temperaturas (44 °C) cuando se incorporó inulina (46,6 °C en la masa control), es decir que este incremento del comportamiento líquido sobre el elástico ocurrió antes en el horneado, lo que puede estar relacionado con la solubilidad de la inulina en agua, ya que se puede alcanzar un incremento extra del volumen de la fase acuosa como consecuencia de la incorporación de inulina. La fibra de avena y almidones resistentes no modificaron significativamente la temperatura del valor máximo de la  $\tan \delta$  máxima. La FA e IN mostraron los menores valores de  $\tan \delta$ , mientras que la fibra de avena presentó el valor más bajo, lo que indica un menor comportamiento líquido/elástico durante el calentamiento. Los almidones resistentes no modificaron significativamente los valores de la  $\tan \delta$  máxima.

Tabla 4.VII. Tan  $\delta$  máxima (Tan  $\delta$  Max) y temperatura (T° Tan  $\delta$  Max) a la que se produce durante el barrido de temperatura. C: control. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Muestra	Tan $\delta$ Max	T° Tan $\delta$ Max (°C)
Control	0,62 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	46,6 $\pm$ 0,8 <sup>ab</sup>
IN6	0,60 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	44 $\pm$ 1 <sup>cd</sup>
IN12	0,58 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	44 $\pm$ 2 <sup>d</sup>
FA6	0,57 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	46,7 $\pm$ 0,5 <sup>ab</sup>
FA12	0,53 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	48,2 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>
ARII6	0,60 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>	46,0 $\pm$ 0,4 <sup>abc</sup>
ARII12	0,61 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>	45,7 $\pm$ 0,0 <sup>bcd</sup>
ARIV6	0,61 $\pm$ 0,00 <sup>ab</sup>	46,3 $\pm$ 0,0 <sup>ab</sup>
ARIV12	0,61 $\pm$ 0,00 <sup>ab</sup>	46,6 $\pm$ 0,4 <sup>ab</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### Expansión durante el horneado

Con el objetivo de estudiar el efecto la incorporación de fibras en el comportamiento de las masas durante el horneado, se tomaron imágenes de las galletitas en el horno para conocer cómo varía el diámetro y la altura de cada muestra cuando son calentadas. A partir de estas imágenes se calcularon cinco parámetros: el diámetro máximo alcanzado en el horno, el tiempo de fijación, es decir, el momento en el que la pieza deja de expandirse, la temperatura a la que este fenómeno ocurre, la altura máxima alcanzada durante el horneado y el colapso de las piezas, es decir la diferencia entre la altura máxima y la altura final (Tabla 4.VIII). Las galletitas de buena calidad se caracterizan por presentar un gran diámetro máximo, mayor tiempo de fijación, menor altura y mayor colapso. Esto se relaciona con una masa con gran capacidad de lubricación, que se expande horizontalmente y falta de una estructura tridimensional que soporte el crecimiento en altura.

La Figura 4.19 muestra el efecto de la incorporación de fibra en los cambios en el diámetro y en la altura de las piezas durante el horneado. Las curvas corresponden al valor promedio de todos los ensayos de cada muestra. En el perfil general se observó un rápido aumento del diámetro durante los primeros minutos de horneado, por un incremento en la fluidez del sistema, debida a la fusión de la grasa y la disolución del azúcar. Alrededor de 5 a 6 minutos (102-104 °C) la viscosidad de las masas aumentó repentinamente, deteniendo la

expansión, momento a partir del cual las piezas de galletitas mostraron una pequeña contracción en el diámetro. Con respecto a la altura, se observó un incremento lineal hasta 5 minutos aproximadamente, seguido de un colapso de la estructura. Estos resultados coinciden con los observados en el Capítulo anterior y con los informados por otros autores (Miller y Hosney 1997b). En general se puede decir que la incorporación de las fibras alimentarias no modificó la forma de las curvas, sin embargo algunas muestras presentaron diferencias en los valores de los parámetros analizados (Tabla 4.VIII).

El incremento repentino de la viscosidad de la masa se relaciona con las proteínas de la harina, ya que como se mencionó anteriormente, en este tipo de productos no se produce una extensiva gelatinización del almidón. Doescher y Hosney (1985) estudiaron el efecto de distintos tipos de azúcar sobre ciertos parámetros de calidad de las galletitas dulces. Ellos sostienen que durante el calentamiento, la masa fluye hasta que la proteína pasa por una transición vítrea aparente, adquiriendo mayor movilidad, lo que les permite formar una fase continua o red. Como resultado de esto, la movilidad del agua disminuye y la viscosidad de la masa aumenta, deteniendo la expansión. Por otro lado Louise Slade, Levine y Finley (1989) estudiaron el efecto del agua como plastificante del gluten y otros polímeros. Estos autores, sugirieron que las masas de galletitas formuladas con harinas de baja calidad presentan una expansión elástica seguida de una contracción por encima de la  $T_g$ , debido a la pérdida de humedad del almidón y los geles de proteína.

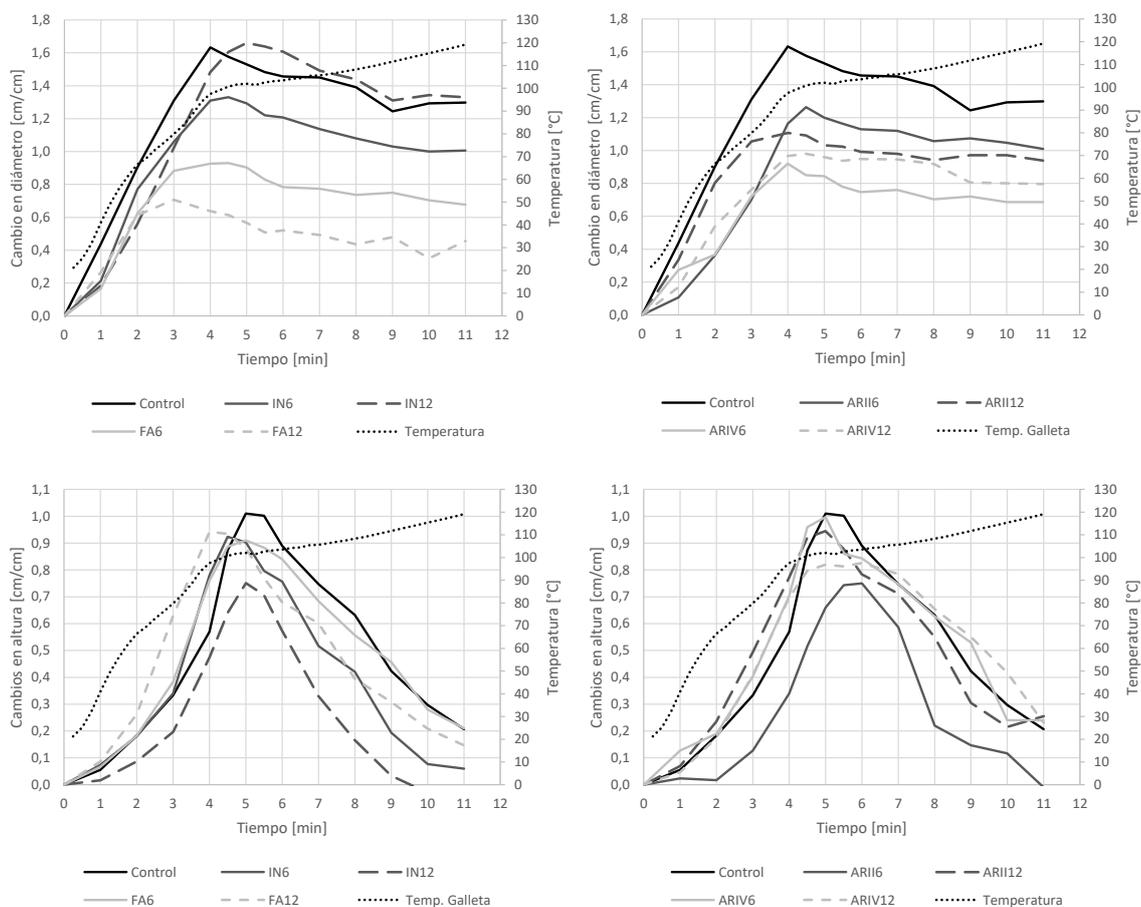


Figura 4.19. Efecto de la incorporación de fibra sobre la evolución del diámetro y la altura de las galletitas durante el horneado. El diámetro se expresa como cambio en el diámetro (diámetro al tiempo  $t$  – diámetro inicial) y la altura como cambio en la altura (altura al tiempo  $t$  – altura inicial). IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 hacen referencia al nivel de incorporación de fibra.

El diámetro máximo relaciona la calidad del producto final con la contracción elástica que sufre la pieza en los últimos minutos de horneado, es decir con la elasticidad de la masa. Los valores del diámetro máximo alcanzado en el horno oscilaron entre 5,5 cm (FA12) y 6,56 cm (IN12). Las muestras con el máximo nivel de incorporación de inulina fueron similares al control (6,5 cm). El resto de las muestras presentaron valores significativamente menores (Tabla 4.VIII).

El tiempo de fijación es un parámetro importante, ya que se ha comprobado que mientras más tiempo se expanda la pieza en el horno, mayor es el diámetro final y mejor es la calidad resultante de la galletita, dado que el diámetro final está controlado por la velocidad de expansión y por el tiempo de fijación (Hoseney y Rogers 1994; Miller y Hoseney 1997a). Este parámetro presentó valores desde 3,0 min (FA12) hasta 5,20 min (IN12), donde solo las muestras IN12 y FA12 fueron diferentes al control (4,3 min). Con respecto a la temperatura de fijación, las

muestras FA12 (79,9 °C) y ARII12 (89 °C) resultaron menores que el control (99 °C), mientras que el resto no presentó diferencias. Cabe aclarar que la metodología utilizada para obtener estos parámetros tuvo un gran error asociado, razón por la cual muchas veces no se observaron las diferencias entre las muestras.

Con respecto a la altura de las piezas, los valores oscilaron entre 1,8 cm (IN12) y 1,93 cm (ARIV6), sin embargo ninguna muestra fue diferente al control (1,9 cm). El colapso tampoco presentó diferencias significativas entre las muestras y el control, aunque los valores más altos nuevamente fueron observados para las muestras con IN.

En base a los valores de los parámetros obtenidos en este ensayo, se puede afirmar que las masas con inulina presentaron mayor capacidad de expansión que la formulación control, ya que se expande durante más tiempo, alcanzando un mayor diámetro máximo y su altura máxima y final son menores (mayor colapso). Por otro lado, la fibra de avena presentó menor expansión, por fijar su estructura más temprano en el horneado.

Los almidones resistentes mostraron comportamientos similares al control, aunque la expansión fue menor en ambos casos y con los dos niveles de reemplazo. Esto también se relaciona con el comportamiento reológico, ya que  $G'$  y  $G''$  de las masas fue semejante al control, hasta la mitad del ensayo, momento en el cual ambos módulos aumentaron resultado en una mayor consistencia final. Los valores de  $\text{Tan } \delta$  final de las muestras de ambos almidones fueron significativamente mayores que el control, por lo que resulta lógico que estas masas se hayan expandido en menor proporción en el horno.

Tabla 4.VIII. Parámetros de expansión en el horneado. DM: diámetro máximo; TF: tiempo de fijación; T°F: temperatura de fijación; AM: altura máxima. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Muestra	DM [cm]	TF [min]	T°F [°C]	AM [cm]	Colapso [cm]
Control	6,5 ± 0,7 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,4 <sup>bc</sup>	99 ± 2 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,1 <sup>ab</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>ab</sup>
IN6	6,2 ± 0,1 <sup>ab</sup>	4,5 ± 0,4 <sup>abc</sup>	100 ± 2 <sup>a</sup>	1,90 ± 0,04 <sup>ab</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>b</sup>
IN12	6,56 ± 0,01 <sup>a</sup>	5,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	102,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>b</sup>
FA6	5,6 ± 0,2 <sup>cd</sup>	4,2 ± 0,3 <sup>bc</sup>	99 ± 2 <sup>a</sup>	1,90 ± 0,09 <sup>ab</sup>	0,71 ± 0,09 <sup>a</sup>
FA12	5,5 ± 0,1 <sup>d</sup>	3,0 ± 0,0 <sup>d</sup>	79,9 ± 0,0 <sup>c</sup>	1,91 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,79 ± 0,05 <sup>ab</sup>
ARII6	6,1 ± 0,2 <sup>b</sup>	4,5 ± 0,3 <sup>abc</sup>	101,2 ± 0,7 <sup>a</sup>	1,78 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,77 ± 0,04 <sup>ab</sup>
ARII12	5,9 ± 0,1 <sup>bc</sup>	3,8 ± 0,7 <sup>bc</sup>	89 ± 13 <sup>b</sup>	1,9 ± 0,1 <sup>ab</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>ab</sup>
ARIV6	5,9 ± 0,7 <sup>bc</sup>	4,3 ± 0,6 <sup>bc</sup>	99 ± 3 <sup>a</sup>	1,93 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,76 ± 0,06 <sup>ab</sup>
ARIV12	5,8 ± 0,1 <sup>bc</sup>	4,6 ± 0,5 <sup>abc</sup>	100 ± 2 <sup>a</sup>	1,84 ± 0,07 <sup>ab</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>a</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

## Evaluación de las galletitas

### Factor galletita

En la Tabla 4.IX se informan los valores obtenidos de factor galletita, el porcentaje del FG con respecto al control, el diámetro y la altura de todas muestras. Los valores de FG oscilaron entre 6,8 (IN12) y 4,4 (FA12) y solo las muestras con incorporación de inulina y fibra de avena (en ambos niveles) fueron significativamente diferentes del control (5,0). En general los almidones resistentes mostraron un leve incremento de FG con el 6% y una leve disminución con el 12% de incorporación, aunque no se observaron diferencias estadísticas con el control. La sustitución de harina de trigo por 12% de IN, resultó en un incremento del FG de 36,31%, mientras que la incorporación de FA disminuyó este parámetro en un 11,67%.

El parámetro más afectado fue la altura de las piezas, donde solo con la inulina se observó disminución (de 20% en la muestra IN12), mientras que las galletitas FA6 y ARIV12 mostraron un aumento (8,4 y 9,3%, respectivamente), con respecto al control. El resto de las muestras no presentaron diferencias significativas con el control. Con respecto al diámetro de las piezas, solo la incorporación de IN y de FA mostraron diferencias progresivas y significativas, donde IN incrementó el valor hasta 8,0% (IN12) y FA lo redujo hasta 7,6% menos que el control (FA12).

Esto resultados son consistentes con el comportamiento de las masas durante el horneado. Tal como se esperaba, el diámetro máximo de las masas alcanzado en el horno presentó una correlación positiva con el diámetro de las galletitas ( $r=0,86$ ;  $p<0,01$ ). También se observó correlación positiva entre el FG y el colapso de las piezas al final del proceso de horneado ( $r=0,79$ ;  $p=0,01$ ).

Los resultados obtenidos coinciden con lo esperado, ya que en los ensayos previos se observó que la incorporación de IN incrementa la fluidez del sistema durante el calentamiento, permitiendo una mayor expansión de las piezas en la placa de horneado y dando como resultado galletitas de mejor calidad. Por otro lado, la FA aumenta la viscosidad del sistema, lo que limita la expansión de las masas, por lo que las galletitas presentan menor diámetro y mayor altura. Los almidones resistentes no produjeron grandes modificaciones en las propiedades reológicas, por lo tanto es esperable que las galletitas no difieran significativamente con el control.

Tabla 4.IX. Parámetros de calidad de las galletitas. %C: % del Factor galletita con respecto al control. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Muestra	Factor galletita	%C	Diámetro [cm]	Altura [cm]
Control	5,0 ± 0,2 <sup>c</sup>	-	5,6 ± 0,1 <sup>cd</sup>	1,13 ± 0,03 <sup>b</sup>
IN6	5,5 ± 0,2 <sup>b</sup>	11,18	5,8 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,05 ± 0,03 <sup>c</sup>
IN12	6,8 ± 0,5 <sup>a</sup>	36,31	6,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,90 ± 0,05 <sup>d</sup>
FA6	4,4 ± 0,1 <sup>d</sup>	-12,19	5,35 ± 0,03 <sup>e</sup>	1,22 ± 0,03 <sup>a</sup>
FA12	4,4 ± 0,2 <sup>d</sup>	-11,67	5,19 ± 0,02 <sup>f</sup>	1,18 ± 0,05 <sup>ab</sup>
ARII6	5,1 ± 0,1 <sup>bc</sup>	2,68	5,65 ± 0,05 <sup>c</sup>	1,10 ± 0,02 <sup>bc</sup>
ARII12	4,51 ± 0,06 <sup>cd</sup>	-9,43	5,51 ± 0,03 <sup>cd</sup>	1,23 ± 0,03 <sup>ab</sup>
ARIV6	5,14 ± 0,08 <sup>bc</sup>	3,34	5,57 ± 0,05 <sup>cd</sup>	1,08 ± 0,01 <sup>bc</sup>
ARIV12	4,5 ± 0,1 <sup>cd</sup>	-10,27	5,5 ± 0,08 <sup>d</sup>	1,23 ± 0,02 <sup>a</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### Color

Como se mencionó en el Capítulo anterior, por encima de los 100 °C los azúcares reductores reaccionan con los grupos amino de las proteínas para producir pigmentos oscuros llamados melanoidinas (Manley, 2000). Por otro lado, a la temperatura de horneado se produce caramelización de la sacarosa en la superficie de las galletitas, contribuyendo a la coloración.

En la Tabla 4.X se informan los valores de los tres parámetros de color obtenidos. La luminosidad ( $L^*$ ) presentó valores entre 65,5 (IN12) y 75 (ARIV12), donde solo las galletitas FA6, FA12 y ARII6 fueron estadísticamente iguales al control (68,9). El parámetro  $a^*$  presentó valores positivos en todas las muestras, lo que indica una predominancia de los tonos rojos sobre los verdes. Los valores oscilaron entre 6,9 (ARIV12) y 9,8 (IN6) y solo ARIV6 y ambas galletitas con ARII fueron diferentes al control (8,8). Con respecto al parámetro  $b^*$ , presentó valores entre 30,3 (ARIV12) y 33,4 (FA12) y solo las galletitas IN12, FA12 y ARII12 mostraron diferencias con el control (30,9). Los valores positivos de  $b^*$  indican que hay predominancia de la tonalidad amarilla sobre la azul.

A partir de los valores de los parámetros de color se puede afirmar que las galletitas con incorporación de inulina presentaron tonalidad más marrón que el resto de las muestras, ya que son piezas más oscuras (menos luminosas) y con mayor coloración amarilla y roja. Esto se relacionó con la disminución en el espesor de las galletitas con inulina, ya que mientras más delgada es la pieza, más rápido se produce la coloración durante el horneado (Manley, 2000). Por otro lado, las galletitas con ARIV resultaron más pálidas que el resto, ya que mostraron los

mayores valores de L\*, a\* y b\*. Nuevamente, el incremento de estos parámetros se puede relacionar con la mayor altura que presentaron las galletitas con ARIV.

Como se mencionó en el Capítulo anterior, según León (1995) y P. Ribotta, León, Aguirre, y Beltramo (2002) las galletitas que presentan valores de L\* y b\* superiores a 55-57 y 20-22, respectivamente, son consideradas aceptables. En base a esto, todas las galletitas con incorporación de fibra (como también el control) son aceptables a nivel industrial.

Tabla 4.X. Parámetros de color de las galletitas. L\*: luminosidad; a\*: equilibrio entre el rojo y el verde; b\*: equilibrio entre el amarillo y el azul. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Muestra	L*	a*	b*
Control	68,9 ± 0,7 <sup>c</sup>	8,8 ± 0,2 <sup>bc</sup>	30,9 ± 0,8 <sup>de</sup>
IN6	66,5 ± 0,7 <sup>d</sup>	9,8 ± 0,7 <sup>a</sup>	31,9 ± 0,2 <sup>bcd</sup>
IN12	65,5 ± 0,8 <sup>d</sup>	9,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	33,0 ± 0,5 <sup>ab</sup>
FA6	69,5 ± 0,5 <sup>bc</sup>	7,8 ± 0,4 <sup>de</sup>	31,4 ± 0,6 <sup>cde</sup>
FA12	70,1 ± 0,7 <sup>bc</sup>	7,2 ± 0,3 <sup>e</sup>	33,4 ± 0,3 <sup>a</sup>
ARII6	71 ± 2 <sup>bc</sup>	8,4 ± 0,8 <sup>cd</sup>	31,4 ± 0,5 <sup>cde</sup>
ARII12	71,2 ± 0,7 <sup>b</sup>	8,7 ± 0,4 <sup>bcd</sup>	32,2 ± 0,5 <sup>abc</sup>
ARIV6	71 ± 1 <sup>b</sup>	8,6 ± 0,7 <sup>bcd</sup>	31 ± 1 <sup>cde</sup>
ARIV12	75 ± 1 <sup>a</sup>	6,9 ± 0,5 <sup>e</sup>	30,3 ± 0,7 <sup>e</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### Textura

La dureza de las galletitas fue evaluada mediante el ensayo de quiebre de tres puntas. Como se mencionó anteriormente, la dureza de la galletita depende en primer lugar de la resistencia y las dimensiones de la muestra (Bourne, 1993).

La FM presentó valores que oscilaron entre 51 N (IN12) y 128 N (FA12) y todas las muestras fueron diferentes al control (102 N) (Tabla 4.XI). La incorporación de FA incrementó gradualmente la dureza de las galletitas llegando a porcentajes de 25% sobre el control en el caso de FA12. El resto de las fibras disminuyó este parámetro y los valores más bajos se observaron en las piezas formuladas con IN, donde IN12 representó el 50% del valor del control. Con respecto a la Def, solo las muestras con FA y con IN (en ambos niveles de incorporación) presentaron diferencias estadísticas con el control (2,0 s). La IN disminuyó la deformabilidad al 59% del control, mientras que FA incrementó este parámetro hasta 160% (FA6). El esfuerzo de ruptura presentó valores entre 46 Pa (ARIV12) y 96 Pa (FA12) y todas las muestras, excepto FA6

presentaron diferencias estadísticas con el control (77,24 Pa). La incorporación de FA incrementó el  $\sigma$ , mientras que el resto de las fibras lo disminuyó.

Los bajos valores de FM, Def y  $\sigma$  observados en las galletitas con inulina indican que se quiebran sin deformación significativa, mostrando un alto grado de fragilidad. Esto se relaciona con el menor espesor que presentan las galletitas formuladas con esta fibra. Zoulias, Oreopoulou y Kounalaki (2002) estudiaron el efecto del reemplazo de grasa y azúcar en las galletitas dulces y observaron que cuando se reemplaza grasa por inulina, se produce un incremento de la dureza y de la fragilidad de las piezas, coincidiendo parcialmente con nuestros resultados. Sin embargo, esto resulta lógico, ya que una de las funciones de la grasa es suavizar la masa y retener el aire incorporado, función muy difícil de observar con los ingredientes sustitutos de la grasa. Esto resulta en una galletita más dura. En nuestro sistema no hubo reemplazo de grasa, por lo que la pieza presentó menor dureza (por el espesor reducido) y mayor fragilidad.

Las galletitas de FA con altos valores en todos los parámetros de dureza y el incremento en el espesor de las piezas indican que estas galletitas sufrieron un proceso de compresión además del quiebre durante el ensayo, lo que incrementó la fuerza de quiebre y disminuyó la fragilidad. La deformabilidad de estos productos puede estar relacionada con la humedad que presentan las piezas. Brennan, Jowitt y Williams (1974) investigaron el efecto del contenido de humedad en las propiedades mecánicas de las galletitas, mediante el ensayo de quiebre de tres puntos. Observaron una disminución en el esfuerzo de ruptura y un incremento de la deformabilidad cuando el contenido de humedad de las galletas era inferior al 4-5%. Por lo tanto, se determinó la humedad de cada una de las muestras, observándose valores que oscilaron entre 5,63% para el control y 4,97% para ARIV12, sin embargo no se observaron diferencias significativas. Esto indica que el comportamiento más compresible de las galletitas con FA se debió a su estructura y no a la cantidad de agua.

Las galletitas con ambos almidones resistentes presentaron la misma tendencia: FM y  $\sigma$  disminuyeron mientras que la Def se mantuvo constante. Como se mencionó anteriormente, estos almidones típicamente no gelatinizan a la temperatura alcanzada en el horno (Ratnayake y Jackson, 2008). Por lo tanto, dejan más agua disponible para que se produzca mayor hinchamiento del almidón de la harina. Esta mayor absorción de agua por parte del almidón nativo hace que la galletita resulte menos dura. Las galletitas ARII y ARIV presentaron mayor altura que el control, por lo que las diferencias en la textura fueron atribuidas a la hidratación del almidón.

Tabla 4.XI. Parámetros de textura de las galletitas. FM: fuerza máxima de quiebre. %FM: % de FM con respecto al control. Def: módulo de deformabilidad. %Def: % de Def con respecto al control.  $\sigma$ : Esfuerzo de ruptura. %  $\sigma$ : % de  $\sigma$  con respecto al control. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Muestra	FM [N]	%FM	Def [seg]	%Def	$\sigma$ [Pa]	% $\sigma$
Control	102 ± 11 <sup>c</sup>	0	2,0 ± 0,3 <sup>bc</sup>	0	77 ± 9 <sup>b</sup>	0
IN6	61 ± 8 <sup>f</sup>	-41	1,2 ± 0,1 <sup>d</sup>	-41	51 ± 6 <sup>de</sup>	-33
IN12	51 ± 10 <sup>g</sup>	-50	1,2 ± 0,2 <sup>d</sup>	-41	56 ± 11 <sup>d</sup>	-27
FA6	113 ± 13 <sup>b</sup>	10	3,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	60	77 ± 9 <sup>b</sup>	-1
FA12	128 ± 12 <sup>a</sup>	25	3,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	49	96 ± 9 <sup>a</sup>	24
ARII6	84 ± 7 <sup>d</sup>	-18	1,9 ± 0,3 <sup>c</sup>	-7	67 ± 6 <sup>c</sup>	-14
ARII12	80 ± 12 <sup>d</sup>	-22	1,9 ± 0,3 <sup>c</sup>	-8	57 ± 8 <sup>d</sup>	-26
ARIV6	84 ± 10 <sup>d</sup>	-18	2,2 ± 0,4 <sup>b</sup>	9	65 ± 8 <sup>c</sup>	-16
ARIV12	71 ± 9 <sup>e</sup>	-31	2,1 ± 0,5 <sup>bc</sup>	4	46 ± 6 <sup>e</sup>	-40

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### Estructura superficial

Como se mencionó en el Capítulo anterior, las grietas en la superficie de las galletitas se forman hacia el final del horneado y se deben a la evaporación del agua del sistema y al endurecimiento de la capa superior de las piezas por cristalización de la sacarosa. Es decir que la fracción del área de grieta (FAG) en la parte superficial de las galletitas depende en gran medida de la disponibilidad de agua en las masas.

La Figura 4.20 representa la FAG de todas las muestras. Solo las galletitas formuladas con inulina presentaron diferencias significativas con el control. La estructura superficial también se relaciona con la velocidad de expansión de las masas durante el proceso de horneado. Las muestras con inulina fueron las que más se expandieron y lo hicieron durante más tiempo, por lo tanto es esperable que su superficie sea más agrietada.

Louise Slade *et al.* (1993) asociaron el patrón de agrietamiento con el grado de colapso al final del horneado, y por lo tanto, al espesor de la galletita. En este trabajo se observó una correlación negativa entre FAG y el espesor de las galletitas ( $r = -0,85$ ;  $p < 0,01$ ) y una correlación positiva con el colapso de las piezas en el horno ( $r = 0,77$ ;  $p = 0,01$ ) y con el diámetro de las galletitas ( $r = 0,88$ ;  $p < 0,01$ ). Es decir que las galletitas que más se expandieron en el horno fueron las que presentaron mayor agrietamiento superficial y por lo tanto mejor calidad como producto.

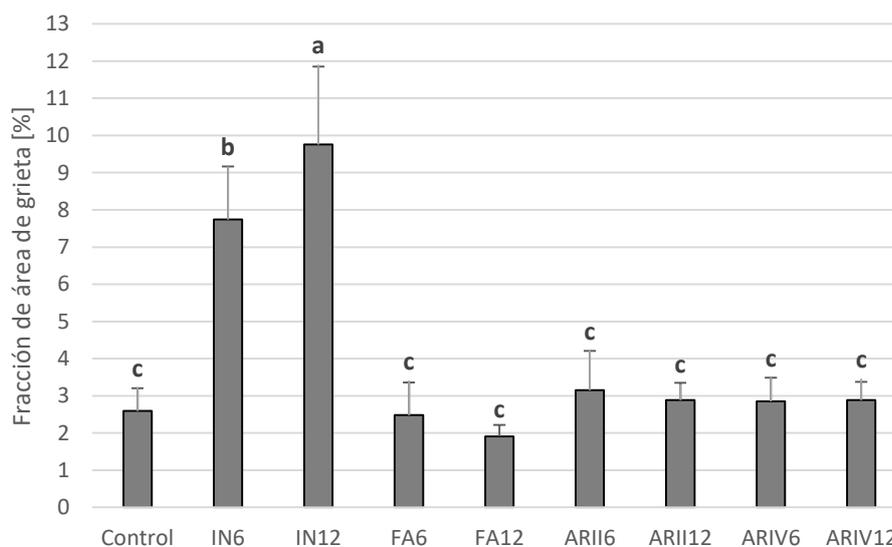


Figura 4.20. Fracción de área de grieta de la superficie de galletitas con incorporación de fibras alimentarias. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

#### Efecto de la incorporación de fibra alimentaria sobre la movilidad del agua

A partir de todos los resultados, se puede observar que la incorporación de ambos almidones resistentes no modificó sustancialmente el comportamiento de las masas ni la calidad de las galletitas, con respecto al control. Sin embargo, las masas elaboradas con inulina y fibra de avena mostraron un comportamiento térmico y reológico muy diferente, al igual que la calidad tecnológica del producto final. Se decidió estudiar la movilidad de agua del sistema, para corroborar si hay diferencias en la distribución de agua en las poblaciones de las masas elaboradas con fibras.

Las masas con inulina y con fibra de avena mostraron un comportamiento térmico diferente al del control y las masas con ARII y ARIV, pero similar entre sí, sugiriendo que la presencia de IN y FA cambia la distribución del agua entre los distintos componentes del sistema. Por otro lado, la masa con FA presentó mayor consistencia que el control y que el resto de las masas. Durante el horneado se observó que las piezas con IN presentaron mayor DM y fijaron su estructura casi un minuto más tarde que el control, mientras que la incorporación de FA tuvo el efecto contrario (menor DM y TF). Esto repercutió en la calidad del producto final. Estas diferencias sugieren que el comportamiento diferencial de IN y de FA puede estar relacionado con cambios en la distribución del agua entre los distintos componentes del sistema.

Se analizaron las secuencias FID de todas las muestras y se observaron resultados similares a los mostrados en el Capítulo 3, donde se vieron dos poblaciones de protones: una con tiempo de relajación más corto (A), que se relacionó a protones asociados a los grupos CH, COH, COOH, etc. del almidón y proteínas de la harina de trigo. Mientras que la segunda población (B) presentó mayor tiempo de relajación y se asoció a protones de moléculas de agua y componentes en interacción con el agua, que representan la parte móvil de la señal.

Para conocer la dinámica del agua dentro de las masas, se aplicó la secuencia CPMG. Al igual que lo observado en el Capítulo anterior y en concordancia con lo informado por Assifaoui *et al.*, (2006), se observaron tres poblaciones, que corresponden a agua que interactúa con los protones del almidón y otros compuestos hidrofílicos (C), agua intergranular que interactúa con sacarosa, almidón y protones de proteínas (D) y grasa (E' y E). Los tiempos de relajación medidos con la secuencia CPMG fueron más sensibles a la incorporación de fibra que la secuencia FID.

Luego de realizar ensayos preliminares, se decidió avanzar solo con el estudio de las masas con IN y FA (dado el tiempo y recursos requeridos para este estudio), ya que las masas con ambos almidones resistentes no presentaron diferencias con el control. En la Figura 4.21 se muestra la evolución de los tiempos de relajación de las cuatro poblaciones con la temperatura de las masas con incorporación de IN y FA sobre los datos de la masa control (en línea punteada). Como se describió en el capítulo anterior para la masa control, la población C no presentó grandes variaciones durante el calentamiento, manteniéndose relativamente constante. La población D (representada por una sola gaussiana a temperatura ambiente) se separó entre 40 y 60 °C en dos poblaciones con diferentes movilidades (D y D'), mientras que E constó de dos poblaciones (E' y E) hasta que a alrededor de 47 °C (temperatura de fusión de la grasa) convergieron en una sola.

La incorporación de 12% de inulina (Figura 4.21a) no presentó diferencias en el comportamiento de la población C, coincidiendo en gran medida con la masa control. Las poblaciones E convergieron en una sola, a una menor temperatura que la masa control, aunque su evolución fue muy similar a la de la masa control. Las mayores diferencias se vieron en la población D: la temperatura de separación ( $T_s$ ) se produjo a menor temperatura (3 °C menos) y la movilidad final de ambas poblaciones D y D' fue mayor que en la masa control. Esto implica que la masa con inulina dispone de una fracción de agua con mayor movilidad a menor temperatura durante el horneado.

Sorprendentemente la incorporación de fibra de avena siguió la misma distribución de  $T_2$  que la masa control a temperatura ambiente (Figura 4.21b). Sin embargo,  $T_s$  se incrementó en aproximadamente 10 °C con respecto a las otras formulaciones, retardando el incremento

de la movilidad de esta fracción de agua. La verdadera naturaleza del origen de la población D' aún no ha sido bien establecida.

Estos resultados confirman que el comportamiento de la población D (atribuida a agua más móvil) está relacionado con la solubilidad y capacidad de retención de agua de los componentes de la masa de las galletitas. Por otro lado, la temperatura a la que se produce la separación de esta población, parece estar relacionada con la expansión de la masa durante el horneado. La masa con IN dispone de una fracción de agua con mayor movilidad a menor temperatura que el control, incrementando la fase móvil y prolongando la expansión, mientras que en la masa con FA, esta fracción más móvil se separa más tarde, cuando probablemente la pieza ya no puede crecer más en diámetro.

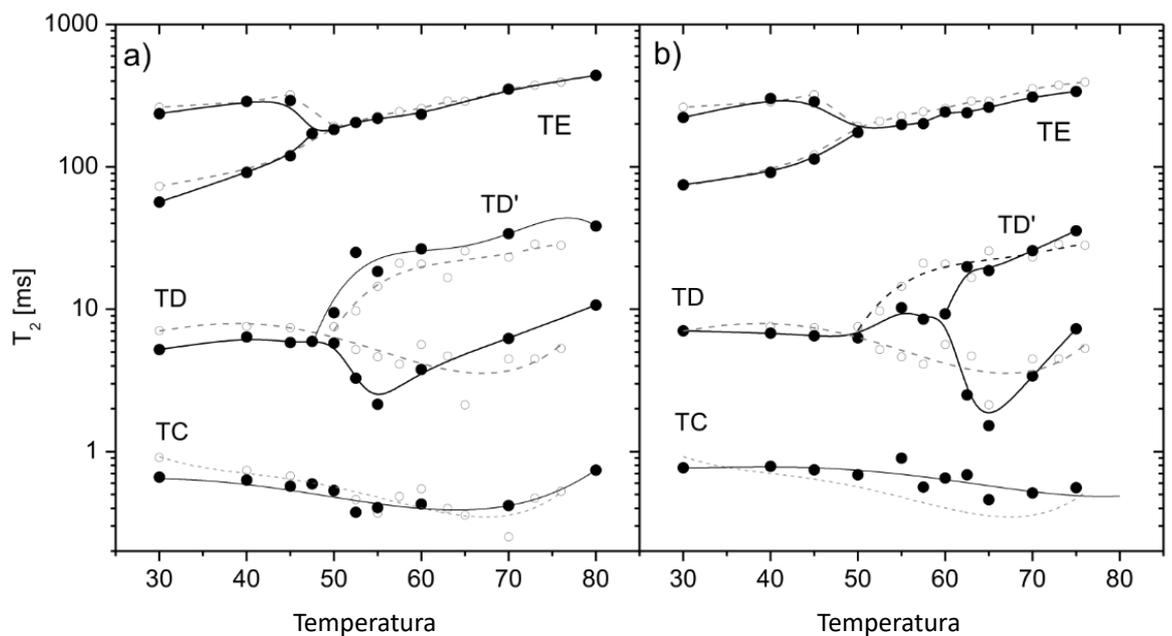


Figura 4.21. Evolución de los tiempos de relajación  $T_2$  con la temperatura para las masas con 12 g de inulina (a) y 12 g de fibra de avena (b). El control se muestra en línea punteada.

#### Experimentos 2D.

En la Figura 4.22 se muestran los espectros  $T_1$ - $T_2$  o ensayo 2D de las masas y galletitas horneadas de las muestras control y con incorporación de 12% de IN, FA, ARII y ARIV donde la diagonal  $T_1 = T_2$  corresponde a la dinámica de líquidos isotrópicos. Al analizar dos dimensiones (dos tiempos de relajación distintos) se puede apreciar que cada una de las poblaciones analizadas en el ensayo anterior está conformada por más de una población.

Con respecto a la masa control (Figura 4.22a), se pudo observar que las poblaciones de grasa con mayor movilidad (E), se ubicaron en la diagonal  $T_1 = 1,6T_2$  y se resolvieron en tres contribuciones diferentes. La población D, correspondiente a las moléculas de agua móvil, también se pudo resolver en tres distintas poblaciones que presentaron un valor común de  $T_1 = 60$  ms, con las siguientes relaciones de relajación:  $T_1 = 4T_2$ ;  $T_1 = 6,7T_2$  y  $T_1 = 24T_2$ . Finalmente, las moléculas de agua relacionadas a los componentes hidrofílicos cayeron al lado de la diagonal  $T_1 = 70T_2$ , aun cuando el tiempo de relajación *spin-red* fue más alto:  $T_1 = 70$  ms. La masa con incorporación de inulina (Figura 4.22b) no mostró cambios con respecto a la masa control en ninguna de las poblaciones. Un cambio menor se observó para la masa de FA en la población C (Figura 4.22c), donde la relación  $T_1/T_2$  disminuyó con respecto a las demás muestras. Estos valores particulares dependen del campo magnético en el que se realizó el experimento. Por ejemplo, se observó que a 300 MHz,  $T_1$  cambia a valores mayores para todas las poblaciones. Por otro lado, el  $T_2$  de las poblaciones E aumentó con el campo magnético, mientras que C y D disminuyeron, dando lugar a un conjunto de relaciones  $T_1/T_2$  completamente diferentes. La disminución en  $T_2$  se debe al fuerte gradiente de campo interno creado por una diferencia de susceptibilidad magnética que surge debido a cambios en la composición de las muestras (B. P. Hills, 2006).

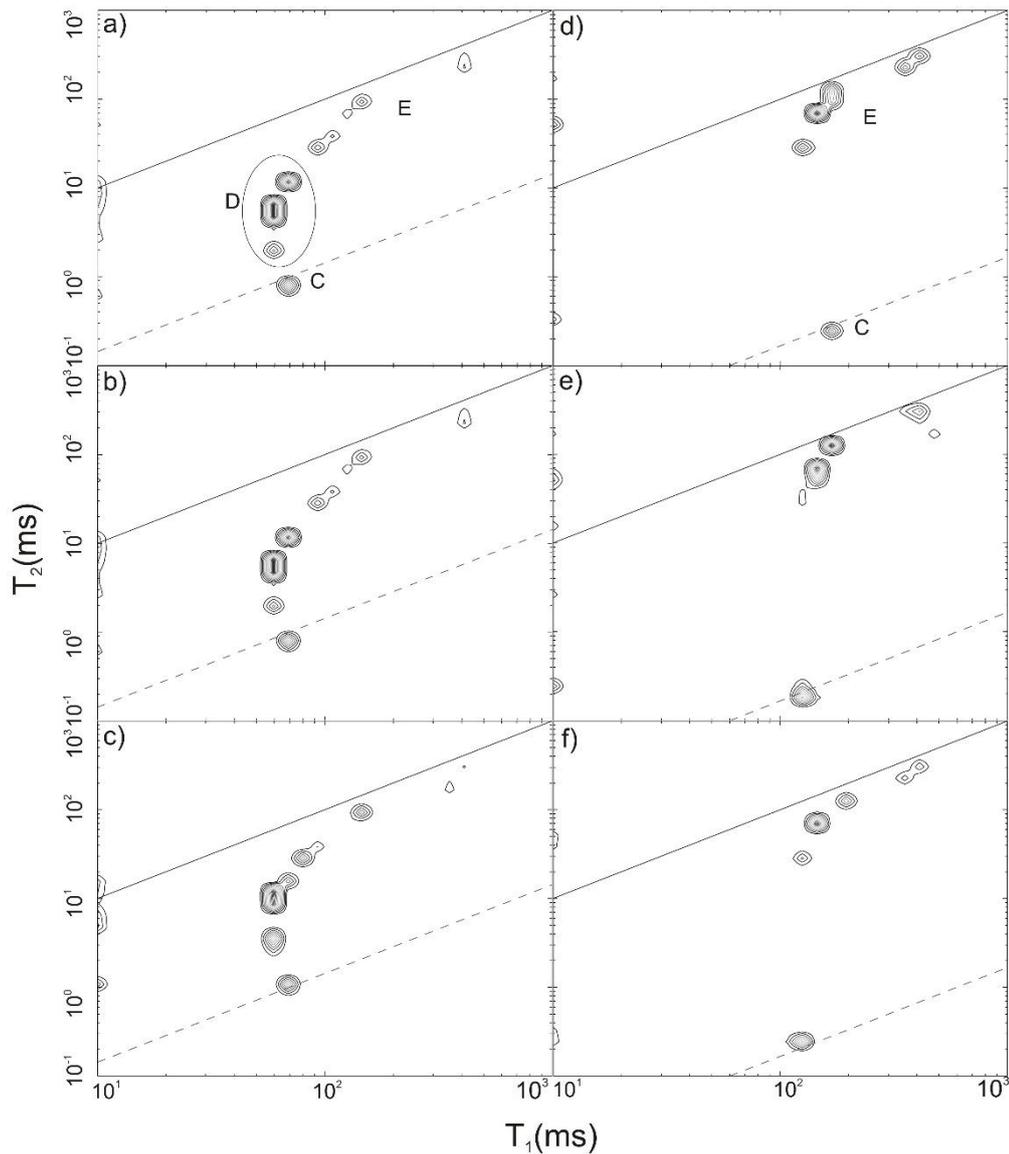


Figura 4.22. Espectro de  $T_2$  vs.  $T_1$  perteneciente a la masa control (a), masa con inulina (b), con fibra de avena (c) y sus correspondientes muestras horneadas (d-f). La línea completa corresponde a la diagonal  $T_1 = T_2$ , mientras que la línea punteada representa  $T_1 = 70 T_2$  (a-c) y  $T_1 = 600 T_2$  (d-f). C= agua en contacto con componentes sólidos, D=población de agua más móvil, E=población correspondientes a margarina.

Para las muestras de galletitas (Figuras 4.22d-f) las poblaciones D no se visualizaron en los experimentos 2D, sin embargo una proyección de los ejes mostró dos poblaciones menores. En el caso de las galletitas con IN y FA, las poblaciones C y E cambiaron hacia menores valores de  $T_1$ . Centramos nuestra atención en la población C. Se presentó un cambio considerable de la relación  $T_1/T_2$ . En la Figura 4.22d-f se dibujó la línea de la diagonal  $T_1 = 600 T_2$ . Para la galleta control (Fig. 4.24d) la población C cambió a  $T_1 = 700 T_2$ , para la galleta con inulina a  $T_1 = 630 T_2$  (Fig. 24e), mientras que para la de fibra de avena la población C cambió a  $T_1 = 520 T_2$  (Fig. 24f).

Probablemente, esta diferencia se debe a que hay una gran interacción del agua con los grupos oxhidrilos del almidón, proteínas y pentosanos de la harina en la muestra control, mientras que en las galletitas con IN y FA, al haber menor cantidad de harina, los valores de  $T_2$  de la población C disminuyen. Previamente se ha sugerido que no hay intercambio de agua entre diferentes entornos y este tipo de agua (Luyts, *et al.*, 2013).

Para estas moléculas de agua altamente unidas, la relajación se debe no solo a la inactivación de la rotación y desplazamiento molecular, sino también a intercambios químicos entre los grupos oxhidrilos del agua. Además, el área de la población C en ambas galletitas IN y FA es el doble que en la galleta control. Esto indica que en el estado final hay incremento en el agua con baja movilidad en contacto con componentes hidrofílicos, debido a la presencia de las fibras.

Los resultados obtenidos mediante RMN coinciden con el comportamiento reológico de las masas durante el calentamiento y con los cambios en las dimensiones de las piezas durante el proceso de horneado. La incorporación de inulina incrementó los valores de  $G'$  y  $G''$  con respecto al control cuando aumentó la temperatura, sin embargo el resultado final del barrido de frecuencia indicó que la consistencia de las muestras de IN fue similar al control. Cabe destacar que los ensayos reológicos se realizan hasta 100 °C y a alrededor de esta temperatura en la que se produce la fijación en la expansión las masas, por lo tanto los ensayos de viscoelasticidad se relacionan a la primera parte del horneado, en la que se produce la expansión de las masas. Los resultados de RMN fueron consistentes con esto, ya que se observó que la población de agua más móvil se dividió en dos a menor temperatura que el control. Esto podría resultar en una lubricación extra en el momento que la masa aún no ha fijado su estructura, permitiendo que la pieza pueda continuar expandiéndose durante más tiempo, lo que se traduce en una mayor capacidad de expansión. También está en concordancia con el corrimiento de la  $\tan \delta$  máxima (mayor comportamiento viscoso/elástico) hacia menores temperaturas con respecto a la masa control. Por otro lado, la  $\tan \delta$  final de las masas con inulina presentó mayores valores que el resto de las muestras, lo que indica que a ~100°C estas masas tienen comportamiento más viscoso/elástico que el resto. Estos resultados pueden deberse a que la inulina, al ser una fibra soluble, presentó un efecto similar a la sacarosa, contribuyendo a la fase móvil. Juszczak *et al.* (2012) concluyeron en sus resultados que la inulina HP incrementa la temperatura de todos los eventos térmicos de las masas libres de gluten. Estos autores, en concordancia con Peressini y Sensidoni (2009), postularon que los efectos que presenta la inulina con alto grado de polimerización (HP) se debe a interacciones entre moléculas de inulina, entre las cuales puede quedar agua ocluida. Estas moléculas de agua podrían liberarse ante un esfuerzo mecánico o por efecto del calor, incrementando la movilidad del sistema. En el caso de

la FA la población de agua más móvil se separó 10 °C después que el control, momento en el cual probablemente su estructura ya había sido fijada y la masa ya no fue capaz de expandirse o lo hizo en una menor proporción. En los barridos de temperatura, se evidenció que la consistencia de las masas formuladas con esta fibra resultaron significativamente superiores al control y al resto de las muestras, lo que también se relaciona con baja capacidad de expansión en la placa de horneado. Por otro lado, la  $Tan \delta$  máxima se produjo a temperaturas más bajas y además, el valor de la  $Tan \delta$  máxima fue el menor observado (en el caso de FA12), es decir que la masa con fibra de avena fue la que presentó menor comportamiento líquido. Esto, puede deberse a que esta fibra presenta una retención de agua similar a la harina de trigo, pero su solubilidad es muy baja, por lo que no contribuye a la fase líquida.

### **Caracterización química de las galletitas**

#### **Contenido de fibra alimentaria total**

La galletita control (sin incorporación de fibra) presentó bajos valores de fibra alimentaria total (FAT) (1,29 g/100 g de galletitas) y todas las muestras fueron estadísticamente diferentes al control (Tabla 4.XII). Los valores más altos fueron observados en las muestras FA12 (12,1 g de fibra/100 g de galletitas) e IN12 (11,09 g de inulina/100 g de galletitas), seguido por los almidones resistentes con 10,7 g de fibra /100 g de galletitas para ARIV y 9,9 g de fibra /100 g de galletitas para ARII. Como se esperaba, las galletitas con 6 g de fibra resultaron en valores intermedios entre las de 12 g y el control.

Como se mencionó en la Introducción, un alimento es considerado como fuente de fibra alimentaria cuando tiene 3 g de fibra /100 o cuando representa el 10% del valor diario de referencia por porción, y como alto en fibra cuando tiene 6 g de fibra /100 o representa el 20% del valor diario de referencia por porción (FAO/WHO, 1998). Considerando un valor de referencia nutricional de fibra alimentaria de 25 g/día, dos porciones de galletita representan entre 3,3 g (ARII6) y 7,3 g (FA12), comprendiendo el 13 y 29 % del valor diario de referencia (considerando una porción de 30 g), respectivamente.

Tabla 4.XII. Contenido de fibra alimentaria total de las galletitas. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación. (\*) valores determinados por HPLC.

Muestra	Fibra alimentaria total (g/100 g galletita)		
Control	1,29	±	0,02
IN6	*6,1	±	0,2
IN12	*11,09	±	0,08
FA6	6,76	±	0,08
FA12	12,1	±	0,8
ARII6	5,5	±	0,4
ARII12	9,9	±	0,3
ARIV6	6,2	±	0,1
ARIV12	10,7	±	0,4

### Evaluación sensorial

En la Tabla 4.XIII y Figura 4.23 se muestran los valores promedio de cada uno de los atributos evaluados por los jueces. Se observaron diferentes tendencias en los atributos según la fibra utilizada en la formulación. La galletita IN12 fue percibida como más dura (4,6) que el control (3,5), mientras que FA12 (3) y ARIV12 (2,7) fueron las que presentaron menor valor. El resto de las muestras fueron estadísticamente iguales al control. Sorpresivamente, las muestras con IN y FA mostraron una tendencia inversa a la medida instrumentalmente, sin embargo no se observó correlación significativa. El módulo de deformabilidad y la altura de las piezas sí presentaron una correlación negativa con la dureza percibida ( $r = -0,73$ ;  $p = 0,02$  y  $r = -0,77$   $p = 0,01$ , respectivamente). Es decir que los jueces percibieron como más duras a las galletitas menos frágiles y más delgadas.

Con respecto a la crujencia, solo se observaron diferencias estadísticas en las muestras con FA con ambos niveles de incorporación, que presentaron valores más bajos. Tal como se esperaba, este parámetro correlacionó negativamente con Def ( $r = -0,82$ ;  $p < 0,01$ ), indicando que las galletitas más frágiles fueron percibidas como más crujientes. También se observó correlación negativa con fuerza máxima de quiebre ( $r = -0,75$ ;  $p = 0,02$ ) y positiva con la dureza percibida por los jueces ( $r = 0,72$ ;  $p = 0,02$ ). Es decir que el panel percibió a las galletitas con FA como menos duras y más gomosas, coincidiendo con lo medido instrumentalmente.

Las muestras IN12 (4) fueron percibidas como más dulces que el control, mientras que la incorporación del resto de las fibras no presentó diferencias estadísticas. La cantidad de sacarosa en todas las formulaciones fue constante, sin embargo, esta diferencia puede deberse

a que durante el horneado, la inulina puede sufrir una degradación parcial y de esta manera incrementar el sabor dulce de las galletitas.

Tanto la palatabilidad como la masticabilidad y granulosidad no presentaron diferencias significativas entre las muestras. Con respecto a la palatabilidad, el resultado coincide con lo esperado, ya que todas las muestras contienen la misma cantidad de grasa, por lo que la sensación grasa percibida en el paladar luego de tragar no debería variar de muestra en muestra.

Tabla 4.XIII. Atributos sensoriales de galletitas enriquecidas con fibra. C: control. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 y 12 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Muestra	Dureza	Crujencia	Gusto dulce	Palatabilidad	Masticabilidad	Granulosidad
C	3,8 ± 0,4 <sup>ab</sup>	3,8 ± 0,4 <sup>ab</sup>	3,4 ± 0,5 <sup>bcd</sup>	3,9 ± 0,5 <sup>ab</sup>	3,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,4 <sup>ab</sup>
IN6	3,9 ± 0,6 <sup>ab</sup>	3,6 ± 0,2 <sup>abc</sup>	3,9 ± 0,7 <sup>ab</sup>	3,8 ± 0,9 <sup>ab</sup>	3,6 ± 0,9 <sup>a</sup>	3 ± 1 <sup>ab</sup>
IN12	4,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	4 ± 1 <sup>a</sup>	4 ± 1 <sup>ab</sup>	4 ± 1 <sup>a</sup>	3 ± 1 <sup>ab</sup>
FA6	3,1 ± 0,9 <sup>cd</sup>	3 ± 1 <sup>d</sup>	3,4 ± 0,8 <sup>bcd</sup>	4 ± 1 <sup>ab</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>	3,3 ± 0,8 <sup>ab</sup>
FA12	3 ± 1 <sup>d</sup>	2,3 ± 0,6 <sup>e</sup>	3 ± 1 <sup>cd</sup>	3 ± 1 <sup>b</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>	3 ± 1 <sup>ab</sup>
ARII6	3,1 ± 0,9 <sup>ab</sup>	4 ± 1 <sup>ab</sup>	3,8 ± 0,9 <sup>bc</sup>	4 ± 1 <sup>ab</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>	4 ± 1 <sup>a</sup>
ARII12	3,6 ± 0,6 <sup>bc</sup>	3,9 ± 0,7 <sup>a</sup>	3 ± 1 <sup>bcd</sup>	3,2 ± 0,8 <sup>b</sup>	3,2 ± 0,7 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,6 <sup>a</sup>
ARIV6	3 ± 1 <sup>cd</sup>	3,3 ± 0,9 <sup>bcd</sup>	4 ± 1 <sup>ab</sup>	4 ± 1 <sup>a</sup>	3,4 ± 0,9 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,8 <sup>ab</sup>
ARIV12	2,7 ± 0,9 <sup>d</sup>	3,0 ± 0,7 <sup>cd</sup>	3,0 ± 0,8 <sup>d</sup>	3,19 ± 0,99 <sup>b</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>	2,9 ± 0,9 <sup>b</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

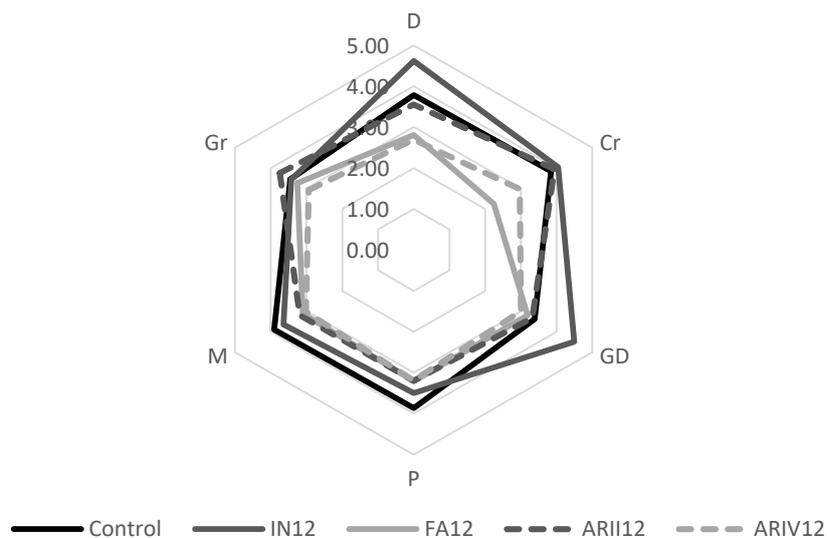


Figura 4.23. Atributos sensoriales de galletitas enriquecidas con fibra. D: dureza. Cr: crujencia. GD: gusto dulce. P: palatabilidad. M: masticabilidad. Gr: granulosidad. C: control. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 12 indica la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

Con el objetivo de conocer las preferencias del panel, se llevó a cabo un test de preferencia (Figura 4.24) en el que se evaluó la apariencia, la textura y el sabor. Este test se llevó a cabo solo con las muestras con el máximo nivel de fibra. Con respecto a la apariencia de las galletitas, la preferida fue IN12 (53 puntos), seguida por el control (49). El resto de las muestras recibieron menor puntaje (entre 39 y 32). En la textura también se observaron diferencias marcadas: el control (50 puntos) y la muestra ARII12 (48) fueron las elegidas como preferidas. Con respecto al sabor, IN12 (50) y ARII12 (51) tuvieron el mismo resultado que el control (50), indicando que a pesar de percibir diferencias en el dulzor, a los jueces les gustaron las galletitas de inulina tanto como el control.

Para resumir la preferencia en un solo parámetro, se hizo una suma algebraica de los puntajes que cada muestra obtuvo en el aspecto visual, textura y sabor (Figura 4.25). Se concluyó que los jueces prefirieron la muestra control (149 puntos), seguida por ARII12 (136) y por IN12 (131), con puntaje muy similar entre sí. Las muestras ARIV12 (101) y FA12 (99) fueron las menos elegidas. Las galletitas con ARIV y FA fueron percibidas como menos duras y crocantes, lo que resultó importante para los jueces al elegir la galletita preferida.

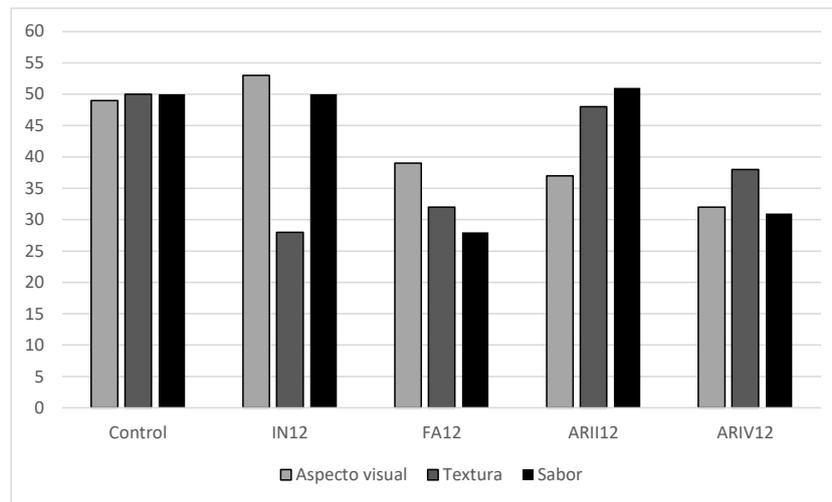


Figura 4.24. Test de preferencia en aspecto visual, textura y sabor de las galletitas. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 12 se refiere al % de fibra incorporado. 12 indica la cantidad de fibra incorporada a la formulación. Los valores se obtuvieron como la sumatoria de los puntajes asignados por cada juez.

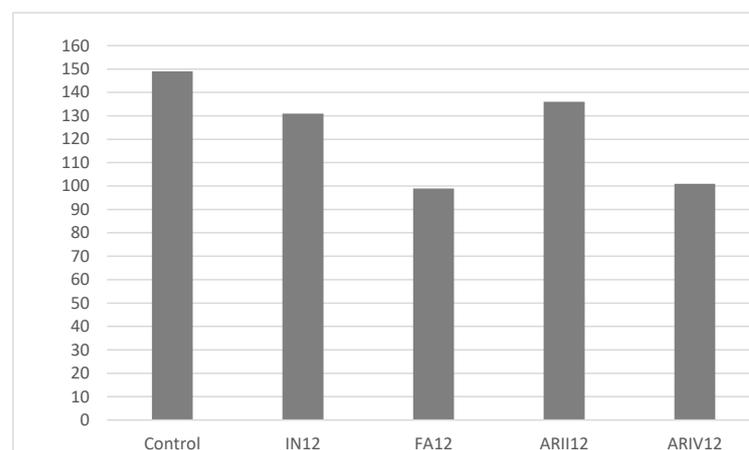


Figura 4.25. Preferencia general. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 12 se refiere al % de fibra incorporado. 12 indica la cantidad de fibra incorporada a la formulación. Los valores se obtuvieron como la sumatoria de los puntajes asignados por cada juez.

## Conclusión

A partir de los ensayos llevados a cabo en este Capítulo, podemos afirmar que la incorporación de fibra alimentaria cambia las propiedades reológicas de las masas, la calidad de las galletitas y sus características nutricionales y sensoriales. Sin embargo, el grado del efecto dependió del tipo de fibra utilizada y el nivel de sustitución de harina.

La incorporación de inulina impartió características particulares a la masa de galletitas que permitieron que la pieza se expanda durante más tiempo, ya que ocurre un rápido incremento en el comportamiento viscoso/elástico a menores temperaturas y tiempo en el proceso de horneado. Este efecto mejorador se debe a varios factores: por un lado, esta fibra es parcialmente soluble en agua, por lo que una parte se disuelve en la fase acuosa, contribuyendo a incrementar su volumen y de esta manera reduce la consistencia de la masa. La parte insoluble de la inulina se encuentra en forma de microcristales, cuando es hidratada y es capaz de formar parte de la matriz sólida. Estas estructuras capturan agua, compitiendo por ella con los constituyentes hidrofílicos presentes en la harina. Esta menor disponibilidad de agua en la masa, incrementa la consistencia, por lo tanto, el resultado neto de estos efectos es un balance entre ambos procesos, haciendo que las propiedades viscoelásticas de las masas no varíen significativamente a temperatura ambiente, en comparación con la masa control. Durante el calentamiento, los microcristales siguen reteniendo el agua ocluida y dejan una menor cantidad de agua disponible para que se hinchen los gránulos de almidón, por lo que la viscosidad de la masa fue menor a lo esperado, incrementando la fluidez del sistema y permitiendo que se expanda durante más tiempo. Esto se traduce en galletitas de mayor diámetro y mejores parámetros de calidad, con importante mejora nutricional, ya que el contenido de fibra es ocho veces mayor al de la galleta control. Estas diferencias estructurales de las galletitas con inulina se vieron reflejadas en la percepción del panel sensorial, ya que se observaron diferencias tanto en el aspecto visual como en la textura y en el sabor, y tuvieron gran aceptación.

Por otro lado, la fibra de avena mostró efectos negativos en la expansión y por lo tanto en la calidad de las piezas. Esta fibra es insoluble en agua y además presenta mayor capacidad de retención de agua que la harina de trigo por la que es parcialmente reemplazada. Esto significa que casi toda la fibra de avena incorporada forma parte de la matriz sólida, compitiendo con otros constituyentes por el agua disponible. Esto genera un gran incremento en la consistencia de la masa a temperatura ambiente. Durante el calentamiento, hay un aporte extra a la fracción móvil, sin embargo se produce una vez que la estructura de la galletita ya está fijada por lo que no contribuye a su expansión. Como resultado, se obtienen piezas de diámetro

reducido y gran espesor, con baja calidad. La baja calidad de las galletitas con fibra de avena se ven reflejadas en el análisis sensorial, donde tuvieron baja aceptación por parte de los jueces, quienes reflejaron importantes diferencias con el control. Por lo tanto, a pesar de presentar una mejora nutricional debido al incremento en el contenido de fibra, el comportamiento reológico diferente y la calidad nutricional, junto con la baja aceptabilidad por parte de los consumidores hacen que la incorporación de FA a nivel industrial sea poco conveniente.

Los almidones resistentes utilizados presentan propiedades de hidratación similares entre sí. La solubilidad en agua es menor a la harina pero retienen similar cantidad de agua. De esta manera, queda más agua disponible para los componentes hidrofílicos presentes en la harina de trigo, por lo que la consistencia de las masas a temperatura ambiente es ligeramente menor que el control. Típicamente, ambos almidones no gelatinizan a la temperatura alcanzada en el horno, por lo que dejan más agua disponible para el hinchamiento de los gránulos de almidón nativo, incrementando de esta manera la consistencia de la masa, pero solo hacia el final del horneado, por lo que afecta levemente la calidad de las galletitas. Esta escasa diferencia estructural se vio reflejada en las muestras con ARII, que presentaron poca diferencia con el control en los parámetros sensoriales, como también en la aceptación. Sin embargo, a pesar de las similitudes de ambas masas, las muestras con ARIV fueron percibidas de manera diferente al control y tuvieron menor aceptación.

A partir de la caracterización física de las cuatro fibras y su comportamiento en presencia de agua, se logró comprender el efecto de su incorporación sobre las propiedades reológicas y térmicas de las masas de galletitas y su relación con los cambios de las masas durante el proceso de horneado, que es lo que determina la calidad final del producto y la aceptación de los consumidores.

CAPÍTULO 5  
EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE  
INCORPORACIÓN DE INULINA EN  
MASAS Y GALLETITAS FORMULADAS  
CON DIFERENTES HARINAS

## Introducción

En el Capítulo 3 quedó bien establecida la problemática del uso de las harinas en la industria galletitera en la Argentina, como también las diferencias entre el trigo duro y trigo blando y las harinas obtenidas a partir de éstos.

Triticale (x *Triticosecale Wittmack*) es un cereal híbrido que resulta de la cruce entre el trigo (*Triticum* sp.) y el centeno (*Secale* sp.) y de allí su nombre (que corresponde a la mitad de cada uno de los parentales). Este cultivo es una alternativa para el consumo humano, ya que es más resistente a condiciones adversas que el cultivo de trigo y ha mostrado mayor resistencia a *Septoria tritici* (enfermedad provocada por el hongo ***Mycosphaerella graminicola***), lo que representa una ventaja en lugares donde existe esta enfermedad (como es el caso de Argentina, Brasil y la cuenca del Mediterráneo, entre otros) (Bushuk y Larter, 1980; Cimmyt, 1985; Varughese, 1991). Por otro lado, este cultivo ha mostrado una gran capacidad de adaptación a suelos ácidos (D. L. Liu, Helyar, Conyers, Fisher, y Poile, 2004; Morant-Manceau, Pradier, y Tremblin, 2004) y potencialmente en el ambiente mediterráneo (Santiveri, Royo, y Romagosa, 2002).

La composición química del grano de triticale guarda similitudes con la de trigo y centeno, con valores intermedios en muchos de los parámetros, además de poseer numerosas virtudes a nivel nutricional, herencia proveniente del centeno. Pese a que la calidad nutricional y la cantidad de proteínas de los mejores triticales son en algunos casos superiores a algunas variedades de trigo, este cultivo no está muy difundido debido a la falta de oportunidades para elaborar productos industriales (K. V. Cooper, 1985). En nuestro país no es un cultivo popular, aunque en 2001 se extendió a 35.000 ha, siendo la mayor superficie sembrada la región Oeste de la provincia de Buenos Aires y Este de la provincia de La Pampa (Encuesta Nacional Agropecuaria 2001). Este cultivo en Argentina se utiliza comúnmente como forraje, aunque existe evidencia de que las harinas derivadas de triticale podrían ser utilizadas en la elaboración de productos que no requieran un desarrollo de gluten tenaz, tales como las galletitas, tortas y bizcochos (Aguirre *et al.*, 2002; Leon *et al.*, 1996; R. Peña y Amaya, 1980; Pérez *et al.*, 2003; Ramírez, Pérez, Ribotta, y León, 2003; Rubiolo, Ferretti, Ribotta, Aguirre, y León, 1998; Tsen, 1974). Esto se debe a la presencia de determinadas fracciones de proteínas, contenido de pentosanos y porcentaje de almidón dañado, componentes asociados con la capacidad de retener agua de una harina (Leon *et al.*, 1996; Roccia *et al.*, 2006; C. Torri *et al.*, 2003). En función de esto, generalmente las harinas de triticale producen masas blandas y con propiedades diferentes a las masas de trigo, lo que está directamente relacionado con el mayor contenido de

proteínas hidrosolubles en las harinas de triticale, que resulta en una menor proporción de proteínas de gluten (Leon *et al.*, 1996).

Con estas condiciones, este cereal se muestra como una posible alternativa de cultivo para regiones semiáridas debido a su gran capacidad de adaptación bajo estas condiciones climáticas, lo que permite extender la producción de los granos a regiones consideradas marginales para el trigo (Lelley, 1992; Moita Brites, Igreja, y León, 2006).

El componente mayoritario del triticale, como en los demás granos de cereales, es el almidón. La concentración de almidón en triticale es similar a la observada del trigo y centeno con valores entre 64,9 y 73,8 % (Klassen y Hill, 1971; Thomke, Petterson, Aman, y Rundgren, 1987). A pesar de que el contenido de fibra cruda es similar o menor al de trigo y centeno (Józefiaka, Rutkowska, Jensenb, y Engbergb, 2007; Picolli da Silva y Santorio Ciocca, 2005), el nivel de fibra alimentaria total es mayor al de trigo, debido al alto contenido de arabinosanos y  $\beta$ -glucanos que tiene el triticale (Cyran, Rakowska, y Miazga, 1996; Józefiaka *et al.*, 2007)

En la Tabla 5.I se muestra la composición del grano de triticale en comparación con trigo y centeno.

Tabla 5.I: Composición química del grano de triticale, comparada con trigo y centeno (Bushuk, 1991).

Parámetros	Triticale	Trigo	Centeno
Humedad (%)	11,0-15,0	11,0-14,0	11,0-14,0
Proteínas (Nx5,7) (%)	14,8	13,5	13
Lípidos (%)	1,5	1,9	1,8
Glúcidos -totales (%)	78	78	80
-fibra alimentaria(%)	3,1	3,9	2,6
Cenizas (%)	2	2	2,1
Lisina ( $\mu$ mol/mg N)	1	0,85	1,12

Los factores nutricionales más importantes en el grano de triticale son el contenido de almidón y la cantidad y calidad de las proteínas.

Numerosos trabajos detallan la mayor o similar concentración y calidad de proteínas y su mejor balance de aminoácidos, con respecto a trigo (Hill, 1991; Kulshrestha y Usha, 1992; Lorenz, 1974; Villegas, Mc Donald, y Gilles, 1970).

La digestibilidad de triticale es similar a la del trigo, y el valor biológico y la utilización de proteínas es un 10 % superior (Villegas *et al.*, 1970).

En uno de los pocos estudios hechos con humanos, se concluyó que el valor biológico de triticale era superior al de trigo (Kies y Fox, 1970b), y que la suplementación con lisina era recomendable (Kies y Fox, 1970a).

Las harinas de triticale son un poco más oscuras que las de trigo y más claras que las de centeno, el color se constituye en uno de los principales obstáculos para su aceptación en panadería.

El rendimiento en molino del triticale es inferior al del trigo. Lo que se debe fundamentalmente a la forma alargada y arrugada del grano de triticale, que implica una mayor relación entre superficie exterior y volumen, y a las características excesivamente blandas del endosperma de triticale.

Durante el proceso de molienda se producen variaciones en la proporción de los componentes respecto al grano de triticale. La modificación más importante se registra en la concentración de proteínas, que puede disminuir entre el 15,5 y el 27,9 % para triticales en general, según distintos trabajos (Germany, do Rego, Campos, y Mazzari, 1991; J. R. Peña, 1979). Conjuntamente con la disminución en el contenido de proteínas se verifica un aumento de la concentración de almidón, sin que se produzcan modificaciones de importancia en el resto de los componentes.

Generalmente las harinas de triticale producen masas con menor fuerza y con propiedades reológicas distintas al trigo (Lorenz, 1972; Tsen, 1974; Unrau y Jenkins, 1964). La calidad inferior de las harinas de triticale se explica por su elevada actividad enzimática, tanto amilásica (J. R. Peña y Bate, 1982) como proteolítica y el mayor contenido de proteínas hidrosolubles que implica una menor proporción de proteínas del gluten (Madl y Tsen, 1974)(Aguirre *et al.*, 2002; Tohver, Kann, Täht, Mihhalevski, y Hakman, 2005).

Doxastakis, Zafiriadis, Irakli, Marlani y Tananaki (2002) evaluaron la calidad de pan elaborado con reemplazo de 10% de harina de trigo por harina de triticale y observaron un incremento en el volumen específico de este producto. Por otro lado, (Naeem, Darvey, Gras, y MacRitchie, 2002) obtuvieron panes de buena calidad con una mezcla de partes iguales de harina de trigo y de triticale.

Como ya se mencionó, una de las estrategias para mejorar el perfil nutricional de las galletitas dulces es la incorporación de fibra dietaria en su formulación. En el Capítulo anterior se estudió el efecto de la incorporación de fibras sobre las características de las masas y la calidad de las galletitas. A partir de esto, se demostró que la inulina tiene un efecto mejorador de las galletitas, sin producir grandes cambios en la reología de las masas. Con el objetivo de

conocer si este efecto mejorador se puede extender a diferentes tipos de harina, en este Capítulo se analiza el efecto de la incorporación de inulina en la calidad de las masas y galletitas formuladas a partir de harinas con diferentes características.

## Procedimiento experimental

### **Materiales**

Para la elaboración de las galletitas se utilizaron granos de cultivares de trigo duro (Baguette 10), trigo blando (BIOINTA 3007 de INTA) y triticale (Tatú), que fueron molidos en un molino AQC 109-Laboratoy Mill-Agromatic AG (Suiza). Además se utilizó una harina comercial (Florencia 000). La inulina (Orafti ®HP), obtenida de Orafti Food Ingredients (Bélgica), tiene un grado de polimerización mayor a 23.

### **Composición química y análisis de las harinas**

Se analizó el contenido de humedad, cenizas, gluten húmedo, almidón dañado, proteínas y capacidad de retención de solventes (SRC) de todas las harinas utilizadas (Capítulo 2).

### **Elaboración de masas y galletas**

Las masas se elaboraron siguiendo la metodología descrita en el Capítulo 2, formuladas a partir de las harinas caracterizadas. Se incorporaron 6 y 12 g de inulina (6 y 12% de los materiales secos, respectivamente) como reemplazo parcial de harina. El porcentaje de agua utilizado en todas las formulaciones fue 8,5% del total de los ingredientes secos.

### **Evaluación de las masas**

Los cambios en las dimensiones de las masas durante el horneado fueron registrados en videos y analizados, según lo mencionado en el Capítulo 2.

### **Evaluación de la calidad de las galletitas**

La evaluación de la calidad de las galletitas formuladas a partir de las cuatro harinas con incorporación de inulina, se llevó a cabo mediante la determinación del factor galletita, el color superficial y el análisis de la textura, según la metodología descrita en el Capítulo 2.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó según se describió en el Capítulo 2.

## Resultados y discusión

### Composición química y análisis de las harinas

En la Tabla 5.II se presentan los valores de los parámetros químicos determinados para cada una de las harinas utilizadas en la formulación.

La humedad de la harina tiene un rol importante en la manufacturación de las galletitas, incluso más que la humedad total de la masa. Un mayor contenido de humedad resulta en un incremento de la velocidad de difusión de agua a través de la superficie de la galletita durante el horneado. Como consecuencia, harinas con alta humedad producen galletitas con un grado de agrietamiento superficial bajo, un efecto indeseado (L. Doescher y Hosenev, 1985). Los valores de humedad de las harinas utilizadas oscilaron entre 14,0% (HTB) y 14,3% (triticale), no observándose diferencias significativas entre ellas.

Las cenizas son los residuos inorgánicos que quedan después de la completa ignición de la materia orgánica de un alimento. Su contenido en los trigos depende de la región de cultivo y de las variedades. En las harinas, se suele determinar el contenido de cenizas ya que es un parámetro relacionado a la calidad de los panificados. Un alto contenido de ceniza da como resultado un producto oscuro, dando una apariencia poco tentadora para el consumidor. Sin embargo los valores de ceniza suelen ser más críticos en productos de pastelería fina, pastas frescas y discos de masa. Los valores observados variaron entre 0,60% para Baguette y 0,77% para la harina comercial. Esto indica que la harina comercial presenta una mayor contaminación de salvado que el resto de las harinas o que puede tener minerales agregados durante su procesamiento. La harina de Triticale presentó un valor de 0,62%. Ribotta, León, Aguirre y Beltramo (2002), evaluaron el contenido de ceniza de diez harinas de triticale para relacionarlo con el color superficial de las galletitas. Los valores informados por estos autores oscilaron entre 0,7 y 3,0%, siendo en todos los casos superior al hallado en el presente trabajo.

El almidón dañado (AD) hace referencia a la fracción de los gránulos de almidón en el endospermo del trigo que resultan dañados durante la molienda. El nivel de almidón dañado depende de factores genéticos y ha demostrado tener muy poca variación entre trigos de la misma variedad (Baevre, 1999). El nivel de daño que sufren los gránulos está relacionado directamente con la dureza del trigo y con las condiciones y tipo de molienda; cuanto mayor sea la resistencia que ofrezcan los granos a la molturación, mayor será el contenido de almidón dañado presente en la harina (Hosenev, 1994a). Los gránulos dañados absorben entre 200 y 430% de su peso en agua a temperatura ambiente, mientras que los gránulos sanos absorben entre un 39 y 87%, lo que deriva en un incremento en la capacidad de absorción de agua de las

harinas (Berton, Scher, Villieras, y Hardy, 2002). Este aumento modifica la consistencia de las masas y genera problemas durante su producción (A. Bettge *et al.*, 1995). Los valores del contenido de AD presentaron diferencias entre las distintas harinas (Tabla 5.II), donde el valor más bajo fue hallado en HTB (7,9%) y el más alto en la harina comercial (10,4%). Estos resultados coinciden con lo esperado, ya que los granos más duros requieren mayor fuerza de compresión para romperlos y esto resulta en el daño de los gránulos de almidón (Hoseney, 1994b). Barrera (2014) informó resultados similares al trabajar con harinas de trigo blando y harina Baguette. Estas tendencias están relacionadas con el espesor de la pared celular de las células del endospermo y con la intensidad con la que los gránulos de almidón están adheridos a la matriz proteica dentro de las células del endospermo. El espesor de la pared celular de las células del endospermo depende de la composición del grano, y se ha demostrado que los granos de textura dura presentan una pared celular más gruesa con mayor cantidad de hemicelulosa respecto a los de textura blanda. En este contexto, los granos de textura dura oponen mayor resistencia durante la molturación como resultado de una estructura más firme y rígida de las células del endospermo, condición que torna más frágiles a estas células frente a las fuerzas aplicadas durante la molienda, lo que resulta en mayor proporción de almidón dañado en las harinas obtenidas (Hoseney, 1994a).

El contenido de proteínas de las harinas es un factor determinante de la calidad de los productos elaborados a partir de éstas. Se ha demostrado que a mayor contenido de proteínas de una harina, mayor será el volumen de pan obtenido a partir de ésta, pero en general producen mejores galletitas las harinas con bajo contenido de proteínas (Abboud, Hoseney, *et al.*, 1985; Leon *et al.*, 1996; M. Moiraghi, 2013). No solo la cantidad de proteínas de un trigo es importante, sino también la proporción de los diferentes tipos de proteínas que hay en él. En función de esas proporciones, se tendrá un trigo que sea más apto para conseguir harinas que produzcan masas más elásticas y de mayor tenacidad, aptas para la elaboración de productos leudados como el pan, o más extensibles, apropiadas para la obtención de galletitas. En trigo, existe una fuerte correlación entre el contenido de proteínas en harina y la cantidad de gluten. Esta correlación es mucho menor en triticale, debido a que una parte de sus proteínas provienen del centeno y tienen menor capacidad para formar gluten (Skovmand, Fox, y Villarreal, 1984). Asimismo, existen líneas de triticale que producen cantidades de gluten similares a los mejores trigos-pan sin que ello implique un buen comportamiento en panificación (CIMMYT, 1980).

Los valores de proteína observados en el presente trabajo oscilaron entre 9,83% (Triticale) y 11,59% (harina comercial), siendo estas harinas estadísticamente diferentes de Baguette y HTB que presentaron valores intermedios (Tabla 5.II). Barrera (2014) determinó el contenido de proteínas de varias harinas de distintos tipos e informó valores que oscilaron entre

9,7 y 10,0% en harinas de trigo blando, mientras que para Baguette los porcentajes fueron entre 11,6 y 11,9. En ambos casos, los valores hallados en el presente trabajo son menores a los informados por Barrera. Comúnmente, los trigos poseen un contenido de proteínas más elevado que los triticales. La mayor concentración de proteínas en los trigos se debe a programas de mejoramiento dirigidos a obtener granos con una concentración más elevada y mejor calidad de las proteínas del gluten, ya que en nuestro país estos aspectos son de gran importancia para la finalidad de uso de estos granos. El contenido de proteína de las harinas de triticales estuvo dentro los rangos publicados por Perez *et al.* (2003) y Roccia *et al.* (2006), aunque un poco mayor que los informados por L. Doescher y Hosney (1985).

Al igual que sucede con el almidón dañado, las proteínas afectan la consistencia de la masa ya que tienen la capacidad de absorber el doble de su peso en agua (Manley, 2000). Debido a que para el desarrollo de gluten es necesario hidratar convenientemente a las proteínas de la harina y luego aplicar energía durante el amasado, muchos autores consideran despreciable su desarrollo en masas de galletitas debido al bajo contenido de agua, altos niveles de azúcar, y al escaso amasado que tienen este tipo de masas. Sin embargo, Gaines (1990) demostró que las proteínas formadoras de gluten (gliadinas y gluteninas) son capaces de asociarse estableciendo unas pocas uniones intermoleculares durante el amasado y el laminado de las galletitas. De esta manera, durante el horneado, la presión que ejercen las burbujas de gas sobre las proteínas incrementa su hidratación y fuerza las interacciones entre ellas, volviéndolas más funcionales y favoreciendo el desarrollo de gluten.

Tabla 5.II. Parámetros físico-químicos de las harinas. HTB: harina de trigo blando. AD: almidón dañado.

Muestra	% Humedad	% Cenizas	%AD	% Proteínas
Triticale	14,3 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,66 ± 0,02 <sup>b</sup>	8,9 ± 0,3 <sup>c</sup>	9,83 ± 0,04 <sup>c</sup>
HTB	14,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,62 ± 0 <sup>bc</sup>	7,9 ± 0,3 <sup>d</sup>	10,5 ± 0,2 <sup>b</sup>
Baguette	14,18 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,60 ± 0,02 <sup>c</sup>	9,7 ± 0,3 <sup>b</sup>	10,4 ± 0,2 <sup>b</sup>
Harina comercial	14,28 ± 0 <sup>a</sup>	0,77 ± 0,02 <sup>a</sup>	10,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	11,59 ± 0,02 <sup>a</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$

La forma más representativa de establecer la calidad de una harina para la producción de panificados es elaborar y evaluar dicho producto bajo condiciones estandarizadas. Sin embargo, en muchas ocasiones esto no es posible debido a los tiempos productivos o la escasez de harina en los ensayos de selección, por ejemplo. En función de esto, resulta necesario utilizar

pruebas predictivas que se correlacionen significativamente con la aptitud de las harinas para elaborar diferentes productos panificados.

La capacidad de retención de solvente es el peso ganado por la harina luego de la hidratación con distintos solventes [sacarosa ( $C_{12}O_{10}H_{22}$ ) 50% p/p, carbonato de sodio ( $Na_2CO_3$ ) 5% p/p, ácido láctico ( $C_3O_3H_6$ ) 5% p/p y agua destilada] y el posterior centrifugado. El patrón de comportamiento obtenido para cada solvente se relaciona con la calidad de la harina para elaborar distintos productos de panificación. En las harinas de trigo, el porcentaje de retención de ácido láctico está asociado con las características de las proteínas (principalmente gluteninas), y se ha sugerido la utilización del SRC ácido láctico para diferenciar harinas de trigos pan de distinta calidad proteica para panificación (Xiao, Park, Chung, Caley, y Seib, 2006). El porcentaje de retención de carbonato de sodio, se relaciona con los niveles de almidón dañado, el de sacarosa con el contenido de pentosanos y gliadinas, y el de agua con todos los componentes capaces de absorber agua presentes en una harina (Guttieri, McLean, Lanning, Talbert, y Souza, 2002; Kweon *et al.*, 2009).

En el año 1994, Slade y Levine desarrollaron la técnica de SRC, la cual establece un perfil de calidad y funcionalidad de las harinas, y por lo tanto es utilizada para predecir el uso final de las mismas. Es decir que el SRC provee información que ayuda a la identificación de trigos con atributos específicos para la elaboración de diferentes productos. A pesar de que el perfil de capacidad de retención de solventes fue propuesto inicialmente para evaluar la calidad de trigos blandos (L Slade y Levine, 1994) más tarde fue aplicado con éxito en trigos pan (A. Colombo, Pérez, Ribotta, y León, 2008; Malena Moiraghi, Ribotta, Aguirre, Pérez, y León, 2005a) y triticales (Roccia *et al.*, 2006).

En general, los índices de retención registrados para las harinas de trigo estuvieron levemente por debajo del informado por A. Colombo *et al.* (2008) y Xiao *et al.* (2006). Con respecto a la harina de triticales, los índices de retención estuvieron dentro de los valores informados por Ramírez *et al.* (2003) y Roccia *et al.* (2006).

Los valores de SRC se muestran en la Tabla 5.III. La HTB presentó el valor más bajo de SRC-C (72,86), mientras que el más alto fue de la harina comercial (89,0). Esto coincide con las tendencias observadas en el %AD. Barrera (2014) determinó los valores de SRC para muestras de harinas con diferentes grados de AD. Los resultados de HTB del presente trabajo coinciden con los informados por Barrera.

Tabla 5.III. Capacidad de retención de solvente de las harinas. HTB: harina de trigo blando. SRC-C: capacidad de retención de carbonato. SRC-A: capacidad de retención de agua. SRC-S: capacidad de retención de sacarosa. SRC-L: capacidad de retención de ácido láctico.

Muestra	SRC-L	SRC-C	SRC-S	SRC-A
Triticale	68,75 ± 0,07 <sup>d</sup>	81,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	98,45 ± 0,09 <sup>b</sup>	64,94 ± 0,08 <sup>b</sup>
HTB	98 ± 3 <sup>b</sup>	72,86 ± 0,09 <sup>d</sup>	85,4 ± 0,2 <sup>d</sup>	63 ± 5 <sup>b</sup>
Baguette	90 ± 1 <sup>c</sup>	77,5 ± 0,3 <sup>c</sup>	91,5 ± 0,4 <sup>c</sup>	63,1 ± 0,6 <sup>b</sup>
Harina comercial	109 ± 2 <sup>a</sup>	89,0 ± 0,5 <sup>a</sup>	108 ± 3 <sup>a</sup>	71,9 ± 0,7 <sup>a</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$

Los valores de SRC indicaron que la harina comercial presentó una mayor proporción de componentes con capacidad de retención de todos los solventes. Esto coincide también con el contenido de cenizas, humedad, almidón dañado y proteína total observados para la harina comercial. El SRC-S presentó variaciones significativas entre las cuatro harinas. Esto implica diferencias en el contenido de pentosanos, siendo la harina comercial la que presentó el mayor valor (108) y HTB el menor (85,4). Esta inferencia es válida ya que se ha informado la existencia de una correlación positiva entre el contenido de pentosanos solubles y el SRC sacarosa para harinas de trigo (A. Colombo *et al.*, 2008) como así también para harinas de triticale (Roccia *et al.*, 2006). Sin embargo, es importante destacar que en el presente estudio no se observó correlación entre el contenido de proteínas y el valor de SRC-S. Asimismo, a partir del SRC-L es posible inferir que la harina comercial (109) se diferenció del resto en las características de las gluteninas que posee, ya que nuevamente presentó el mayor valor. Las diferencias marcadas por el SRC-C están relacionadas con la presencia de mayor contenido de almidón dañado en las harinas de trigo. En estudios previos, se demostró que la harina de triticale y trigo duro presentan correlación positiva y significativa entre valores de SRC-C y el contenido de almidón dañado (Andres Colombo *et al.*, 2008; Malena Moiraghi, Ribotta, Aguirre, Pérez, y León, 2005b; R. Peña y Amaya, 1980). A pesar de que en el presente estudio las tendencias de ambos parámetros coincidieron, no se observó correlación significativa, probablemente debido a los diferentes tipos de grano y molienda. Con respecto a SRC-A, solo la harina comercial (71,9) fue estadísticamente superior al resto, indicando que el resto de las harinas presentaron similar absorción de agua. La mayor proporción de componentes con capacidad de retención de la harina comercial se relacionó con que esta harina se produce a partir de variedades de trigo duro elegidos por sus altos valores de gluten y por su comportamiento en procesos de productos leudados, y por lo tanto contienen mayor proporción de hemicelulosa en las paredes de las células del endospermo (Hoseney, 1994a).

Los índices predictivos de calidad SRC, ponen en evidencia la influencia negativa que tiene un incremento en el contenido de almidón dañado sobre la elaboración de productos

panificados, lo cual está directamente relacionado con la gran capacidad de absorción de agua que poseen los gránulos dañados de almidón. El significativo incremento de la capacidad de absorción de agua de una harina modifica la consistencia de las masas y pueden generar problemas durante su producción (A. Bettge *et al.*, 1995).

## **Evaluación de masas y galletitas**

### **Expansión durante el horneado**

La Figura 5.1 muestra la evolución del diámetro y la altura de las muestras control y con 12% de incorporación de inulina durante el horneado de las galletitas formuladas con las cuatro harinas (las curvas de las muestras con 6% de incorporación de inulina se encuentran en el Anexo III). Como se describió en los capítulos anteriores, las masas mostraron un rápido incremento en el diámetro durante los primeros minutos, luego dejaron de crecer y hacia el final del horneado se observó una pequeña contracción. Con respecto a la altura de las galletitas se observó un incremento progresivo hasta que llega a un máximo, alrededor de los cinco minutos de horneado y luego se produjo un colapso de las piezas. En las figuras se puede observar claramente el efecto positivo de la incorporación de la inulina en todas las muestras. En la Tabla 5.IV se muestran los cinco parámetros derivados de las curvas de cada una de las muestras: diámetro máximo, tiempo de fijación, temperatura de fijación, altura máxima y colapso. Las curvas de altura y de diámetro, presentaron formas similares entre las muestras, sin embargo algunos de los parámetros mostraron diferencias. Se sabe que las galletitas elaboradas a partir de harina de trigo duro presentan una expansión elástica controlada, lo que hace que durante el horneado la pieza crezca hasta llegar a un máximo y luego se contraiga (Slade y Levine, 1994). Sin embargo, las galletitas formuladas con harina de trigo blando, crecen hasta alcanzar el diámetro máximo y luego colapsan drásticamente, resultando en productos de buena calidad. Si bien Baguette pertenece a la categoría de trigo duro, su baja calidad y cantidad proteica hace que su comportamiento sea muy diferente al de harinas de trigo duro de buena calidad.

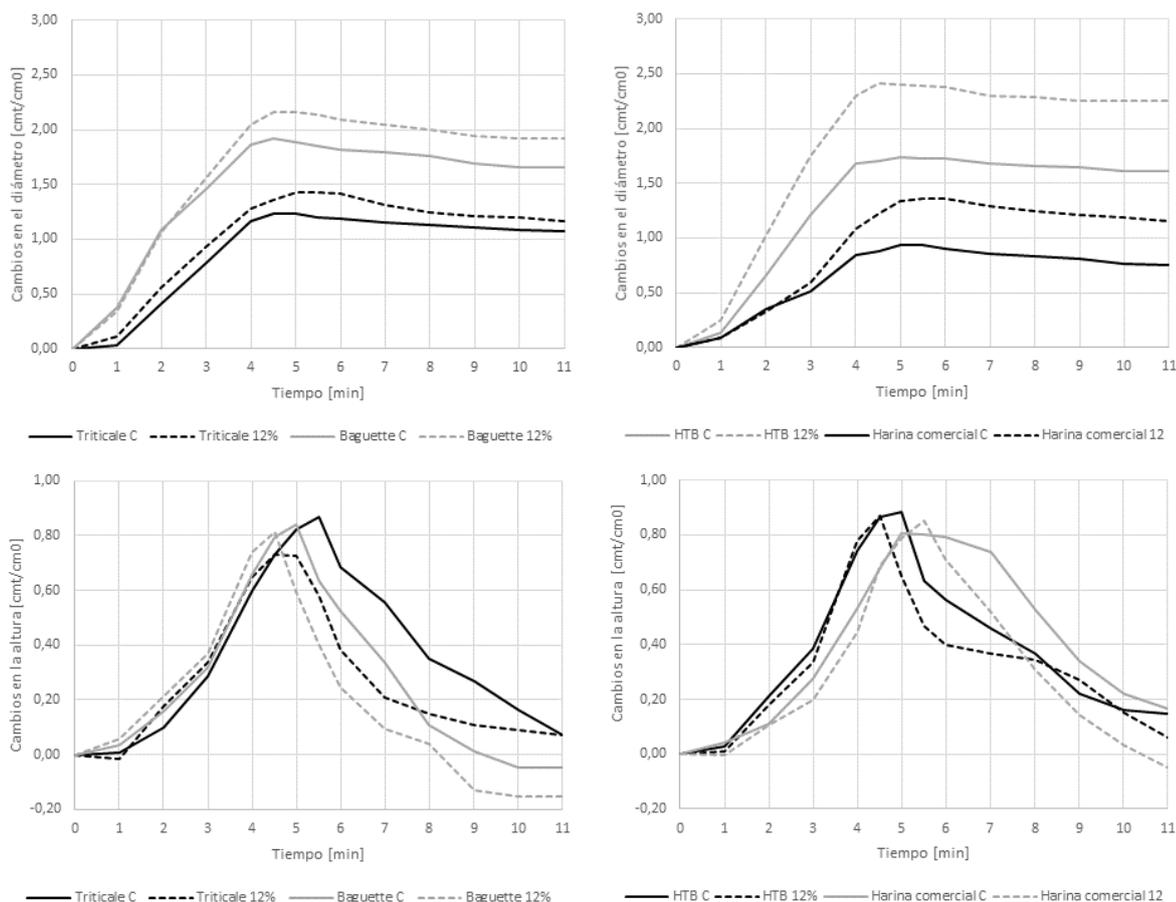


Figura 5.1. Efecto de la incorporación de fibra sobre la evolución del diámetro y la altura de las galletitas durante el horneado. El diámetro se expresa como cambio en el diámetro (diámetro al tiempo t - diámetro inicial) y la altura como cambio en la altura (altura al tiempo t – altura inicial). C: control. IN12: 12% de incorporación de inulina.

En forma general, se puede afirmar que en las galletitas formuladas con todas las harinas la incorporación de inulina resultó en un ligero incremento del diámetro máximo (aunque solo la muestra de HTB presentó diferencias significativas) y en disminución de la altura máxima. En la Tabla 5.IV se expresa con letras minúsculas las diferencias entre las muestras con y sin inulina y con letras mayúsculas las diferencias entre los controles de las distintas harinas. Con respecto a las galletitas sin fibra el mayor diámetro máximo fue observado en Baguette (6,34 cm), mientras que el menor fue en la harina comercial (4,9 cm).

Tabla 5.IV. Efecto de la incorporación de inulina en los parámetros de calidad de galletitas. HTB: harina de trigo blando. DM: diámetro máximo durante el horneado. TF: tiempo de fijación. T: temperatura de fijación. AM: altura máxima. 6 y 12% indican el porcentaje de inulina de la formulación.

Muestra	DM [cm]	TF [min]	T [°C]	AM [cm]	Colapso [cm]
Triticale C	5,6 ± 0,4 <sup>Ba</sup>	4,4 ± 0,4 <sup>Ab</sup>	100,1 ± 0,2 <sup>Bb</sup>	1,8 ± 0,2 <sup>Aa</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>ABa</sup>
Triticale 6%	5,89 ± 0,2 <sup>a</sup>	5,7 ± 0,0 <sup>a</sup>	102,9 ± 0,8 <sup>a</sup>	1,70 ± 0,09 <sup>ab</sup>	0,81 ± 0,09 <sup>a</sup>
Triticale 12%	5,56 ± 0,06 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,1 <sup>ab</sup>	102,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,68 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,69 ± 0,05 <sup>b</sup>
HTB C	5,96 ± 0,06 <sup>ABb</sup>	5,0 ± 0,5 <sup>Aa</sup>	102,0 ± 0,1 <sup>Aa</sup>	1,7 ± 0,1 <sup>ABb</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>ABb</sup>
HTB 6%	6,94 ± 0,06 <sup>a</sup>	5,3 ± 0,2 <sup>a</sup>	102,5 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,01 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,2 <sup>a</sup>
HTB 12%	7,1 ± 0,3 <sup>a</sup>	4,8 ± 0,5 <sup>a</sup>	101,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,2 <sup>ab</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>b</sup>
Baguette C	6,34 ± 0 <sup>Aa</sup>	4,5 ± 0,0 <sup>Aa</sup>	100,8 ± 0,6 <sup>Bb</sup>	1,75 ± 0,04 <sup>ABa</sup>	0,92 ± 0,07 <sup>Aa</sup>
Baguette 6%	6,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,4 ± 0,5 <sup>a</sup>	102,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,2 <sup>a</sup>
Baguette 12%	6,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	4,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	101,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,68 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,1 <sup>a</sup>
Harina comercial C	4,9 ± 0,1 <sup>Ca</sup>	4,8 ± 0,4 <sup>Aa</sup>	101,8 ± 0,4 <sup>Aa</sup>	1,6 ± 0,2 <sup>Bb</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>Bb</sup>
Harina comercial 6%	5,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	4,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	100,8 ± 0,3 <sup>b</sup>	1,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>a</sup>
Harina comercial 12%	5,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	5,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	102,5 ± 0,6 <sup>a</sup>	1,78 ± 0,08 <sup>ab</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>a</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ . Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

A partir de la Figura 5.1 y Tabla 5.IV se observa que la muestra que mayor DM presentó fue HTB12%, llegando a un valor de 7,1 cm, mientras que la de menor valor de DM fue la harina comercial C (4,9 cm). La incorporación de inulina resultó en un incremento del diámetro máximo de todas las muestras, aunque solo HTB presentó diferencias estadísticas con respecto al control (5,96 cm), en el máximo nivel de incorporación (7,1 cm), representando un 18% más que HTB C. Sin embargo la masa que más creció en el horno fue la de la harina comercial, donde el DM de la muestra harina comercial 6% fue de un 20% más que harina comercial C. Nuevamente, cabe recordar el alto error que tiene asociada esta metodología, motivo por el cual harina comercial 6% no presentó diferencias estadísticas con el control. Estos resultados coinciden con los observados en el Capítulo 4, donde las masas que mayor expansión presentaron fueron las elaboradas con incorporación de inulina. Esta fibra soluble contribuye a la fase líquida y permite que durante el calentamiento la viscosidad de la masa sea menor y de esta manera pueda seguir expandiéndose durante más tiempo en el horno.

La HTB (harina de las muestras que más se expandieron) fue la que presentó menores valores de %AD SRC-A. Al tener menor proporción de componentes hidrofílicos, queda más agua disponible para la disolución de la sacarosa y de la inulina. Esto hace que la viscosidad de las masas con inulina sea menor, permitiendo que la pieza se expanda más durante el horneado. Además, la inulina es una fibra soluble y su solubilidad aumenta con la temperatura. Aparentemente durante el horneado, la inulina se disuelve progresivamente resultando en un incremento del diámetro máximo, mejorando la calidad de la galletita. Este efecto es similar al logrado con un incremento del nivel de grasa, ya que la grasa se funde durante el horneado y contribuye a la movilidad del sistema (Pareyt, Talhaoui, *et al.*, 2009).

En general, el tiempo de fijación no presentó cambios significativos con la incorporación de inulina, solo triticale con 6% de inulina resultó mayor que el control. La temperatura de fijación fue mayor en HTB (102°C) y menor en triticale (100,1 °C). La mayor altura máxima de las piezas durante el horneado fue alcanzada por la muestra triticale (1,8 cm) y la menor por la harina comercial (1,6 cm). Con respecto al colapso también se observaron diferencias estadísticas: la pieza que mayor colapso presentó fue Baguette (0,92 cm) y la que menos colapsó fue la harina comercial (0,7 cm). Según todos los parámetros arrojados por las curvas de expansión, la harina Baguette es la que produjo mejor calidad de galletitas. Esto coincidió con los resultados de SRC, ya que esta harina fue una de las que menor retención de los cuatro solventes presentó. Como era esperado, la HTB también presenta buena capacidad de expansión y un gran colapso hacia el final del horneado, indicando que su estructura no es lo suficientemente fuerte como para soportar el crecimiento en altura. Esto concuerda con los bajos valores de SRC-S, como también con los valores de SRC-C y %AD.

Como se mencionó en el Capítulo 3, el diámetro final de la galletita está controlado por la velocidad de expansión y por el tiempo de fijación de la estructura (Hoseney y Rogers, 1994; Miller y Hoseney 1997). En este caso, el tiempo de fijación fue estadísticamente igual en todas las muestras control. Las masas de Baguette y HTB presentaron el mayor tiempo de fijación, coincidiendo con el diámetro máximo alcanzado.

La forma general de las curvas no se modificó con la adición de la fibra. El tiempo de fijación solo mostró un incremento en las galletitas formuladas con triticale, cuando se incorporó la fibra al 6% (5,7 min), con respecto al control (4,4 min). Con respecto a la temperatura de fijación, no se observó una tendencia clara. La altura máxima alcanzada durante el horneado presentó el mismo comportamiento que el colapso de las piezas, sin embargo, éste no fue igual en todas las harinas. En las galletitas formuladas con triticale, ambos parámetros disminuyeron su valor progresivamente con la incorporación de inulina. En las muestras de HTB y la harina comercial solo la adición de 6% de fibra fue estadísticamente diferente al control, mientras que en las piezas de Baguette no hubo diferencias significativas.

### **Evaluación de la calidad de las galletitas**

#### **Factor galletita**

En la Tabla 5.V se expresan los valores del factor galletita (FG) y los parámetros de color de todas las muestras. Entre las muestras control (sin inulina), las galletitas elaboradas con harina Baguette presentaron el valor más alto de FG (7,30), mientras que no se observaron diferencias entre las restantes muestras (Tabla 5.V). Esto indica que la harina que mejor calidad de galletitas produjo fue Baguette, a pesar de que la HTB posee menor contenido de almidón dañado. Estos resultados coinciden con lo reportado por C. L. Torri *et al.* (2003), quienes informaron que la calidad galletitera no solo depende del contenido de almidón dañado, sino también de los demás constituyentes de una harina.

La incorporación de la fibra en ambos niveles resultó en un incremento del FG en todos los casos. La galletita que mejor calidad mostró fue Baguette 12% (9,67), representando un incremento de 32,5% con respecto a Baguette C. Sin embargo, la pieza que mayor diferencia de FG presentó con su control fue HTB 12%, representando un incremento del 64,6%. Esto, coincide con los parámetros de expansión. En todas muestras la incorporación de 6 y 12% de inulina resultaron estadísticamente iguales. Como era esperado, el FG presentó una correlación positiva ( $r= 0,83$ ;  $p<0,01$ ) con el diámetro máximo alcanzado en el horno.

## Color

En la Tabla 5.V se muestran los valores de los parámetros de color de todas las galletitas y en la Figura 5.2 se puede observar la coloración de la superficie de las piezas.

La galletita formulada con HTB fue la que menor valor de luminosidad presentó entre las muestras control (53), mientras que el resto no presentó diferencias estadísticas entre sí. Con respecto al valor de  $a^*$  (intensidad del color verde/rojo), los valores de las muestras sin fibra oscilaron entre 8 (harina comercial C) y 10,2 (HTB C), sin embargo, no se observaron diferencias entre ellas. En cuanto al parámetro  $b^*$  (intensidad del color amarillo/azul) las galletitas de Baguette y triticale presentaron los mayores valores (31 y 31,2, respectivamente), mientras que el valor más bajo fue el correspondiente a la pieza de HTB (26).

La incorporación de inulina, en todos los casos produjo una disminución de la luminosidad de las galletitas y un incremento de los parámetros  $a^*$  y  $b^*$ . Sin embargo, los valores no presentaron diferencias significativas. En el Capítulo anterior se describió el mismo resultado y esta tonalidad más amarronada se adjudicó a que las galletitas con inulina presentaron menor altura que el control sin fibra.

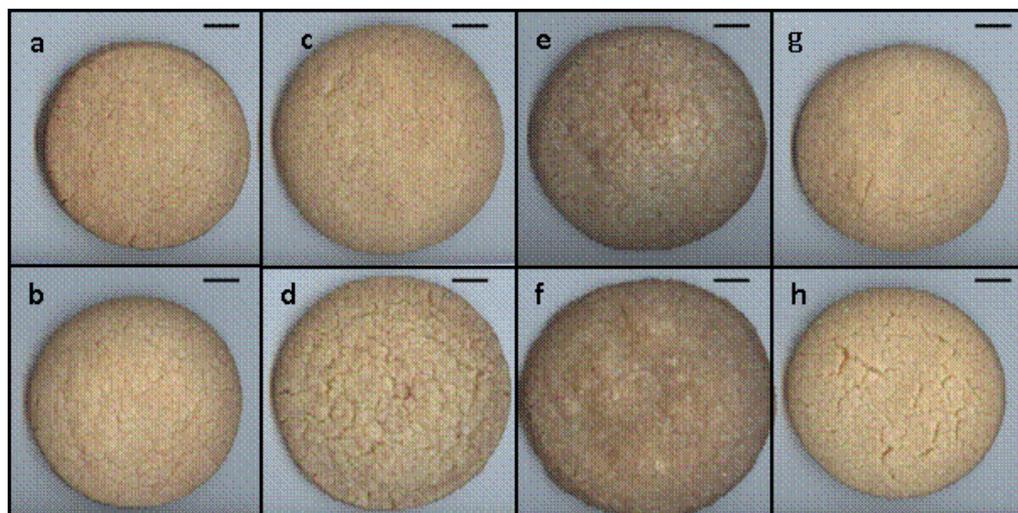
Según León (1995) y P. Ribotta *et al.* (2002), las galletitas formuladas con HTB, tanto control como con incorporación de inulina, no serían aceptables a nivel industrial, por presentar coloración superficial demasiado oscura ( $L^*$  menor a 55). En la Figura 5.2 se puede apreciar la diferencia de color que presentan estas muestras en comparación con el resto. En este sentido, debido a los altos valores de expansión en el horneado y de FG, es necesario optimizar los procesos de cocción según el tipo de harina que se utilice para mejorar este aspecto.

Tabla 5.V. Efecto de la incorporación de inulina en los parámetros de calidad de las galletitas. HTB: harina de trigo blando. 6 y 12% indican el porcentaje de inulina de la formulación. FG: factor galletita. D: dureza.

Muestra	FG	L*	a*	b*
Triticale C	5,49 ± 0,07 <sup>Bb</sup>	66 ± 2 <sup>Aa</sup>	9 ± 2 <sup>Aa</sup>	31,2 ± 0,8 <sup>Aa</sup>
Triticale 6%	7,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	63 ± 2 <sup>a</sup>	9 ± 1 <sup>a</sup>	32 ± 2 <sup>a</sup>
Triticale 12%	6,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	64,9 ± 0,6 <sup>a</sup>	10,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	32,1 ± 0,4 <sup>a</sup>
HTB C	5 ± 1 <sup>Bb</sup>	53 ± 3 <sup>Ba</sup>	10,2 ± 0,6 <sup>Aa</sup>	26 ± 2 <sup>Ba</sup>
HTB 6%	8 ± 2 <sup>a</sup>	54 ± 4 <sup>a</sup>	10,71 ± 0,02 <sup>a</sup>	28 ± 2 <sup>a</sup>
HTB 12%	9 ± 1 <sup>a</sup>	52,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	10,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	26,8 ± 0,4 <sup>a</sup>
Baguette C	7,3 ± 0,3 <sup>Ab</sup>	66 ± 5 <sup>Aa</sup>	9 ± 3 <sup>Aa</sup>	31 ± 2 <sup>Aa</sup>
Baguette 6%	9,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	62 ± 2 <sup>a</sup>	9 ± 1 <sup>a</sup>	31,7 ± 0,2 <sup>a</sup>
Baguette 12%	9,7 ± 0,0 <sup>a</sup>	62 ± 2 <sup>a</sup>	9,2 ± 0,5 <sup>a</sup>	30,3 ± 0,2 <sup>a</sup>
Harina comercial C	4,7 ± 0,2 <sup>Bb</sup>	72 ± 4 <sup>Aa</sup>	8 ± 2 <sup>Aa</sup>	31 ± 2 <sup>ABa</sup>
Harina comercial 6%	5,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	69 ± 3 <sup>a</sup>	9 ± 2 <sup>a</sup>	33 ± 1 <sup>a</sup>
Harina comercial 12%	6,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	66 ± 2 <sup>a</sup>	9,01 ± 0,02 <sup>a</sup>	32,6 ± 0,1 <sup>a</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ . Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

Figura 5.2. Imágenes de las galletitas. a: triticales control. b: triticales con incorporación de inulina al 12%. c: Baguette control. d: Baguette con incorporación de inulina al 12%. e: harina de trigo blando control. f: harina de trigo blando con incorporación de inulina al 12%. g: harina de comercial control. h: harina de comercial con incorporación de inulina al 12%.



## Dureza

En la Tabla 5.VI se presentan los datos de textura de las galletitas. Con respecto a las piezas control, la galletita de triticale fue la más dura (92,3 N), mientras que la que menor fuerza necesitó para quebrarse fue la de Baguette (37,4 N). La incorporación de inulina no mostró una tendencia clara. En las galletitas de triticale, la adición de 6% de fibra resultó en una disminución del 30% de la FM, mientras que el máximo nivel de adición fue estadísticamente igual al control. Las muestras de HTB 6% y HTB 12% disminuyeron la dureza en un 34 y 35%, respectivamente comparadas con HTB C. En el caso de las piezas de Baguette y de harina comercial, la incorporación de inulina en ambos niveles resultó estadísticamente igual al control.

Se sabe que la dureza de las galletitas está íntimamente relacionada con las dimensiones de las piezas. Se observó una correlación negativa con el diámetro máximo alcanzado en el horneado ( $r = -0,78$ ;  $p < 0,01$ ), con el factor galletita ( $r = -0,76$ ;  $p < 0,01$ ) y con el colapso de las piezas ( $r = -0,70$ ;  $p = 0,01$ ). El colapso se produce por la falta de una estructura que soporte el crecimiento en altura, por lo tanto es esperable que las muestras que muestren mayor colapso presenten menor dureza, por tener una estructura más frágil. Por otro lado, a mayor colapso, menor será la altura final de la pieza y más fácil será quebrarla.

Los valores del módulo de deformabilidad de las muestras control oscilaron entre 1,0 s (Baguette C) y 2,6 s (harina comercial C). Solo la muestra Baguette C fue estadísticamente diferente al resto, indicando una mayor fragilidad de su estructura. La adición de fibra resultó en disminución de la deformabilidad, excepto en las galletitas de Baguette que fueron iguales al control. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el Capítulo anterior. Sin embargo, en este caso no se observó correlación entre este parámetro y las dimensiones de las piezas, por lo que el incremento de la fragilidad de las galletitas se atribuye a los cambios estructurales por la adición de la fibra. La disminución en el módulo de deformabilidad coincide con los resultados informados por Zoulias, Oreopoulou y Kounalaki (2002), quienes informaron un aumento de la fragilidad de las piezas con la incorporación de inulina.

Tabla 5.VI. Efecto de la incorporación de inulina en los parámetros de calidad de las galletitas. HTB: harina de trigo blando. 6 y 12% indican el porcentaje de inulina de la formulación. FM: fuerza máxima de quiebre. %FM: % de FM con respecto al control. Def: módulo de deformabilidad. %Def: % de Def con respecto al control.

Muestra	FM [N]	%FM	Def [seg]	%Def
Triticale	92,3 ± 4 <sup>Aa</sup>	-	1,8 ± 0,3 <sup>Aa</sup>	-
Triticale 6%	65 ± 7 <sup>b</sup>	-30	1,6 ± 0,2 <sup>b</sup>	-14
Triticale 12%	88,8 ± 0,8 <sup>a</sup>	-4	1,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	-18
HTB C	69,9 ± 0 <sup>Ba</sup>	-	2,0 ± 0,4 <sup>Aa</sup>	-
HTB6%	46 ± 1 <sup>b</sup>	-34	1,1 ± 0,3 <sup>b</sup>	-46
HTB12%	46 ± 8 <sup>b</sup>	-35	0,9 ± 0,3 <sup>b</sup>	-56
Baguette	42 ± 7 <sup>Cab</sup>	-	1,0 ± 0,1 <sup>Ba</sup>	-
Baguette 6%	37,4 ± 0,7 <sup>b</sup>	-11	1,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	8
Baguette 12%	50,3 ± 0,5 <sup>a</sup>	20	0,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	-8
Harina comercial C	74 ± 5 <sup>Ba</sup>	-	2,6 ± 0,8 <sup>Aa</sup>	-
Harina comercial 6%	66 ± 9 <sup>a</sup>	-11	1,6 ± 0,5 <sup>b</sup>	-37
Harina comercial 12%	66 ± 3 <sup>a</sup>	-11	1,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	-49

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ . Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

## Conclusión

El presente Capítulo revela el efecto de la incorporación de inulina sobre los parámetros de calidad de galletitas formuladas con harinas de diferentes características. Se logró confirmar el efecto mejorador de esta fibra soluble sobre el comportamiento de las masas durante el horneado y la calidad del producto final.

Se trabajó con harinas de muy diversas características y se demostró que el efecto mejorador de la inulina va más allá de la calidad de la harina utilizada en la formulación, a pesar de que el grado del efecto fue variado y también dependió del nivel de sustitución y la calidad de la harina utilizada.

Estos resultados indican que es posible desarrollar galletitas con alto contenido en fibra con mejoramiento en los parámetros de calidad, a pesar de las características de las materias primas con las que sean formuladas.

## CAPÍTULO 6

# EFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE FIBRA ALIMENTARIA Y PULPAS DE FRUTAS COMO REEMPLAZO PARCIAL DE GRASA Y AZÚCAR EN MASAS Y GALLETITAS

## Introducción

Las transformaciones demográficas, epidemiológicas, sociales y económicas de los últimos años impactan directa o indirectamente en la alimentación, el estilo de vida y la salud de la población (Organización Panamericana de la Salud, 2012). Las sociedades urbanas han incorporado estilos de vida sedentarios y una dieta caracterizada por su pobre calidad nutricional (alimentos ricos en grasas saturadas, azúcares, sodio y pobres en fibra y micronutrientes) (World Health Organization. Food and Agriculture Organization, 2003). Estos cambios en la alimentación, sumados a la modificación en la actividad física, se han asociado al aumento de la obesidad y otras enfermedades crónicas, lo que representa un alto impacto sobre la morbimortalidad, la calidad de vida y el gasto sanitario (World and Health Organization, 2014).

Según la encuesta nacional de nutrición y salud, en nuestro país hay un déficit en la ingesta de fibra, vitamina A y vitamina B<sub>12</sub>, entre otros. Una forma de incrementar el consumo de estos y otros nutrientes es mediante su incorporación en alimentos de alto consumo en la sociedad, como son los productos de panificación y especialmente las galletitas dulces.

### **Propiedades y características de las frutas**

En la composición química de las frutas, el componente mayoritario en todos los casos es el agua, que constituye en general entre el 75 y el 90% del peso de la parte comestible. Le siguen en importancia cuantitativa los azúcares (con porcentajes que oscilan entre el 5 y el 18%), polisacáridos y ácidos orgánicos (0,5 a 6%). Los compuestos nitrogenados y los lípidos son escasos en la parte comestible de las frutas, aunque son importantes en las semillas de algunas de ellas. El contenido de grasa puede oscilar entre 0,1 y 1,5%. Algunos componentes como los pigmentos, los aromas y los compuestos fenólicos astringentes se encuentran en muy bajas concentraciones, pero influyen decisivamente en la aceptación organoléptica de las frutas. Otros compuestos, como las vitaminas, los minerales y la fibra aportan propiedades nutritivas. Las pectinas desempeñan un papel fundamental en la consistencia.

#### Hidratos de carbono

##### Azúcares

La sacarosa es el oligosacárido dominante en las frutas. Los demás oligosacáridos solo se encuentran en mínimas cantidades. Los principales monosacáridos de las frutas son la glucosa y la fructosa, cuya concentración varía notablemente de una especie a otra, así como su contenido respecto al de sacarosa. Otros monosacáridos (galactosa, arabinosa y xilosa) se encuentran en cantidades mínimas en algunas frutas, como los cítricos (Artieda, 2001).

### Polisacáridos

Las frutas no maduras contienen almidón en cantidades que oscilan entre 0,5 y 6%. Por otro lado, el contenido de pectinas, de importancia en la textura y consistencia de las frutas, varía también a lo largo de la maduración (Artieda, 2001)

### Lípidos

El contenido de lípidos de la fruta suele ser bajo, del orden de 0,1 a 0,5% del peso fresco y está constituido en su mayor parte por fosfolípidos. Entre los ácidos grasos, los más abundantes son el palmítico, el oleico y el linoleico. Otros lípidos importantes son las ceras, que cubren la piel de algunas frutas.

### Compuestos nitrogenados

Las frutas contienen entre 0,1 y 1,5% de compuestos nitrogenados de los cuales las proteínas constituyen un 35-75%.

### Fibra alimentaria

La mayoría de las frutas muestran valores de fibra alimentaria menores o iguales a 2%, aunque algunas pueden llegar a presentar un contenido de 10%, como el caso del níspero.

### Vitaminas y minerales

Las frutas aportan a la dieta una proporción relativamente importante de vitaminas C y A. En general existe un gradiente del contenido en vitamina C desde la piel, que es la parte más rica en esta vitamina, hasta la porción carnosa próxima al hueso, que es la más pobre. El  $\beta$ -caroteno, pro-vitamina A, se encuentra en grandes cantidades en damascos, cerezas, melones y durazno. Las vitaminas B12, D y los tocoferoles están prácticamente ausentes.

Entre los beneficios del consumo de fruta en general se encuentran: modulación de enzimas detoxificantes, estimulación del sistema inmune, disminución de la agregación plaquetaria, regulación del metabolismo del colesterol, modulación del metabolismo hormonal, disminución de la presión sanguínea y actividad antiviral y antibacteriana. Un importante beneficio de las frutas es su actividad antioxidante (Lampe, 1999).

En el presente Capítulo se trabajó con pulpa de dos frutas: durazno (*Prunus pérsica*) y pera (*Pyrus communis*).

### Durazno (*Prunus pérsica*)

El durazno es la fruta con carozo (drupa) más importante por su consumo y por la superficie que se destina a su cultivo, tanto en las distintas regiones frutícolas del mundo como en la Argentina (Lanzelotti, 1994). La producción nacional asciende a 250.500 t/año (2003/2004): en el país, las plantaciones de durazneros ocupan unas 22.000 ha. Buenos Aires cuenta con el 46,5% del total, Mendoza posee el 29,4% y Córdoba el 11,2%, el resto se concentra en otras provincias: Santa Fe, Río Negro y Entre Ríos (INTA, 2000). En la Tabla 6.I se presenta la composición de esta fruta.

### Pera (*Pyrus communis*)

Esta fruta es muy apreciada por sus propiedades nutritivas y su delicado sabor. Es utilizada en regímenes por su bajo contenido calórico. Contiene vitaminas B1, B2 y niacina o B3, todas del Complejo B. También posee vitaminas A y C, es rica en minerales como calcio, fósforo, magnesio, cobre y potasio, además de taninos, ácidos oleico, palmítico, glutamínico, cafeico, linoleico, aspártico, ácido fólico y ascórbico. Su contenido de fibra mejora la digestión. Tiene propiedades astringentes.

Nuestro país es uno de los principales productores de pera de Sudamérica, especialmente en la zona del Valle de Río Negro.

En la Tabla 6.I se muestra la composición aproximada de ambas frutas.

Tabla 6.I. Composición de durazno y pera. Fuente: USDA

Composición	Durazno	Pera
Agua [g/100g]	83,7	88,4
Energía [kcal/100g]	65,0	42,0
Proteína [g/100g]	0,94	0,30
Lípidos totales [g/100g]	0,33	0,20
Carbohidratos [g/100g]	14,48	10,80
Fibra dietaria total [g/100g]	1,30	2,80
Azúcar [g/100g]	11,50	6,98

### Procesamiento y almacenamiento de frutas

Las frutas son alimentos perecederos, por lo tanto para prolongar su vida útil y/o incorporarlas en productos de panificación, es posible someterlas a un proceso de

concentración. Esto no solo permite una mayor conservación sino además la concentración de los sólidos, generalmente hasta 26-32 °Brix (%p/p de sólidos solubles contenidos en la muestra).

La conservación se basa en impedir el desarrollo de microorganismos, para evitar el deterioro de los alimentos durante el almacenamiento. De esta manera, es posible obtener un alimento cuyas características nutricionales y organolépticas típicas se mantienen inalteradas y que puedan consumirse de forma segura dentro de un período de tiempo determinado (al menos un año). Además, cuando se considera la estabilidad microbiana, los métodos de conservación a corto plazo como la refrigeración son inadecuados después de algunos días o semanas, dependiendo de la materia prima. En el caso de procesos industriales en los que la conservación se consigue mediante esterilización comercial, deshidratación o congelación, se controla el desarrollo microbiano hasta que el alimento procesado puede consumirse con seguridad.

En los últimos años, ha habido muchas innovaciones en el procesamiento industrial de alimentos. Las técnicas empleadas hoy para conservar los alimentos se caracterizan por diferentes niveles de complejidad. La industria del procesamiento de las frutas en nuestro país utiliza procesos térmicos para su conservación.

Previamente al proceso térmico, se realiza una serie de operaciones preliminares, que incluyen lavado, clasificación, pelado, corte o molienda y escaldado, entre otros. La materia prima debe ser procesada lo más pronto posible (entre 4 y 48 horas después de ser cosechada), para evitar su deterioro.

En el caso particular de las frutas, para su conservación, se suelen someter a un proceso térmico en el que se controlan las temperaturas de trabajo para evitar cambios importantes a nivel nutricional. En estos procesos, se realiza la concentración en evaporadores que trabajan bajo vacío parcial a temperaturas por debajo de los 85 °C. Por último, estas pulpas concentradas se almacenan con SO<sub>2</sub> hasta su uso en los procesos productivos.

Los concentrados o pulpas de fruta se pueden almacenar de manera segura bajo circunstancias asépticas, es decir, tratamiento térmico y almacenamiento en recipientes estériles. Los sistemas asépticos se cierran mecánicamente bajo una ligera presión para evitar las infecciones microbiológicas (David, Graves, y Carlson, 1996). El tratamiento térmico en tecnología aséptica se realiza generalmente por encima de 100 °C (90-120 °C) durante un período relativamente corto (1-2 min). Este proceso se denomina pasteurización. Luego, la pulpa se enfría a aproximadamente 30 °C para detener otras reacciones químicas indeseadas (Otto, 1990).

El llenado tiene lugar en máquinas especiales asépticas, que también esterilizan el material de embalaje. Las pulpas de fruta se almacenan generalmente en grandes contenedores

que pueden ir desde un barril de 120 L hasta tanques de acero inoxidable de más de cien metros cúbicos (Szenes, 1991).

### **La actividad antioxidante**

Las especies reactivas de oxígeno (EROs) son compuestos o especies reactivas que son altamente inestables y reactivos frente a otras moléculas. Muchas EROs son continuamente producidas en el organismo como consecuencia del metabolismo normal de las células, a partir del oxígeno molecular utilizado ( $O_2$ ) para obtener energía. Por lo tanto, esta generación de EROs es un aspecto inevitable en la vida de los organismos aerobios (Lushchak, 2011). Las EROs juegan un rol importante en la señalización celular y la neurotransmisión, y también mantienen la homeostasis en los tejidos normales (Yamamoto, 2000). Estas especies son generadas en mitocondrias y otras organelas, pero además el hombre está expuesto permanentemente a diferentes factores ambientales, como radiaciones ionizantes, rayos UV, tabaco, radiación gamma, aerosoles químicos, entre otros, que también estimulan la producción de estas especies reactivas en sus células (Limón-Pacheco y Gonsebatt, 2009).

En condiciones normales, al mismo tiempo que las EROs son generadas, también son eliminadas mediante un sofisticado sistema de defensa antioxidante endógeno, logrando un estado de equilibrio en la célula (Lushchak, 2011). Sin embargo, la generación de EROs en exceso conduce a un desequilibrio en el balance antioxidante/pro-oxidante del cuerpo humano denominado “estrés oxidativo” (Limón-Pacheco y Gonsebatt, 2009). Bajo estas condiciones, dichas especies producen reacciones en cadena, capaces de dañar o destruir la función de las biomoléculas. Así, por ejemplo, la oxidación de proteínas conduce a la formación de grupos carbonilos en sus estructuras, haciéndolas más susceptibles a la degradación proteolítica. En el caso del ADN (ácido desoxirribonucleico), la reacción con especies reactivas (EROs y otras) conduce a mutaciones, ya sea por eliminaciones, inserciones y/o reorganizaciones en pares de bases. También, la oxidación de lípidos inducida por especies reactivas causa alteraciones en las funciones de las membranas celulares, modificando su permeabilidad y desestabilizándolas. Finalmente, este daño sobre la integridad y funcionalidad de las biomoléculas culmina impactando en una variedad de procesos bioquímicos y fisiológicos que pueden llevar incluso a la muerte celular (Carocho y Ferreira, 2013; Gaté, Paul, Nguyen Ba, Tew, y Tapiero, 1999). Muchos estudios demuestran que el daño oxidativo causado por estos agentes pro-oxidantes se encuentra estrechamente asociado a la patogénesis de diversas enfermedades crónicas y degenerativas del hombre, como afecciones del sistema nervioso, cardiovascular, endócrino y

renal, o en enfermedades como cáncer y procesos inflamatorios (Lobo, Phatak, y Chandra, 2010).

Un antioxidante puede ser definido como cualquier sustancia que, cuando está presente en bajas concentraciones en relación a las biomoléculas como sustratos oxidables, puede prevenir, reducir o retrasar la destrucción oxidativa de las mismas (Halliwell, 1995). Los organismos cuentan con un sistema de defensa antioxidante, pero muchas veces no es suficiente para contrarrestar el efecto de los radicales libres, por lo que es necesario reforzarlo con antioxidantes exógenos para mantener las concentraciones de las especies reactivas en niveles bajos y, de esta manera, conservar la homeostasis del organismo (Pietta, 2000). Este sistema de defensa está constituido por los antioxidantes naturales que el hombre incorpora por medio de los alimentos que ingiere. Las principales fuentes de estos antioxidantes naturales exógenos son las frutas, las verduras, los cereales y los alimentos derivados de su procesamiento, debido al alto contenido en compuestos polifenólicos, que son un grupo muy heterogéneo de fitoquímicos que derivan del metabolismo secundario de las plantas (Rice-Evans, 2001; Scalbert, Manach, Morand, y Rémésy, 2005).

Estas sustancias no tienen una función nutricional clásicamente definida, tampoco se las considera esenciales para la salud del hombre, sin embargo, pueden tener un impacto significativo en el curso de determinadas enfermedades y ser indispensables a largo plazo para la salud (Martínez-Valverde, Periago, y Ros, 2000). Los polifenoles son capaces de proteger a los constituyentes celulares frente al daño oxidativo generado por la sobreproducción de radicales libres, evitando de este modo los efectos del deterioro de las proteínas, ácidos nucleicos y lípidos celulares (Rice-Evans, 2001). Por este motivo, pueden reducir el riesgo de contraer enfermedades asociadas al estrés oxidativo. Aunque en la actualidad no se han identificado claramente los mecanismos de acción de estos compuestos, numerosos estudios indican que su elevada capacidad antioxidante puede considerarse como la actividad biológica fundamental para la promoción de la salud y prevención de dichas enfermedades en el hombre (Gaté *et al.*, 1999).

Las melanoidinas son moléculas de estructuras poliméricas heterogéneas de elevado peso molecular que en su estructura contienen nitrógeno y tienen un color pardo característico. Típicamente se generan como producto de las etapas finales de la denominada reacción de Maillard, al someter determinados alimentos a altas temperaturas. Numerosos autores han informado que estas moléculas presentan una posible actividad antioxidante, antihipertensiva, prebiótica y antimicrobial en sistemas modelo (Borrelli y Fogliano, 2005; Kitryte, Adams, Rimantas Venskutonis, y De Kimpe, 2012). Además se ha evaluado estos efectos en sistemas reales, en los que se ha demostrado la capacidad de las melanoidinas provenientes de galletitas

dulces para proteger ciertas células humanas (Hep G2) contra el daño provocado por radicales libres. Las dos principales fuentes de melanoidinas son el café y las galletitas dulces (Pastoriza y Rufián-Henares 2014).

El objetivo de este capítulo fue lograr un mejoramiento en la calidad nutricional de las galletitas dulces con el reemplazo parcial de grasa y azúcar, mediante la incorporación de pulpas de fruta y de fibras, manteniendo la calidad tecnológica.

## Procedimiento experimental

### **Materiales**

Las pulpas de durazno y de pera fueron provistas por Dulcor SA. El proceso de elaboración de las pulpas realizado por la empresa, fue el siguiente:

Se recibe la materia prima, a las que se realiza un análisis de pesticidas y se controla el contenido de sólidos solubles. Luego, se ponen en remojo con agua, se lavan con un sistema de aspersión y abrasión y se someten a un proceso de selección, en el que se eliminan las frutas deterioradas, los palos, hojas y otros residuos de las plantas. Después, pasan por un proceso de molienda con el fin de reducir el tamaño para luego ser cocinadas en agua entre 85 y 100 °C. Una vez cocidas las frutas, se procede a eliminar el carozo o semillas y la piel mediante el uso de mallas. Luego, se concentran mediante eliminación de agua, se esterilizan y se envasan en bolsas asépticas, previo control microbiológico.

### **Caracterización de las pulpas de fruta**

El contenido de humedad se determinó según lo descrito en el Capítulo 2. El contenido de sólidos solubles se midió con un refractómetro.

### **Elaboración de masas y galletas**

El método y la formulación de las galletitas utilizados son diferentes al de los capítulos anteriores. Esto se debe a que en el presente capítulo se persigue el objetivo de obtener un producto saludable, por lo tanto se redujo la cantidad de azúcar, utilizando povidexrosa (Sigma Aldrich, EUA número de CAS [68424-04-4](#)) para imitar el efecto de la sacarosa, se reemplazó parcialmente la grasa saturada por aceite comercial alto oleico, se incorporó inulina como reemplazo parcial de harina y se incorporaron las pulpas de durazno y pera.

Para la elaboración de las masas, primero se mezcló el azúcar, la leche en polvo, la sal y el agente leudante; se agregó la grasa y se batió durante 2 minutos hasta obtener una crema. Luego se incorporó la pulpa de fruta y el agua y se batió por 1 minuto. Por último, se añadió la harina, inulina y povidexrosa y se batió durante 2 minutos. El moldeado y horneado de las piezas se realizó según lo descrito en el Capítulo 2. Con el objetivo de evaluar los efectos de la reducción de grasa y azúcar en la formulación de las galletitas, se elaboraron masas con 50 y 75% de grasa de las masas control y otras con 50 y 75% de azúcar, manteniendo los demás ingredientes constantes (Tabla 6.II). Se realizaron al menos dos lotes por cada formulación.

Tabla 6.II. Ingredientes utilizados en las distintas formulaciones de galletitas

Ingredientes	Control	75% Azúcar	50% Azúcar	75% Grasa	50% Grasa
Harina [g]	33,75	33,75	33,75	33,75	33,75
Azúcar granulada [g]	20,25	15,20	10,13	20,25	20,25
Margarina [g]	6,75	6,75	6,75	5,06	3,38
Aceite [g]	5,40	5,40	5,40	4,05	2,70
Inulina [g]	11,25	11,25	11,25	11,25	11,25
Polidextrosa [g]	3,75	3,75	3,75	3,75	3,75
Pulpa de fruta [g]	10,50	10,50	10,50	10,50	10,50
Agua [g]	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Leche [g]	1,65	1,65	1,65	1,65	1,65
Bicarbonato de sodio [g]	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Sal [g]	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33

### Evaluación de las masas

La microestructura de las masas se evaluó en un microscopio confocal Nikon Eclipse C1si (Nikon Inc., Tokyo, Japan), como se describió en el Capítulo 2.

El análisis calorimétrico de las masas formuladas con ambas pulpas y con los dos niveles de reducción de grasa y azúcar se llevó a cabo según lo descrito en el Capítulo 2.

Para evaluar el comportamiento reológico de las masas con incorporación de pulpa de frutas se llevaron a cabo ensayos de fluencia y de viscoelasticidad (Capítulo 2).

Los cambios en las dimensiones de las piezas durante el proceso de horneado se evaluaron tomando videos de las galletitas durante el horneado, como se indicó en el Capítulo 2.

### Evaluación de la calidad de galletitas

La evaluación de la calidad de las galletitas con incorporación de pulpa de fruta se llevó a cabo mediante la determinación del factor galletita, el color superficial y el análisis de la textura, según la metodología descrita en el Capítulo 2.

### Determinación de la actividad antioxidante

### Preparación de las muestras

Los análisis de actividad antioxidante se realizaron a partir de los extractos de pulpas y galletitas liofilizadas. 100 mg de muestra se homogenizaron con 1,5 mL de solvente (acetona:agua, 70:30 con 1% de HCl) durante cinco minutos. Luego se centrifugaron a 10.000g durante 10 min. El sobrenadante obtenido fue separado, y el sedimento sólido re-extraído con 1,5 mL del solvente de extracción como se describió anteriormente. Esto se repitió tres veces. Las tres fracciones de extractos obtenidas fueron combinadas y almacenadas a -80 °C hasta su análisis.

Para evaluar la capacidad antioxidante de las pulpas y galletitas, se determinó el contenido de polifenoles totales, la capacidad atrapadora de radicales libres y la capacidad de reducción de férrico (Capítulo 2).

El perfil de polifenoles de los extractos se midió por HPLC, según lo descrito en el Capítulo 2.

### Evaluación sensorial

Para la evaluación sensorial, se siguió la metodología descrita en el Capítulo 2. Las evaluaciones de las muestras con pulpa de durazno y de pera se realizaron en dos días distintos. Los encargados de realizar las evaluaciones fueron paneles de jueces semientrenados pertenecientes al Laboratorio de Química Biológica (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba). Los paneles constaron de 17 (siete hombres y 10 mujeres) y 14 (cinco hombres y nueve mujeres) jueces para las evaluaciones de galletitas con pulpa de durazno y pulpa de pera, respectivamente.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó según se describió en el Capítulo 2.

## Resultados y discusión

### Caracterización de las pulpas de fruta

Para caracterizar las pulpas de fruta se evaluó el contenido de sólidos solubles (grados Brix o °B) a 25 °C. En este caso, los sólidos solubles se relacionan a la sacarosa, por lo tanto °B (%p/p) indica la masa de sacarosa por cada cien unidades de masa de la disolución y se determina mediante el uso de refractómetro. Este equipo se basa en la medida del índice de refracción, es decir, en el cambio de la velocidad de la luz al atravesar dos medios de distinta naturaleza (el aire y la disolución). Los parámetros evaluados se informan en la Tabla 6.III. La pulpa de pera presentó 32,77 °B (es decir 32,77 g de sólidos solubles/100 g de muestra), mientras que el durazno presentó 28,13 °B, siendo estos valores estadísticamente diferentes. Balestra *et al.* (2011) estudiaron el efecto del almacenamiento sobre pulpas de frutas (manzana, pera y durazno), determinando entre otros parámetros el contenido de sólidos solubles a distintos tiempos. Los valores informados en la pulpa de pera oscilaron entre 13,19 y 18,12 °B, mientras que los de durazno fueron entre 30,34 y 30,58 °B, según el tiempo de almacenamiento. Estos valores difieren de los observados en nuestro estudio, debido a que las pulpas tienen distinta concentración.

Se determinó el contenido de humedad de las pulpas de fruta por diferencia de pesado, luego de secar en estufa las muestras durante 24 horas (Tabla 6.III). Las muestras fueron estadísticamente diferentes entre sí, con valores de 62 % en la pulpa de durazno y 63,3 % en la de pera.

El pH de las pulpas fue 4,0 en durazno y 3,9 en pera. Estos valores se observaron dentro de los rangos informados por Balestra *et al.* (2011) y Gil, Tomás-Beltrán, Hess-Pierce y Kader (2002).

Tabla 6.III. Contenido de humedad y proteínas de las pulpas de durazno y pera.

Muestra	Sólidos solubles [°B]	%Humedad	pH
Durazno	28 ± 1 <sup>b</sup>	62 ± 1 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,5 <sup>a</sup>
Pera	33 ± 1 <sup>a</sup>	63,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	3,9 ± 0,4 <sup>a</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ . Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

## Evaluación de las masas de galletita

### Microscopía confocal

A partir de las imágenes tomadas mediante microscopía confocal, se pudo conocer la distribución de los principales ingredientes en la masa de las galletitas formuladas con pulpa de fruta y cómo afecta la reducción de grasa y azúcar a la microestructura del sistema. En la Figura 6.1 se muestran las microfotografías de las masas con un aumento de 10x. Al igual que en los capítulos anteriores, se observó un sistema bicontinuo, donde se vieron dos fases: una fase grasa teñida de verde y una fase no grasa teñida de rojo, compuesta de jarabe de azúcar con partículas de almidón (negro). A diferencia de los otros capítulos, en los que se evaluaron masas de galletitas con otra formulación, en este caso, la fase continua fue la roja y la fase grasa resultó discontinua. Es probable que esto se deba al desarrollo de una red de gluten, ya que estas formulaciones contienen mayor cantidad de agua que las estudiadas en los capítulos anteriores. Estas masas llevan parte de grasa semisólida (margarina) y parte de aceite líquido. El aceite se distribuye de forma menos homogénea que la margarina, formando lagunas. Por lo tanto, las micrografías obtenidas de estas masas difieren sustancialmente de las obtenidas en capítulos anteriores. Estos resultados coinciden con los de Sciarini *et al.* (2013), quienes observaron que a menor contenido de sólidos en la grasa, la fase grasa se distribuye menos homogéneamente.

Con respecto a las formulaciones control, la masa con pulpa de pera mostró mayor fase grasa que la de durazno (Figura 6.1 a y d). La reducción de azúcar, tanto en las masas de durazno como de pera (Figura 6.1 b y e) produjo una redistribución de las fases: la grasa se vio más intensa y homogéneamente distribuida en el campo, probablemente debido a que al reducir la cantidad de azúcar en la formulación, proporcionalmente se incrementó la cantidad de grasa. Este cambio en las proporciones resultó en la disminución de las lagunas de aceite que se vieron en las formulaciones control. La reducción de grasa (Figura 6.1 c y f), tal como era esperado, se evidenció en las microfotografías como una sustancial reducción de la coloración verde y un proporcional incremento de la fase no grasa (roja). Además, hubo un cambio en la distribución de la fase grasa, donde se agrega sin rodear a los gránulos de almidón. Por otro lado, en las imágenes de ambas pulpas se puede observar manchas negras que corresponden a burbujas de aire.

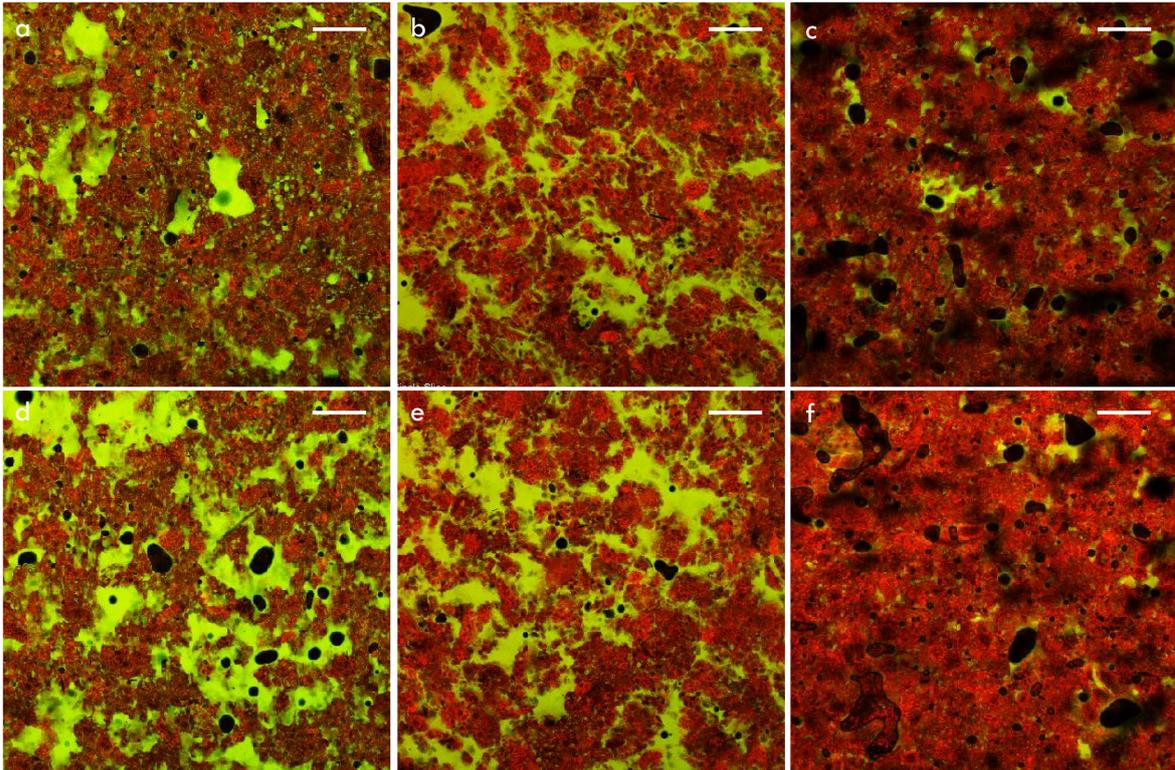


Figura 6.1. Imágenes de microscopia confocal. Masa teñida con Rodamina B (proteínas y carbohidratos en rojo) y Rojo Nilo (grasa en verde). Los gránulos de almidón no están teñidos (negro). a: durazno control. b: durazno 50% azúcar. c: durazno 50% grasa. d: pera control. e: pera 50% azúcar. f: pera 50% grasa. La barra corresponde a 200  $\mu\text{m}$ .

## Ensayos reológicos

### Ensayo de fluencia

Para conocer el comportamiento de las masas sometidas a grandes deformaciones, se realizó un ensayo de relajación (Tabla 6.IV). En todos los parámetros medidos, se observaron diferencias significativas entre las masas control formuladas con las pulpas, siendo la masa con durazno la que presentó los mayores valores. La *FM* de la muestra control formulada con pulpa de durazno (Dcontrol) (184 N) resultó 40% mayor que la muestra control formulada con pulpa de pera (Pcontrol) (131 N). Los módulos elásticos presentaron valores de 16,1 Pa ( $E_1$ ) y 7,0 Pa ( $E_2$ ) en la muestra con pera, mientras que la masa con durazno los valores de estos parámetros fueron 28 Pa y 14 Pa, respectivamente. El módulo viscoso también fue superior en Dcontrol (157 Pa.s) que en Pcontrol (88 Pa.s). Estos resultados indican que las masas formuladas con pulpa de durazno presentan mayor consistencia que las formuladas con pulpa de pera.

La reducción de grasa resultó en un incremento de la *FM*, en las masas formuladas con ambas pulpas. Los módulos elásticos  $E_1$  y  $E_2$  mostraron un aumento en las piezas con pulpa de pera, mientras que en las de durazno no presentaron diferencias con el control. Con respecto a

la viscosidad, ambas pulpas incrementaron su valor con la reducción de grasa, aunque este incremento fue más sutil en las masas con durazno. Estas observaciones, coinciden con los resultados obtenidos en el primer capítulo y con lo informado por varios autores, quienes concluyeron que la masa de las galletitas se vuelve más consistente cuando la formulación contiene menor cantidad de grasa, debido a la función que tiene la grasa de incorporar y retener aire y de suavizar la masa (Maache-Rezzoug *et al.*, 1998; Pareyt, Brijs, *et al.*, 2010; Sudha *et al.*, 2007). Por otro lado, según lo estudiado en el Capítulo 3, la reducción de grasa en el sistema puede resultar en el desarrollo de gluten.

La reducción de azúcar también aumentó el valor la *FM* en las masas con ambas pulpas, el mayor incremento (94%) fue en la muestra P50A. Con respecto a los módulos elásticos, solo hubo un incremento significativo en el máximo nivel de reducción de las masas con pulpa de pera, siendo el resto de las muestras estadísticamente iguales al control. La viscosidad también se vio afectada en todos los casos, excepto en D75A que resultó igual al control (probablemente por el alto error experimental asociado a este valor). Según lo estudiado en el Capítulo 3, estos resultados eran esperados, ya que la reducción de azúcar resulta en una disminución de la fase líquida del sistema. Al igual que en la reducción de grasa, se pudo observar que las masas más afectadas fueron las formuladas con pulpa de pera.

Tabla 6.IV. Parámetros de relajación de las masas de galletitas con pulpas de fruta. *FM*: fuerza máxima.  $E_1$ : componente elástica 1.  $E_2$ : componente elástica 2.  $\eta$ : componente viscosa. P: pera. D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Muestra	$FM$ [N]	$E_1$ [Pa]	$E_2$ [Pa]	$\eta$ [Pa.s]
DControl	184 ± 26 <sup>Ac</sup>	28 ± 8 <sup>Aa</sup>	14 ± 2 <sup>Aa</sup>	157 ± 31 <sup>Ab</sup>
D75G	210 ± 4 <sup>bc</sup>	29 ± 2 <sup>a</sup>	11,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	159 ± 22 <sup>b</sup>
D50G	243 ± 15 <sup>ab</sup>	31 ± 3 <sup>a</sup>	12,8 ± 0,9 <sup>ab</sup>	180 ± 13 <sup>b</sup>
D75A	221 ± 15 <sup>bc</sup>	26 ± 2 <sup>a</sup>	12,5 ± 0,8 <sup>ab</sup>	195 ± 18 <sup>b</sup>
D50A	263 ± 13 <sup>a</sup>	31 ± 4 <sup>a</sup>	12,5 ± 0,8 <sup>ab</sup>	250 ± 2 <sup>a</sup>
PControl	131 ± 15 <sup>Bb</sup>	16,1 ± 0,4 <sup>Bb</sup>	7,0 ± 0,8 <sup>Bc</sup>	88 ± 9 <sup>Bd</sup>
P75G	265 ± 15 <sup>a</sup>	33 ± 1 <sup>a</sup>	14 ± 3 <sup>ab</sup>	203 ± 38 <sup>b</sup>
P50G	239 ± 51 <sup>a</sup>	31 ± 5 <sup>a</sup>	13 ± 3 <sup>ab</sup>	181 ± 34 <sup>bc</sup>
P75A	172 ± 28 <sup>b</sup>	19,5 ± 2,3 <sup>b</sup>	10,9 ± 2,4 <sup>bc</sup>	147 ± 28 <sup>c</sup>
P50A	255 ± 34 <sup>a</sup>	27,7 ± 4,2 <sup>a</sup>	15,7 ± 1,4 <sup>a</sup>	327 ± 29 <sup>a</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ . Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

### Viscoelasticidad

En la Figura 6.2 se muestra la evolución de los módulos  $G'$  y  $G''$  y  $\tan \delta$  de las masas formuladas con ambas pulpas. En todos los casos, las modificaciones introducidas en las formulaciones cambian los valores de los módulos pero no la forma general de la curva. Además de la incorporación de las pulpas, las masas utilizadas en el presente capítulo se elaboraron con mayor contenido de fibra y agua que las de los capítulos anteriores. A pesar de estas diferencias en las formulaciones, los valores de los módulos de estas masas se observaron en el mismo orden de magnitud que las de los capítulos anteriores, con  $G'$  siempre por encima de  $G''$ , indicando un comportamiento predominantemente sólido viscoelástico, con una leve dependencia de la frecuencia. Esto indica que el tipo de masa es similar a los resultados informados en todos los capítulos. Al igual que lo observado en el ensayo de fluencia, la masa control de durazno presentó mayor valor de ambos módulos que la de pera, indicando mayor consistencia.

Los valores de  $\tan \delta$  fueron siempre menores a 1, lo que indica una predominancia del módulo elástico sobre el viscoso. La forma general de las curvas fue similar en todas las masas, donde se observó una disminución alrededor de 0,5 Hz de frecuencia y un posterior incremento.

Esto significa que a 0,5 Hz el sistema se volvió menos viscoso y luego recuperó la consistencia inicial.

La reducción de grasa resultó en un incremento de  $G'$  y  $G''$  solo en la muestra P50G, mientras que D50G y P75G fueron estadísticamente iguales al control (Tabla 6.V). Llamativamente, D75G presentó valores de ambos módulos significativamente menores que los del control. Esto puede deberse a que estas masas tienen en proporción más agua respecto a la masa control, lo que podría disminuir la viscosidad. Sin embargo, cuando se reduce la cantidad de grasa al 50%, las partículas de harina quedan expuestas para ser hidratadas por el agua y puede resultar en la formación parcial de gluten, incrementando la consistencia del sistema. El resto de las muestras se comportaron como era esperado, según los resultados obtenidos en el ensayo de fluencia. La  $\tan \delta$  presentó un aumento progresivo con la reducción de grasa, pero solo P50G fue estadísticamente mayor que el control. Este incremento en el valor de  $\tan \delta$  se interpreta como un mayor incremento de la componente viscosa que la componente elástica.

Cuando en las formulaciones se redujo la cantidad de azúcar, la consistencia de las masas con pulpa de durazno no presentó diferencias estadísticas en ninguno de los niveles de reducción, mientras que las masas con pulpa de pera resultaron en un significativo y progresivo aumento de  $G'$  y  $G''$ . El valor de la  $\tan \delta$  disminuyó en las muestras con el máximo nivel de reducción, en las masas con ambas pulpas, indicando un comportamiento más elástico que viscoso.

Tal como se observó en el ensayo de compresión, las masas más afectadas por la reducción de grasa y de azúcar fueron las que contenían pulpa de pera en su formulación.

La diferencia en el comportamiento de las masas formuladas con ambas pulpas, puede deberse a que la pulpa de durazno tiene menor cantidad de sólidos solubles que la pulpa de pera. Estos componentes en solución, contribuyen a la fase líquida, disminuyendo la consistencia de la masa de las galletitas y por consiguiente, las masas formuladas con pulpa de pera requieren menos fuerza para deformarlas y presentan menor valor de los módulos.

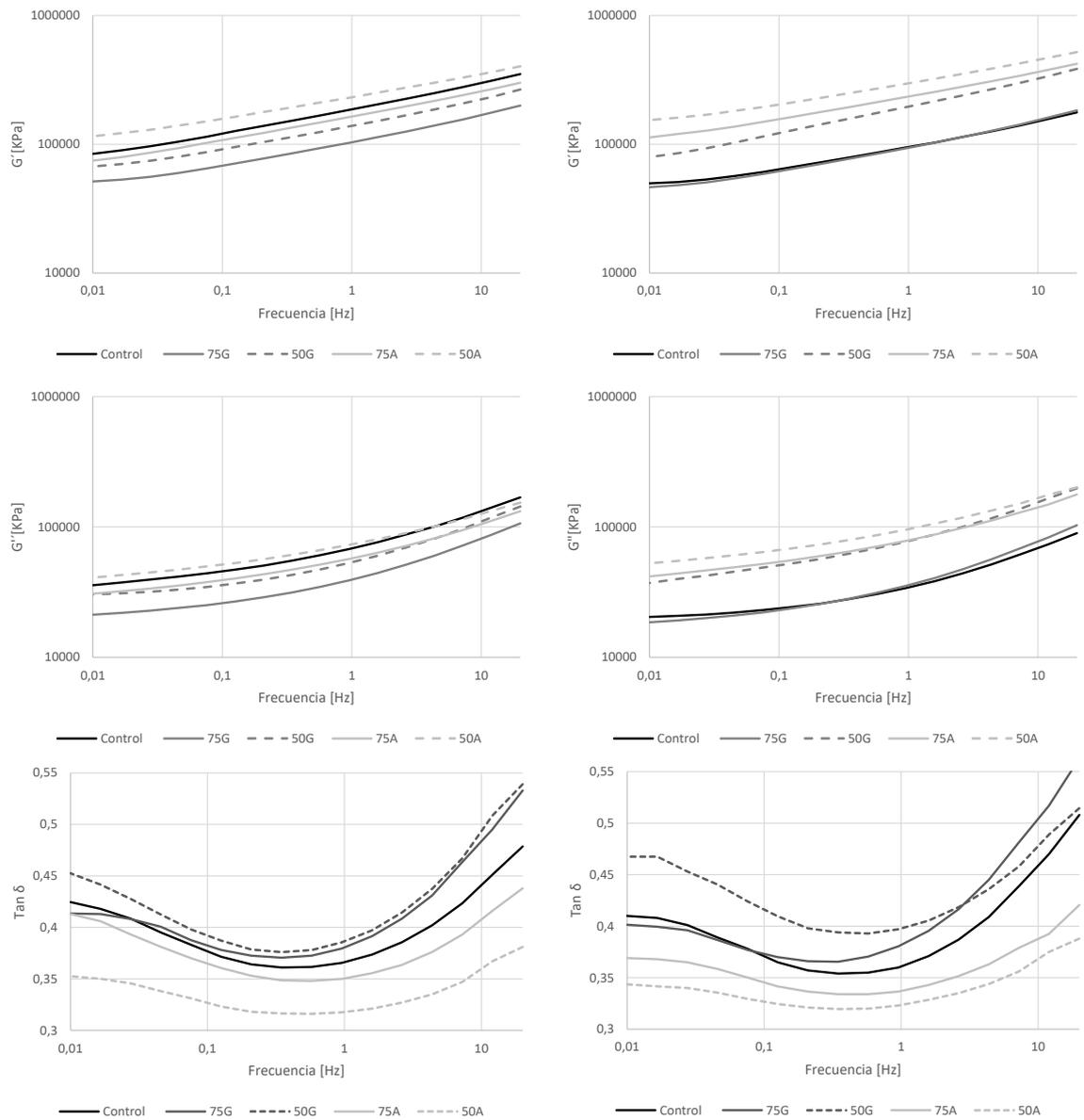


Figura 6.2. Evolución del módulo elástico ( $G'$ ), módulo viscoso ( $G''$ ) y  $\text{Tan } \delta$  de las masas de galletita con pulpa de frutas a partir de barrido de frecuencia a 25 °C. P: pera. D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Tabla 6.V. Parámetros reológicos de las masas de galletita con incorporación de fibra a 25 °C y frecuencia 1 Hz. P: pera. D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Muestra	G' [KPa]	G'' [KPa]	Tan $\delta$
Dcontrol	185000 <sup>Aab</sup>	67850 <sup>Aa</sup>	0,37 <sup>Aab</sup>
D75G	102500 <sup>c</sup>	39050 <sup>b</sup>	0,38 <sup>ab</sup>
D50G	138000 <sup>bc</sup>	53000 <sup>ab</sup>	0,39 <sup>a</sup>
D75A	162500 <sup>b</sup>	56900 <sup>ab</sup>	0,35 <sup>b</sup>
D50A	230000 <sup>a</sup>	73000 <sup>a</sup>	0,32 <sup>c</sup>
PControl	94400 <sup>Bd</sup>	34000 <sup>Bc</sup>	0,36 <sup>Abc</sup>
P75G	93050 <sup>d</sup>	35350 <sup>c</sup>	0,38 <sup>ab</sup>
P50G	194000 <sup>c</sup>	77150 <sup>b</sup>	0,4 <sup>a</sup>
P75A	233000 <sup>b</sup>	78300 <sup>b</sup>	0,34 <sup>cd</sup>
P50A	295000 <sup>a</sup>	95350 <sup>a</sup>	0,32 <sup>d</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ). Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

Los módulos elástico y viscoso de las masas control de ambas pulpas mostraron un comportamiento similar en el barrido de temperatura, donde  $G'$  se mantuvo por encima de  $G''$  a lo largo de todo el ensayo. Ambos módulos disminuyeron con la temperatura, indicando una disminución de la consistencia (Figura 6.3). Sin embargo, esta disminución fue mucho menor que los valores obtenidos en los capítulos anteriores. Esto, puede deberse a que las masas con pulpas, proporcionalmente contienen menos azúcar y grasa sólida que aporten a la fase líquida al disolverse y fundirse, respectivamente, con el incremento de la temperatura. Nuevamente, se observaron tres zonas: la primera, entre 25 y 50°C con una rápida disminución de  $G'$  y  $G''$  debida a la fusión de la grasa y la disolución del azúcar. En la segunda zona (entre 50 y 80 °C), la consistencia se mantuvo relativamente constante y desde los 80 °C hasta el final del ensayo la pendiente de ambos módulos aumentó. Estas curvas coinciden con las informadas en el capítulo 2 y con estudios realizados por otros autores (Laguna, Vallons y Jurgens, 2012).

La reducción de grasa no modificó la forma general de las curvas de  $G'$  y  $G''$  de las masas con pulpa de durazno, aunque D50G presentó mayor consistencia. De hecho, las curvas de las muestras D75G coincidieron casi exactamente con las de la masa control, por lo que en el gráfico se observan superpuestas. Sin embargo, las masas con pulpa de pera presentaron otro comportamiento: la muestra P50G no presentó diferencias con el control, aunque su

consistencia fue mayor, pero la curva de P75G a partir de los 65 °C mostró un incremento de la pendiente con respecto a Pcontrol, por lo que al final del ensayo los valores de los módulos de P75G fueron menores que los de Pcontrol. El incremento de la consistencia de las masas con máximo nivel de reducción de grasa era esperado, debido a la función suavizante de la grasa y al posible desarrollo parcial de gluten. Por otro lado, la disminución de los dos módulos en las muestras 75G puede deberse a que proporcionalmente hay más agua en el sistema, suficiente para reducir la consistencia pero no para desarrollar gluten.

Las curvas de  $\text{Tan } \delta$  de las masas con ambas pulpas fueron muy diferentes a las informadas en los capítulos anteriores, ya que presentaron una disminución a lo largo de todo el barrido de temperatura. Esto indica que la componente elástica fue incrementando su valor sobre la viscosa en todo el ensayo. Esta predominancia de la componente elástica sobre la viscosa con la temperatura se puede relacionar con la hidratación e interacción de las proteínas en estas masas. Con respecto a las masas con durazno, la reducción de 50% de grasa resultó en un leve incremento de los valores de  $\text{Tan } \delta$  solo al principio (aproximadamente hasta 55-60 °C), mientras que D75G se mantuvo igual al control. Resultados similares se observaron en las muestras con pulpa de pera, aunque la masa con máximo nivel de reducción de grasa mostró mayores valores que el control, a cualquier temperatura, por lo que la forma de ambas curvas fue muy similar.

La reducción de azúcar presentó un comportamiento muy similar en las masas con ambas pulpas, donde las muestras 75G presentaron una  $\text{Tan } \delta$  menor que el control al principio del ensayo y luego disminuyeron su pendiente, presentando valores similares al control hacia el final del barrido. El máximo nivel de reducción de azúcar presentó un comportamiento semejante al de las muestras 75G, pero con menores valores de  $\text{Tan } \delta$  al principio del ensayo.

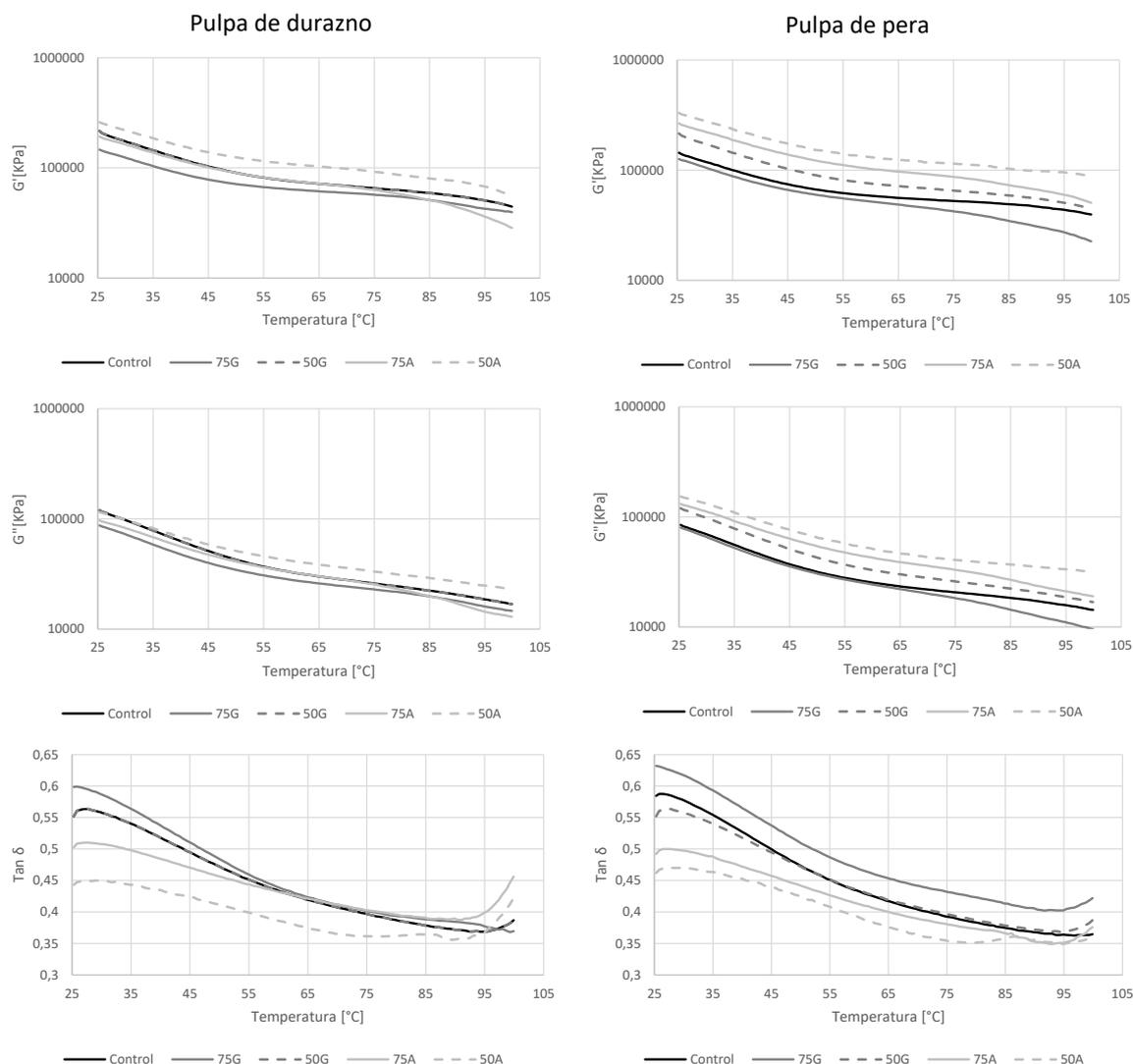


Figura 6.3. Evolución del módulo elástico ( $G'$ ), módulo viscoso ( $G''$ ) y  $\text{Tan } \delta$  de las masas de galletita con pulpa de frutas a partir de barrido de temperatura. P: pera. D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

### Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las muestras se analizaron mediante DSC con el objetivo de determinar si durante el proceso de cocción ocurre gelatinización de almidón y para conocer el comportamiento de la grasa.

En los termogramas de todas las muestras no se observaron picos en todo el rango analizado. Se confirmó que en estas masas no se produce gelatinización del almidón, debido a la escasa cantidad de agua en la formulación. Tampoco se registró el pico correspondiente a la fusión de la grasa, en ninguna de las muestras. Esta ausencia se debe a que, a diferencia de las

masas estudiadas en los capítulos anteriores, aquí se utilizó grasa sólida a temperatura ambiente en muy baja proporción y aceite líquido. Tanto la reducción de grasa como la de azúcar no mostraron diferencias con las curvas control. Esto se relaciona con la escasa caída de la viscosidad observada en los barridos de temperatura (Figura 6.3).

#### Expansión durante el horneado

En la Figura 6.4 se muestra la evolución del diámetro y la altura de las galletitas formuladas con pulpa de durazno y de pera, durante el proceso de horneado. En la Tabla 6.VI se informan los parámetros derivados de estas curvas (diámetro máximo, tiempo de fijación, temperatura de fijación, altura máxima y colapso).

Estas masas se elaboraron con reemplazo parcial de grasa sólida por aceite (líquido a temperatura ambiente), por lo que se espera que la expansión de las piezas en el horno se vea afectada. Además, en este capítulo se decidió trabajar con azúcar granulada (en lugar de azúcar impalpable que se utilizó en todas las formulaciones anteriores), ya que el tamaño de partícula afecta la velocidad de disolución en el amasado y durante el horneado. Con el objetivo de prologar el tiempo de expansión de las masas se seleccionó la sacarosa granulada, ya que según la literatura, un mayor tamaño de partícula produce un retraso de la disolución durante el amasado y el horneado. Sin embargo, este efecto puede generar mayor desarrollo de gluten y gelatinización de almidón, resultando en una galleta de baja calidad, en comparación con las formuladas con azúcar impalpable (Meera Kweon *et al.*, 2009).

La forma general de las curvas de diámetro de todas las muestras es similar al de capítulos anteriores y a los resultados de otros investigadores (Miller y Hosenev, 1997). Se observó un incremento progresivo de la expansión de la pieza hasta que alcanzó un valor máximo, seguido de un encogimiento. Como era esperado, al estar estas masas formuladas con reemplazo parcial de grasa sólida por aceite, el tiempo de fijación se produjo antes (entre 1,7 y 2,3 min) que en las masas utilizadas en los capítulos anteriores y por lo tanto su expansión fue menor (Figura 6.4, Tabla 6.VI). Por otro lado, sufrieron mayor contracción luego del TF, resultando en piezas más pequeñas, cuyo diámetro fue similar al inicial. Con respecto a la altura, se observó que las curvas presentaron un incremento hasta llegar a un máximo, luego del cual las piezas colapsaron pero en menor medida que las masas de los capítulos anteriores, por lo que la altura final de las piezas fue mayor. Además la AM se produjo a menor temperatura en las masas con pulpa de frutas. Estas diferencias pueden deberse a que se estaría desarrollando una red de gluten (como lo indicaron los valores de  $\text{Tan } \delta$  vs temperatura), ya que el contenido de agua en estas masas es mayor, mostrando una contracción elástica hacia el final del horneado, pudiendo sostener el crecimiento en altura.

La masa control formulada con pulpa de pera presentó mayor contracción en el diámetro que la formulada con durazno, llegando a un diámetro similar o menor al inicial. El DM no mostró diferencias estadísticas entre los controles de ambas pulpas, al igual que el resto de los parámetros.

El DM de las piezas disminuyó con el contenido de grasa en las galletitas formuladas con ambas pulpas, aunque no hubo diferencias significativas. El TF y la T°F también resultaron estadísticamente iguales al control, tal como era esperado, ya que como se mencionó anteriormente, el diámetro final de la galletita está controlado por la velocidad de expansión y por el tiempo de fijación (Hoseney y Rogers 1994; Miller y Hoseney 1997). Tanto la AM de las piezas como el colapso al final del horneado presentaron una disminución progresiva con la reducción de grasa. Esto se debe a que una de las funciones de la grasa es la incorporación y retención de aire durante el amasado (Jacob y Leelavathi 2007). Estas masas, presentan menor cantidad de aire y por lo tanto crecen menos en altura y lógicamente su colapso es menor.

Las curvas de las masas con reducción de azúcar de ambas pulpas se observaron por debajo del control y no presentaron diferencias entre sí en los parámetros DM, TF y T°F. Sin embargo, la AM y el colapso de las piezas disminuyeron gradualmente con la reducción de sacarosa, tal como se observó en el primer capítulo.

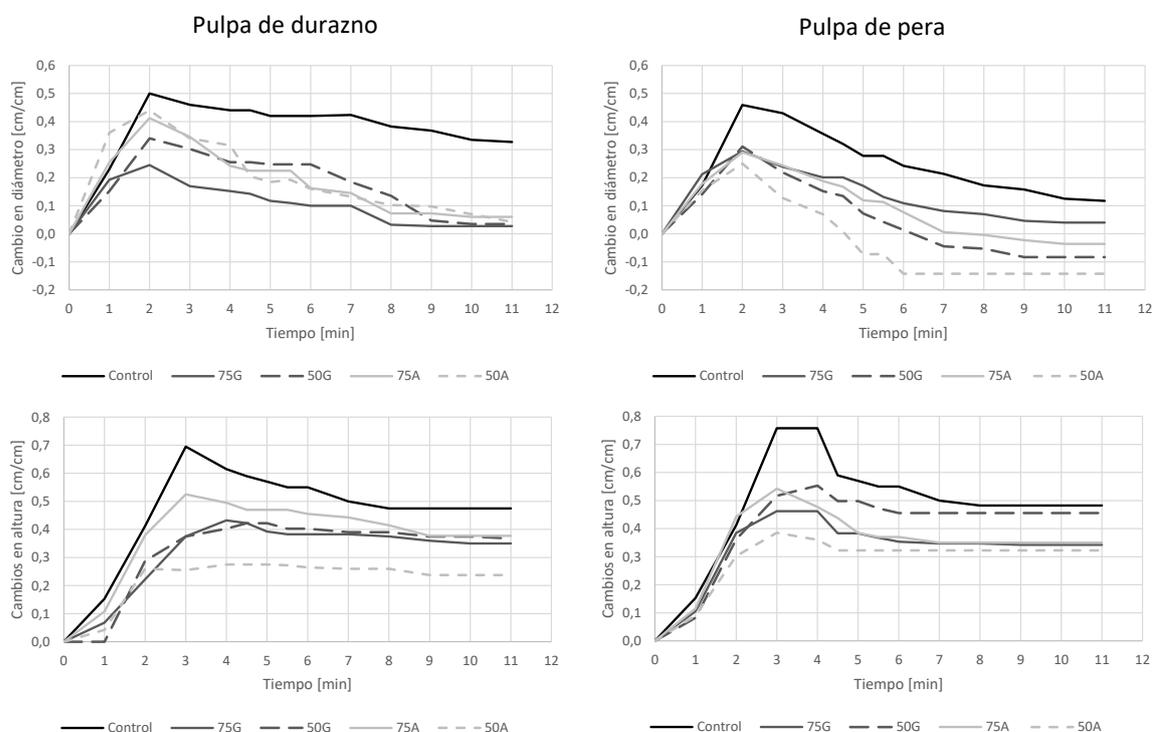


Figura 6.4. Evolución del diámetro y altura de las galletitas con pulpa de fruta durante el horneado. D: durazno. P: pera. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Tabla 6.VI. Parámetros de expansión en el horneado. DM: diámetro máximo; TF: tiempo de fijación; T: temperatura de fijación; AM: altura máxima. D: durazno. P: pera. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Muestra	DM [cm]	TF [min]	T°F [°C]	AM [cm]	Colapso [cm]
DControl	5,1 ± 0,8 <sup>Aa</sup>	2,0 ± 0,2 <sup>Aa</sup>	67 ± 3 <sup>Aa</sup>	1,18 ± 0,06 <sup>Aa</sup>	0,22 ± 0,01 <sup>Aa</sup>
D75G	4,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,5 <sup>a</sup>	60 ± 13 <sup>a</sup>	1,04 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,15 ± 0,03 <sup>b</sup>
D50G	4,93 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,5 <sup>a</sup>	60 ± 13 <sup>a</sup>	0,73 ± 0,03 <sup>d</sup>	0,03 ± 0,04 <sup>d</sup>
D75A	4,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,5 <sup>a</sup>	60 ± 13 <sup>a</sup>	0,91 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,08 ± 0,04 <sup>c</sup>
D50A	4,96 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,3 ± 0,5 <sup>a</sup>	70 ± 7 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,04 <sup>cd</sup>
PControl	5,2 ± 0,4 <sup>Aa</sup>	2,1 ± 0,4 <sup>Aa</sup>	68 ± 5 <sup>Aa</sup>	1,24 ± 0,07 <sup>Aa</sup>	0,28 ± 0,06 <sup>Aa</sup>
P75G	4,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,6 <sup>a</sup>	67 ± 12 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>bc</sup>	0,14 ± 0,04 <sup>bc</sup>
P50G	4,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	63 ± 10 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,10 ± 0,04 <sup>cd</sup>
P75A	5,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	68 ± 5 <sup>a</sup>	0,92 ± 0,03 <sup>bc</sup>	0,19 ± 0,07 <sup>b</sup>
P50A	4,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,7 ± 0,5 <sup>a</sup>	59 ± 12 <sup>a</sup>	0,84 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,02 <sup>d</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ . Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

### Evaluación de la calidad de las galletitas

En la Tabla 6.VII se informan los parámetros de calidad de las galletitas formuladas con pulpa de frutas. Tanto el factor galletita como el diámetro y la altura de los controles no presentaron diferencias estadísticas, coincidiendo con los resultados obtenidos en el ensayo de expansión durante el horneado.

La reducción de grasa resultó en una leve disminución del FG (9%) en el caso de P50G. En ningún caso los valores fueron estadísticamente diferentes al control. El diámetro y la altura de estas piezas tampoco se diferenciaron del control en las galletas formuladas con ambas pulpas.

La reducción de azúcar produjo disminución progresiva del diámetro de las piezas pero no modificó significativamente la altura. A pesar de esto, no se observaron diferencias en el factor galletita de ninguna de las muestras con respecto al control.

A diferencia de lo observado en el primer capítulo, donde tanto la reducción de grasa como la de azúcar afectaron drásticamente la calidad de las galletitas, la formulación utilizada en el presente capítulo no afectó las dimensiones de las piezas, como tampoco se observaron grandes cambios durante el horneado. Esto, se debe principalmente a que en los capítulos anteriores se utilizó una formulación más sencilla, que permite observar diferencias cuando se

modifica alguno de los ingredientes, mientras que en el presente capítulo la masa presentó mayor consistencia y evidente desarrollo de gluten, por lo que los cambios en el contenido de grasa y azúcar no tuvieron mayor influencia.

Tabla 6.VII. Diámetro, altura y Factor galletita de las galletas con pulpa de fruta. P: pera. D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Muestra	Factor galletita	%C	Diámetro [cm]	Altura [cm]	FM [N]
DControl	5,1 ± 0,3 <sup>Aab</sup>	0,5	4,58 ± 0,09 <sup>Aa</sup>	0,90 ± 0,09 <sup>Aa</sup>	97 ± 14 <sup>Aa</sup>
D75G	4,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	-4,1	4,53 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,94 ± 0,09 <sup>a</sup>	82 ± 1 <sup>b</sup>
D50G	4,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	-6,4	4,49 ± 0,05 <sup>ab</sup>	0,95 ± 0,05 <sup>a</sup>	97 ± 1 <sup>a</sup>
D75A	5,0 ± 0,3 <sup>ab</sup>	-1,9	4,40 ± 0,05 <sup>bc</sup>	0,89 ± 0,05 <sup>ab</sup>	77 ± 3 <sup>b</sup>
D50A	5,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	5,4	4,35 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,82 ± 0,02 <sup>b</sup>	52 ± 2 <sup>c</sup>
PControl	5,0 ± 0,3 <sup>Aab</sup>	0,0	4,58 ± 0,03 <sup>Aa</sup>	0,91 ± 0,03 <sup>Aab</sup>	88 ± 10 <sup>Bb</sup>
P75G	4,9 ± 0,1 <sup>ab</sup>	-2,5	4,50 ± 0,06 <sup>ab</sup>	0,92 ± 0,06 <sup>ab</sup>	85 ± 7 <sup>b</sup>
P50G	4,6 ± 0,1 <sup>b</sup>	-9,0	4,50 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,98 ± 0,02 <sup>a</sup>	109 ± 9 <sup>a</sup>
P75A	5,0 ± 0,3 <sup>ab</sup>	-0,1	4,45 ± 0,06 <sup>b</sup>	0,89 ± 0,06 <sup>b</sup>	56 ± 9 <sup>c</sup>
P50A	5,2 ± 0,5 <sup>a</sup>	2,1	4,36 ± 0,07 <sup>c</sup>	0,85 ± 0,07 <sup>b</sup>	46 ± 5 <sup>c</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ . Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

## Color

Los parámetros de color superficial de las galletitas control de pera y de durazno fueron similares ( $p > 0,05$ ) (Tabla 6.VIII). Los parámetros de color no se vieron modificados con la reducción de grasa y de azúcar en las muestras con ambas pulpas.

Los valores de  $L^*$  fueron más bajos que los observados en los capítulos anteriores (donde los valores oscilaron entre 65 y 70), mientras que los de  $a^*$  fueron más altos (en los capítulos anteriores se observaron valores de 6-7). Esta diferencia se debe principalmente a que las pulpas de fruta aportan color a la masa y por otro lado, puede estar ocurriendo reacción de Maillard en mayor grado, ya que las pulpas de fruta suelen tener azúcares reductores que reaccionan con grupos aminos provenientes de las proteínas, resultando en menor luminosidad y mayor pardeamiento superficial.

Según las investigaciones realizadas por León (1995) y P. Ribotta *et al.* (2002), ninguna de estas piezas sería aceptable industrialmente por presentar excesivos valores de  $L^*$ , significando que estas galletitas son muy oscuras.

Tabla 6.VIII. Color superficial de las galletitas formuladas con pulpa de fruta. P: pera. D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Muestra	L*	a*	b*
DControl	53 ± 2 <sup>Aa</sup>	14,8 ± 0,7 <sup>Aab</sup>	32,4 ± 0,8 <sup>Aa</sup>
D75G	53 ± 2 <sup>a</sup>	15,0 ± 0,8 <sup>a</sup>	33 ± 2 <sup>a</sup>
D50G	55 ± 4 <sup>a</sup>	14,7 ± 0,4 <sup>ab</sup>	32 ± 2 <sup>a</sup>
D75A	53 ± 2 <sup>a</sup>	14,1 ± 0,4 <sup>ab</sup>	33 ± 2 <sup>a</sup>
D50A	54 ± 2 <sup>a</sup>	13,6 ± 0,9 <sup>b</sup>	34,7 ± 0,7 <sup>a</sup>
PControl	53 ± 2 <sup>Aa</sup>	14,2 ± 0,4 <sup>Aab</sup>	32,2 ± 0,6 <sup>Aab</sup>
P75G	53 ± 2 <sup>a</sup>	14,4 ± 0,5 <sup>ab</sup>	31 ± 2 <sup>ab</sup>
P50G	52 ± 2 <sup>a</sup>	14,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	30,1 ± 0,7 <sup>b</sup>
P75A	51 ± 3 <sup>a</sup>	14 ± 1 <sup>b</sup>	32 ± 1 <sup>a</sup>
P50A	52 ± 3 <sup>a</sup>	13,7 ± 0,7 <sup>ab</sup>	33,0 ± 0,9 <sup>a</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ . Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las muestras control.

En comparación con los resultados de calidad de las galletitas del Capítulo 4, las piezas elaboradas con pulpa de frutas presentaron menor diámetro. Sin embargo, los valores de FG y de altura fueron similares. Esto, se debió a que la altura inicial de estas masas (antes de ser horneadas) fue menor. Los valores de fuerza de quiebre resultaron dentro del mismo orden de magnitud que las galletitas de los Capítulos 3 y 4. Con respecto a los parámetros de color, las galletitas con pulpa de fruta resultaron más pardas al resto debido al agregado de las pulpas.

### Actividad antioxidante

Se determinó el contenido de polifenoles totales (PT) y la capacidad antioxidante de las pulpas y galletitas mediante dos técnicas diferentes: FRAP y ABTS (Tabla 6.IX). Estos ensayos se realizaron sobre las pulpas de fruta, sobre todas las muestras de galletitas con incorporación de ambas pulpas y también sobre una muestra de galletita sin pulpa (elaborada con la formulación control utilizada en los capítulos anteriores), con fines comparativos.

El valor de PT de la pulpa de durazno (1531  $\mu\text{g}$  EAG/g muestra) fue significativamente mayor que el de pulpa de pera (1273  $\mu\text{g}$  EAG/g muestra). Gil *et al.* (2002) evaluaron el contenido de polifenoles totales de diversas variedades de duraznos, separando la pulpa de la piel. En pulpa informaron valores que oscilaron entre 22,8 y 104,2 mg EAG/100 g de muestra, mientras los valores de la piel fueron entre 67,0 y 183,6 mg EAG 100 g de muestra. Por otro lado Li *et al.* (2011) estudiaron el contenido de PT de pera e informaron un valor de entre 118,8 y 680,6 mg EAG /100 g de muestra, dependiendo de la variedad estudiada. Estos valores de PT se

encuentran en la fruta entera. Para poder comparar estos resultados, hay que corregir estos valores por el contenido de sólidos secos de cada muestra. La pulpa de durazno utilizada en nuestra formulación, contiene 38% de sólidos secos, mientras que en la pulpa de pera este valor es 36,70%. Por lo tanto, el contenido de PT corregido es ~4029 mg EAG/100 g de muestra y ~3468 mg EAG/100 g de muestra para la pulpa de durazno y pera, respectivamente. Según le USDA (United States Department of Agriculture), el durazno fresco contiene 11,13% de sólidos secos, mientras que la pera fresca contiene 16,04%. Según estos valores, el contenido de PT informado por Gil *et al.* (2002) oscilarían entre ~205 y ~936 mg EAG/100 g de muestra en pulpa y entre ~602 y ~1650 mg EAG/100 g de muestra en piel. Con respecto a los resultados de pera fresca informado por Li *et al.* (2011) corregidos por contenido de sólidos de la pera (16,04 según la USDA), los valores oscilarían entre 724 mg EAG/100 g de muestra y 4243 mg EAG/100 g de muestra. En el caso de la pulpa de durazno, los valores de PT obtenidos en el presente estudio son superiores a los informados por otros autores, mientras que los de la pulpa de pera se encuentran en el rango observado por Li *et al.* (2011). Es probable que los procesos térmicos a los que las frutas son sometidas para su concentración incrementen los valores de PT.

El contenido de PT de las galletitas control de pulpa de durazno fue de 376 y la de pera fue de 333  $\mu\text{g}$  EAG/g muestra. La galletita sin pulpa presentó un valor de 147  $\mu\text{g}$  EAG/g muestra. Este valor representó un 39% del contenido de PT de las galletitas con pulpa de durazno y un 44% del contenido de PT de las galletitas con pulpa de pera.

Tabla 6.IX. Contenido de polifenoles totales (PT), capacidad reductora (FRAP) y actividad antirradicalaria (ABTS) de las pulpas de fruta y galletitas. P: pera. D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Muestra	FRAP [ $\mu\text{g}$ EAG/g muestra]	ABTS [%]	PT [ $\mu\text{g}$ EAG/g muestra]
Galletita sin pulpa	0,019 $\pm$ 0,004	3,3 $\pm$ 0,2	147 $\pm$ 3
Pulpa de durazno	0,272 $\pm$ 0,006 <sup>aA</sup>	69,8 $\pm$ 0,7 <sup>aA</sup>	1531 $\pm$ 7 <sup>Aa</sup>
Dcontrol	0,05 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	10,10 $\pm$ 0,07 <sup>c</sup>	376 $\pm$ 8 <sup>d</sup>
D75G	0,058 $\pm$ 0,001 <sup>c</sup>	12,3 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>	430 $\pm$ 21 <sup>c</sup>
D50G	0,09 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	10,0 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	387 $\pm$ 4 <sup>b</sup>
D75A	0,048 $\pm$ 0,004 <sup>c</sup>	8,8 $\pm$ 0,4 <sup>d</sup>	379 $\pm$ 2 <sup>c</sup>
D50A	0,048 $\pm$ 0,001 <sup>c</sup>	8,4 $\pm$ 0,2 <sup>d</sup>	373 $\pm$ 12 <sup>c</sup>
Pulpa de pera	0,23 $\pm$ 0,02 <sup>aA</sup>	56 $\pm$ 2 <sup>aB</sup>	1273 $\pm$ 40 <sup>Ba</sup>
PControl	0,045 $\pm$ 0,004 <sup>c</sup>	8,79 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	333 $\pm$ 4 <sup>d</sup>
P75G	0,054 $\pm$ 0,004 <sup>b</sup>	11,0 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	387 $\pm$ 1 <sup>c</sup>
P50G	0,053 $\pm$ 0,001 <sup>b</sup>	10,7 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	421 $\pm$ 6 <sup>b</sup>
P75A	0,049 $\pm$ 0,001 <sup>bc</sup>	9,6 $\pm$ 0,3 <sup>bc</sup>	394 $\pm$ 6 <sup>c</sup>
P50A	0,047 $\pm$ 0,001 <sup>bc</sup>	9,8 $\pm$ 0,8 <sup>bc</sup>	391 $\pm$ 9 <sup>c</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ . Las letras mayúsculas se refieren a diferencias entre las pulpas.

En la harina de trigo blanca se han observado compuestos fenólicos en cantidades considerables, aunque significativamente menores que los observados en harinas integrales (Gélinas y McKinnon, 2006). Por otro lado, el uso de altas temperaturas (150 °C) afectó a los compuestos fenólicos de las masas durante la cocción, aunque el contenido de antioxidantes presentes en las galletitas aumentó significativa y exponencialmente. Durante el horneado se produce la reacción de Maillard y se generan melanoidinas con una importante capacidad de inhibir los radicales libres (Patrignani, Rinaldi, y Lupano, 2016). Por lo tanto, los polifenoles observados en la galletita sin pulpa pueden provenir de la harina de trigo (Arranz y Saura-Calixto, 2010) y/o pueden ser derivados de las reacciones de Maillard (melanoidinas).

Es sabido que muchos compuestos antioxidantes que se encuentran en masas de panificados son termolábiles, por lo tanto se espera que la capacidad antioxidante disminuya durante el horneado. Por otro lado diversos autores demostraron que la generación y acumulación de melanoides derivados de las reacciones de Maillard pueden incrementar las propiedades antioxidantes a altas temperaturas (Miranda, Berna, Salazar, y Mulet, 2009; Que,

Mao, Fang, y Wu, 2008), por lo que estas reacciones pueden estar contribuyendo a la cantidad de polifenoles totales.

Tanto la reducción de grasa como de azúcar incrementaron el contenido de PT en todas las muestras. Este aumento se debe a que al reducir la cantidad de uno de los ingredientes, aumenta proporcionalmente la cantidad de pulpas y de harina, que son los que aportan los polifenoles.

Con respecto a la capacidad reductora determinada por FRAP el valor de ambas fue estadísticamente igual, mientras que se observaron diferencias en la actividad antirradicalaria (ABTS) y en polifenoles, siendo mayor su contenido en la pulpa de durazno (69,82% y 1531  $\mu\text{g}$  EAG/g muestra, respectivamente) que en pulpa de pera (56,04% y 1273  $\mu\text{g}$  EAG/g muestra).

La capacidad reductora de las pulpas se midió como capacidad de reducción de férrico, usando ácido gálico como estándar. El ensayo se basa en la capacidad de un antioxidante de reducir iones férricos(III) a iones ferrosos(II). Este parámetro no mostró diferencias estadísticas en ambas pulpas de frutas (Tabla 6.IX). Li *et al.* (2011) informaron valores de capacidad reductora de la pulpa de durazno y pera similares a los del presente estudio. Los valores hallados en las galletitas control fueron de 0,045  $\mu\text{g}$  EAG/ g muestra en ambos casos, mientras que en la galletita sin pulpa el valor fue de 0,019  $\mu\text{g}$  EAG/g muestra (lo que representa el 41% de ambos controles con pulpas). Al igual que lo observado con los PT, en el valor de ABTS de las galletitas control con pulpas se puede ver el aporte de la capacidad reductora de los compuestos de la harina de trigo y los productos derivados de la reacción de Maillard. La reducción de grasa incrementó la capacidad reductora, llegando a 0,09  $\mu\text{g}$  EAG/ g muestra en D50G, mientras que la reducción de azúcar no modificó significativamente los valores de este parámetro.

Con respecto a la actividad antirradicalaria se observaron diferencias significativas entre ambas muestras, siendo mayor en la pulpa de durazno (69,82%) que en la de pera (56,04%). Estos valores se hallaron dentro del rango informado para otras frutas, como la ciruela (Se-Na *et al.*, 2012). Las muestras de galletitas control presentaron valores de actividad antirradicalaria de 10,10% en DControl y 8,79% en PControl, mientras que en la muestra sin pulpa de fruta este valor fue de 3,27% (representando 32% y 37% de DControl y PControl, respectivamente). La reducción de grasa incrementó el valor en todas las muestras excepto D50G. Cuando se redujo el contenido de azúcar en la formulación, este valor disminuyó en las muestras con pulpa de durazno mientras que en las de pera no se vio significativamente afectado. Los valores de actividad antirradicalaria presentaron una correlación positiva ( $r= 0,70$ ;  $p=0,02$ ) con el parámetro  $a^*$  de cielab, que indica coloración roja-verde. Es decir que las diferencias observadas en los valores de ABTS pueden deberse a que al haber menos azúcar en la formulación hay

menor formación de melanoïdes derivados de las reacciones de Maillard, afectando las propiedades antirradicalarias de las galletitas (Miranda *et al.*, 2009; Que *et al.*, 2008).

FRAP y ABTS son dos de los métodos más ampliamente utilizados para el estudio de la capacidad antioxidante *in vitro* de antioxidantes naturales. Desde el punto de vista del mecanismo de reacción, el ensayo ABTS evalúa el poder de captar radicales de un compuesto a través de reacciones basadas en los mecanismos de transferencia de un electrón (SET) y transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT), dependiendo del antioxidante evaluado (Foti, Daquino, y Geraci, 2004; Prior, Wu, y Schaich, 2005). Por el contrario, la reacción del ensayo FRAP, que evalúa el poder reductor de un compuesto, sigue un mecanismo basado en SET (Prior *et al.*, 2005). Por lo tanto, teniendo en cuenta que los ensayos empleados para evaluar la capacidad antioxidante en este estudio ocurren por diversos mecanismos de reacción, específicamente SET y HAT, las diferencias observadas en la capacidad antioxidante entre variedades y muestras podrían deberse a las diferencias en los potenciales redox y características estructurales, como nivel de hidroxilación y extensión de la conjugación, de los compuestos polifenólicos individuales constituyentes de las muestras en cada etapa del proceso (Pulido *et al.*, 2000; Rockenbach *et al.*, 2011).

Aunque FRAP y ABTS se basan en distintos fundamentos, es interesante observar que ambos presentaran las mismas tendencias. Estos resultados indicarían que los compuestos antioxidantes presentes en las galletitas actuarían como dadores tanto de electrones como de hidrógeno.

Se realizó una correlación entre los polifenoles totales y los valores de FRAP y ABTS. Ambos mostraron correlaciones positivas, con altos valores de  $R^2$  ( $>0,99$ ), sin embargo el que mayor correlación presentó fue ABTS.

Carbonaro *et al.* (2002) realizaron un estudio en el que compararon la actividad antioxidante y contenido de polifenoles totales de duraznos y de peras orgánicas y convencionales. Estos autores determinaron que además de la variación en los valores que pueden observarse entre las diferentes variedades de frutas, las frutas orgánicas siempre mostraron mayor actividad antioxidante y contenido de PT que las convencionales.

Durazzo *et al.* (2013), evaluaron el contenido de polifenoles de diferentes panes elaborados a partir de harina de trigo blando. Los valores de PT informados por estos autores oscilaron entre 89,60 y 137,98  $\mu\text{g}$  EAG/g de muestra seca. Considerando que una porción diaria tanto de galletitas dulces como de pan es alrededor de 30 g, la ingesta de pan aportaría entre 1882 y 2898  $\mu\text{g}$  EAG de PT, mientras que la de galletitas con pulpas de fruta aportaría entre 9979 y 12902  $\mu\text{g}$  EAG de PT, un valor entre tres y siete veces superior, lo que representa una importante mejora nutricional.

## Perfil de polifenoles

A partir de los resultados del contenido de PT, se decidió realizar un perfil para identificar y cuantificar los polifenoles, buscando conocer el aporte real de los polifenoles, ya que dentro del valor de PT están incluidas las melanoidinas.

Mediante HPLC-MS/MS se identificaron los polifenoles presentes en las pulpas de fruta, en la galletita sin pulpa (para conocer los compuestos provenientes de la harina de trigo) y en las galletitas control formuladas con ambas pulpas, para conocer el comportamiento de estos compuestos luego de ser sometidos al proceso de horneado (Tabla 6.X).

En la galletita sin pulpa se determinó que hay solo un compuesto: glucósido de ácido hidroxibenzoico, perteneciente a la familia de ácidos fenólicos. Este compuesto fue observado en harina de trigo por otros autores (Arranz y Saura-Calixto, 2010). En la pulpa de durazno se identificaron y cuantificaron tres ácidos fenólicos (dos ácidos clorogénicos y ácido 3-p-feruloylquinico) en altas concentraciones y ocho flavonoles en bajas concentraciones (hexóxido de quercetina, kaempferol rutinosido, glucósido de kaempferol, glucósido de isorhamnetina, isorhamnetina rutinosido, quercetina, kaempferol e isorhamnetina), mientras que en la pulpa de pera fueron hallados cuatro ácidos fenólicos (tres ácidos clorogénicos y caffeoilhexosa) y ocho flavonoles (rutina, glucósido de quercetina, glucósido de kaempferol, glucósido de isorhamnetina, isorhamnetina 3-O-rhamnosil-hexosido, quercetina, kaempferol e isorhamnetina). Al igual que en la pulpa de durazno, los ácidos fenólicos se observaron en altas concentraciones, mientras que los compuestos flavonoles se observaron en bajas concentraciones (Tabla 6.X). Otros autores informaron una similar composición tanto de durazno como de pera (Feugang, Konarski, Zou, Stintzing, y Zou, 2006; Noratto, Porter, Byrne, y Cisneros-Zevallos, 2009; Schieber, Keller, y Carle, 2001; Vizzotto, Porter, Byrne, y Cisneros-Zevallos, 2014).

El objetivo principal de este ensayo fue conocer si los compuestos presentes en las pulpas de fruta permanecen en la galletita luego de la cocción. En la galletita formulada con pulpa de durazno hay cuatro ácidos fenólicos: uno proveniente de la harina de trigo (glucósido de ácido hidroxibenzoico) y tres de la pulpa de durazno (dos ácidos clorogénicos y ácido 3-p-feruloilquinico) y cuatro flavonoles (hexósido de quercetina, haempferol rutinósido, isorhamnetina rutinósido y quercetina). Considerando que el ácido hidroxibenzoico fue aportado por la harina de trigo, resultó en mayor concentración de la esperada. Lo mismo se

observó en los tres ácidos fenólicos provenientes de la pulpa. Con respecto a los cuatro flavonoles, la concentración hallada fue menor a la esperada.

En las galletitas de pera fueron hallados cuatro ácidos fenólicos: glucósido de ácido hidroxibenzoico aportado por la harina de trigo y tres ácidos clorogénicos provenientes de la pulpa de pera; y cuatro flavonoles (glucósido de quercetina, glucósido de kaempferol, isorhamnetina 3-O-rhamnosil-hexosido, quercetina e isorhamnetina). Al igual que en la galletita con pulpa de durazno, el glucósido de ácido hidroxibenzoico se observó en mayor proporción de la esperada según la cantidad de harina, mientras que los ácidos clorogénicos se observaron en la proporción esperada, al igual que los flavonoles.

Tanto en las galletitas con durazno como en las elaboradas con pera, se determinó la presencia de menor cantidad de compuestos de ambas pulpas. Estos resultados indican que algunos de los polifenoles presentes en las pulpas, se degradaron durante el calentamiento o bien, estaban en tan baja proporción que no pudieron ser detectados. Larrauri *et al.* (1997) estudiaron el efecto de la temperatura de secado sobre la estabilidad de polifenoles (entre 60 y 140 °C) de piel de uvas y determinaron que entre 100 y 140 °C se produce una significativa reducción en los polifenoles y en la actividad antioxidante. En el proceso de cocción, el interior de las masas alcanza alrededor de 110-115 °C, por lo que es esperable que ocurra algo de degradación de los compuestos.

A partir de estos resultados se pudo corroborar que la mayoría de los compuestos polifenoles presentes en las pulpas se conservaron en los productos horneados. Además se confirmó que la incorporación de las pulpas en la formulación de las galletitas, resultó en un incremento en la concentración de los compuestos polifenoles en comparación con la galletita sin pulpa (representando un 68% de incremento en la galletita con durazno y 44% en la de pera), indicando un mejoramiento de las características nutricionales de este producto.

Tabla 6.X. Datos de los compuestos polifenoles observados en las muestras. TR: tiempo de retención.

Muestra	Compuesto	TR [min]	Fórmula molecular	[M] + experimental (m/z)	[M] + calculado (m/z)	Error [ppm]	Cuantificado con	Concentracion [mg/kg de muestra]
Galletita sin pulpa	Glucósido de ácido hidroxibenzoico	7,1	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	377,0885	377,0878	-1,9	Clorogenico	66,537
Pulpa de durazno	Ácido clorogénico	13,8	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	353,0901	353,0878	-6,4	Clorogenico	24,081
	Ácido clorogénico	14,3	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	353,0972	353,0878	8,1	Clorogenico	22,408
	Ácido 3- <i>p</i> -feruloilquinico	14,7	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> O <sub>9</sub>	367,1053	367,1035	5,1	Clorogenico	15,286
	Hexósido de quercetina	22,2	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>12</sub>	463,0887	463,0882	1	Quercetina	0,236
	Kaempferol rutinosido	23,7	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> O <sub>15</sub>	593,1556	593,1512	-7,4	Kaempferol	0,042
	Glucósido de Kaempferol	23,8	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>11</sub>	447,0959	447,0933	5,9	Kaempferol	0,015
	Glucósido de isorhamnetina	23,9	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	477,105	477,1038	2,5	Quercetina	0,074
	Isorhamnetina rutinosido	24,0	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> O <sub>16</sub>	623,1667	623,1618	8	Quercetina	0,134
	Quercetina	26,8	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>7</sub>	301,0351	301,0354	-1	Quercetina	0,321
	Kaempferol	30,5	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>6</sub>	285,0381	285,0405	-0,9	Kaempferol	0,030
Isorhamnetina	31,0	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> O <sub>7</sub>	315,0513	315,051	0,7	Quercetina	0,116	
Galletita con durazno	Glucósido de ácido hidroxibenzoico	7,1	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	377,0895	377,0878	4,5	Clorogenico	100,044
	Ácido clorogénico	13,1	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	353,0867	353,0878	-3,2	Clorogenico	3,933
	Ácido clorogénico	14,3	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	353,0873	353,0878	1,3	Clorogenico	3,572
	Ácido 3- <i>p</i> -feruloilquinico	14,7	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> O <sub>9</sub>	367,102	367,1035	-4,1	Clorogenico	4,455

	Hexósido de Quercetina	22,2	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>12</sub>	463,0923	463,0882	-8,8	Quercetina	0,003
	Kaempferol rutinosido	23,7	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> O <sub>15</sub>	593,1442	593,1512	-11,9	Kaempferol	0,000
	Isorhamnetina rutinosido	24,0	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> O <sub>16</sub>	623,1643	623,1618	4	Quercetina	0,001
	Quercetina	26,7	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>7</sub>	301,0332	301,0354	-7,3	Quercetina	0,006
Pulpa de pera	Ácido clorogénico	13,8	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	353,0862	353,0878	-4,7	Clorogenico	32,110
	Ácido clorogénico	14,4	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	353,0884	353,0878	1,7	Clorogenico	23,509
	Caffeoilhexosa	15,0	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	341,0858	341,0878	-5,9	Clorogenico	2,681
	Ácido clorogénico	16,0	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	353,0858	353,0878	5,7	Clorogenico	2,868
	Rutina	21,9	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> O <sub>16</sub>	609,1462	609,1461	0,2	Quercetina	0,253
	Glucósido de quercetina	22,0	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>12</sub>	463,0864	463,0882	-3,9	Quercetina	1,050
	Glucósido de Kaempferol	23,8	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>11</sub>	447,0896	447,0933	8,3	Kaempferol	0,091
	Glucósido de Isorhamnetina	23,9	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	477,1026	477,1038	2,6	Quercetina	1,704
	Isorhamnetin 3-O-rhamnosil-hexosido	23,9	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> O <sub>16</sub>	623,1625	623,1618	1,2	Quercetina	0,835
	Quercetina	26,8	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>7</sub>	301,0332	301,0354	7,2	Quercetina	0,639
Kaempferol	30,5	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>6</sub>	285,0381	285,0405	8,5	Kaempferol	0,046	
Isorhamnetina	31,0	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> O <sub>7</sub>	315,0496	315,051	-4,6	Quercetina	2,068	
Galletita con pera	Glucósido de ácido hidroxibenzoico	7,1	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	377,0908	377,0878	-8	Clorogenico	87,949
	Ácido clorogénico	13,8	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	353,0873	353,0878	1,5	Clorogenico	2,335
	Ácido clorogénico	14,4	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	353,0876	353,0878	-0,6	Clorogenico	4,257
	Ácido clorogénico	16,0	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> O <sub>9</sub>	353,0883	353,0878	1,3	Clorogenico	0,918

Glucósido de quercetina	22,0	$C_{21}H_{19}O_{12}$	463,0896	463,0882	3,1	Quercetina	0,106
Glucósido de kaempferol	23,8	$C_{21}H_{19}O_{11}$	447,0958	447,0933	5,7	Kaempferol	0,001
Isorhamnetina 3-O-rhamnosil-hexosido	23,9	$C_{28}H_{31}O_{16}$	623,1661	623,1618	7	Quercetina	0,088
Quercetina	26,8	$C_{15}H_9O_7$	301,0329	301,0354	8,2	Quercetina	0,021
Isorhamnetina	31,0	$C_{16}H_{11}O_7$	315,0499	315,051	-3,5	Quercetina	0,075

---

### Evaluación sensorial

En la Figura 6.5 y en las Tablas 6.XI y 6.XII se muestran los valores promedio de cada uno de los atributos evaluados por los jueces de las galletitas formuladas con ambas pulpas. Tanto en las galletitas con durazno como en las que contenían pera, la reducción de grasa resultó en incremento de la dureza y crujencia de la galletita percibida por los jueces, aunque solo en el máximo nivel de reducción (50G) esta diferencia fue significativa. Estos dos parámetros mostraron alta correlación positiva con la dureza de las piezas ( $r= 0,95$ ;  $p=0,01$  y  $r= 0,93$ ;  $p<0,01$  para dureza y crujencia, respectivamente). Con respecto al gusto dulce, solo en la muestra P50G se observó un incremento del valor con respecto al control. Esto se debe a que al haber menor cantidad de grasa en la formulación, proporcionalmente aumenta la cantidad de azúcar, incrementando el gusto dulce de las piezas. En el resto de los parámetros (palatabilidad, masticabilidad y granulosis), las muestras con reducción de grasa no se diferenciaron significativamente del control.

La reducción de azúcar resultó en una disminución tanto de la dureza como de la crujencia de las galletitas. Este resultado coincide con lo esperado, ya que, como se explicó anteriormente en la elaboración de las galletitas dulces el azúcar se cristaliza en la superficie (Hoseney, 1994b), por lo que al reducir la cantidad de azúcar las piezas quedan menos crujientes. Cuando se realizó un análisis de correlación, la dureza y la crujencia presentaron una alta correlación positiva con respecto al gusto dulce de las galletitas ( $r= 0,89$ ;  $p=0,03$  y  $r= 0,88$ ;  $p=0,02$ , respectivamente), por lo que se pudo deducir que la textura de las piezas está altamente relacionada al contenido de azúcar. Sorprendentemente, solo una muestra presentó diferencias en el gusto dulce con el control (D50G), mientras que el resto fueron estadísticamente iguales. Esto puede deberse al gran error que tiene asociada la evaluación sensorial. El resto de los parámetros no presentaron diferencias con el control.

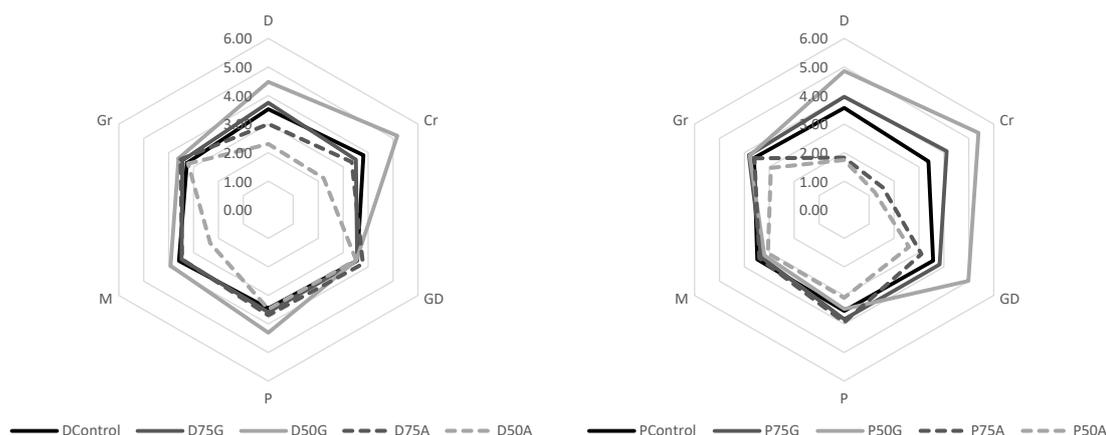


Figura 6.5. Atributos sensoriales de galletitas con pulpas. P: pera. D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Tabla 6.XI. Atributos de la evaluación sensorial de galletitas formuladas con pulpa de durazno.

D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Muestra	Dureza	Crujencia	Masticabilidad	Granulosidad	Gusto dulce	Palatabilidad
DControl	3,5 ± 0,7 <sup>ab</sup>	3,8 ± 0,4 <sup>b</sup>	3,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,3 <sup>b</sup>	3,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	3,3 ± 0,5 <sup>a</sup>
D75G	4 ± 1 <sup>ab</sup>	4 ± 2 <sup>b</sup>	3,6 ± 0,9 <sup>a</sup>	4 ± 1 <sup>b</sup>	3,5 ± 0,8 <sup>a</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>
D50G	4 ± 1 <sup>a</sup>	5 ± 1 <sup>a</sup>	4 ± 1 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	4 ± 2 <sup>a</sup>	3,6 ± 0,7 <sup>a</sup>
D75A	3 ± 1 <sup>bc</sup>	3 ± 1 <sup>b</sup>	4 ± 1 <sup>a</sup>	4 ± 1 <sup>ab</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>	4 ± 1 <sup>a</sup>
D50A	2 ± 1 <sup>c</sup>	2 ± 2 <sup>c</sup>	4 ± 1 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,9 <sup>b</sup>	2,3 ± 0,7 <sup>b</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ .

Tabla 6.XII. Atributos de la evaluación sensorial de galletitas formuladas con pulpa de pera. P:

pera. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Muestra	Dureza	Crujencia	Gusto dulce	Palatabilidad	Masticabilidad	Granulosidad
PControl	3,6 ± 0,3 <sup>b</sup>	3,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	3,6 ± 0,3 <sup>cb</sup>	3,5 ± 0,3 <sup>ab</sup>	3,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,6 ± 0,4 <sup>ab</sup>
P75G	4 ± 1 <sup>b</sup>	4 ± 1 <sup>b</sup>	3,8 ± 0,8 <sup>b</sup>	4 ± 1 <sup>a</sup>	3,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,7 <sup>a</sup>
P50G	5 ± 1 <sup>a</sup>	5 ± 1 <sup>a</sup>	5 ± 1 <sup>a</sup>	3 ± 1 <sup>ab</sup>	3,2 ± 0,9 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,6 <sup>a</sup>
P75A	1,8 ± 0,9 <sup>c</sup>	1,6 ± 0,7 <sup>c</sup>	3 ± 1 <sup>cb</sup>	3,9 ± 0,6 <sup>a</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>	4 ± 1 <sup>ab</sup>
P50A	1,7 ± 0,6 <sup>c</sup>	1,2 ± 0,5 <sup>c</sup>	3 ± 1 <sup>c</sup>	3,1 ± 0,9 <sup>b</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>	3 ± 1 <sup>b</sup>

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes  $p > 0,05$ .

Se realizó un test de consumidores para conocer las preferencias de los jueces tanto en textura como en el sabor de las galletitas (Figura 6.6). Con respecto a las galletitas de durazno, los resultados indican que los jueces prefirieron la textura de las piezas con reducción de grasa,

seguido por 75A y 50A y por último la muestra control. En cuanto al sabor, las muestras preferidas fueron 75A, seguidas por 75G, 50G, 50A y luego la muestra control. Estos resultados sugieren que los jueces prefirieron la textura más dura y crujiente y de sabor más dulce.

En las galletitas formuladas con pulpa de pera, los jueces prefirieron la textura de las muestras reducidas en grasa, seguidas del control y por último las reducidas en azúcar. Con respecto al sabor, eligieron P50A, seguidas de P75G y P50G y por último el control y P75A. Los resultados indican, al igual que en las galletitas de durazno, que los jueces eligieron texturas más duras y crujientes. Sin embargo, con respecto al sabor, los resultados no fueron claros.

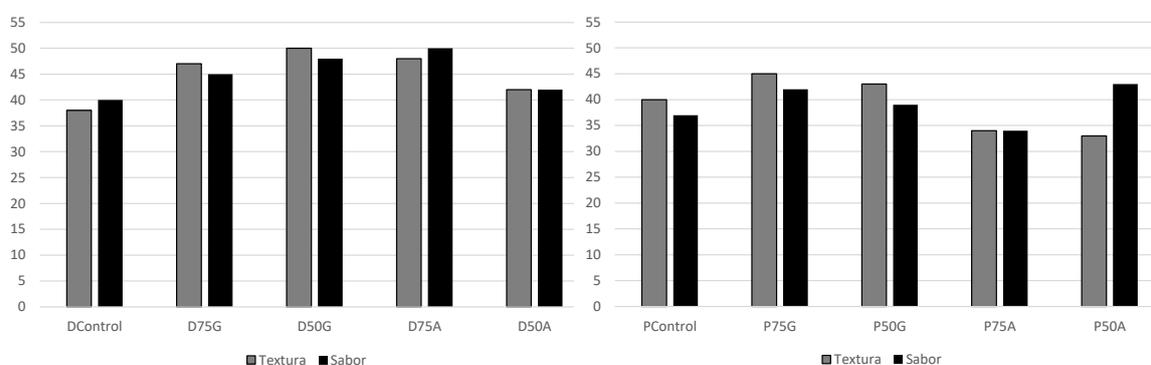


Figura 6.6. Valores de test de preferencia de galletitas formuladas con pulpa de fruta. P: pera. D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

Para resumir la preferencia en un solo parámetro, se hizo una suma algebraica de los puntajes que cada muestra obtuvo en la textura y sabor (Figura 6.7). Los resultados fueron diferentes en ambas pulpas. En las galletitas formuladas con durazno, los jueces eligieron las muestras D50G y D75A, con el mismo puntaje, seguidas por D50G y luego D50A y el control. En las galletitas de pera, las preferidas fueron las dos muestras reducidas en grasa, seguidas del control, P50A y finalmente P75A.

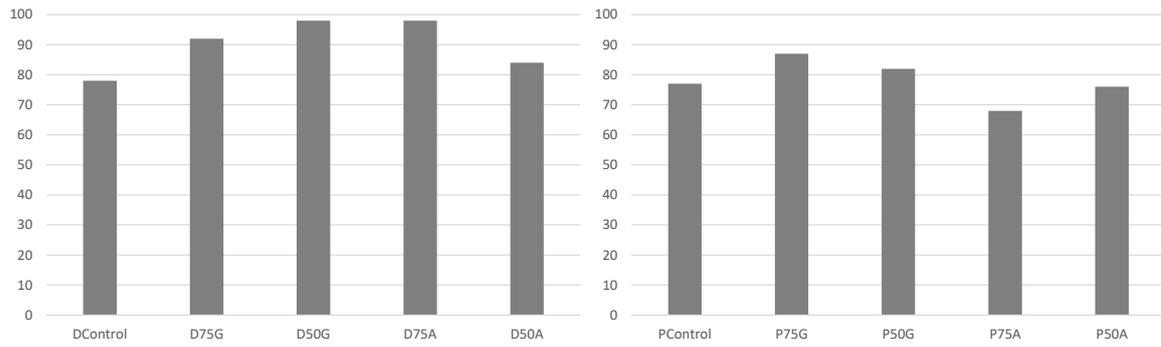


Figura 6.7. Preferencia general de galletitas formuladas con pulpa de fruta. P: pera. D: durazno. A: azúcar. G: grasa. 75 y 50 indican el porcentaje de reducción.

## Conclusión

Mediante la incorporación de ingredientes que presentan un beneficio probado para la salud, como son la fibra alimentaria y la pulpa de fruta, se redujo el nivel de grasa y de azúcar del producto. Estas variaciones en la formulación resultaron en un incremento de la consistencia de la masa, probablemente debido al desarrollo de una red de gluten, sin embargo, la calidad final del producto se vio modificada mínimamente y presentó buena aceptación por parte de los consumidores. Además, se comprobó que la actividad antioxidante de las galletitas se vio incrementada por la incorporación de pulpas, como también la cantidad y variedad de compuestos polifenoles, cumpliendo el objetivo de mejorar el perfil nutricional de las galletita

## CONCLUSIONES GENERALES

## Conclusiones generales

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) son un problema creciente a nivel mundial. La mayoría de los factores de riesgo determinantes de estas enfermedades está relacionada a la alimentación. Por lo tanto, las estrategias para mejorar la calidad de los alimentos apuntan a reducir el consumo de niveles de carbohidratos simples y de grasas saturadas, como también la incorporación de ingredientes saludables en los alimentos que forman parte de la dieta diaria.

En la Argentina las galletitas dulces son de consumo masivo, fundamentalmente en niños, y se encuentran en el segundo lugar entre los productos de panificación más consumidos. El alto contenido de azúcar y grasa, hace que sean productos poco saludables. En función de esto, las mejoras nutricionales que se logren sobre las galletitas dulces tendrán un alto impacto sobre la salud de la población. Sin embargo, los cambios en las formulaciones generan cambios en el comportamiento de las masas durante los procesos de laminación, formación de las piezas y horneado, los que a su vez repercuten en la calidad de los productos horneados y pueden llevar a la pérdida de aceptabilidad por parte de los consumidores.

El presente trabajo de investigación realiza importantes aportes sobre los cambios producidos en las propiedades de las masas y de las galletitas como consecuencia de cambios significativos en la formulación de estos alimentos para mejorar su impacto en la alimentación. Al mismo tiempo, los resultados obtenidos permiten asociar estos cambios estructurales y de comportamiento con las modificaciones físico-químicas a nivel molecular.

Un especial énfasis fue puesto en el estudio de las propiedades reológicas y estructurales de masas y su relación con los aspectos sensoriales y tecnológicos de las galletitas, de forma tal de facilitar su implementación a niveles de mayor escala.

En una primera etapa, se estudió en profundidad el sistema de las galletitas dulces antiaglutinantes. Mediante la variación en las cantidades de los ingredientes principales de la formulación, se logró conocer el rol que cada uno cumple dentro de la masa, como también su interacción con los demás ingredientes y el impacto que producen la reducción de grasa y azúcar sobre las propiedades de las masas y las galletitas. Quedó demostrado que tanto la reducción de grasa como de azúcar modificaron la consistencia de la masa y repercutieron negativamente en la calidad la galletita. Sin embargo, fue posible lograr productos de calidad aceptable, reduciendo estos ingredientes hasta cierto nivel y aun así logrando una mejora en el perfil nutricional. Por otro lado, se demostró que la harina proveniente de trigo Baguette generó

masas de consistencia similar a la de harina de trigo blando y las galletitas resultantes fueron de calidad aceptable.

En la siguiente etapa del estudio, se trabajó con la incorporación de cuatro fibras alimentarias con diferentes características físico-químicas y diferente afinidad por el agua. Esto resultó en cambios de las propiedades reológicas de las masas, la calidad de las galletitas y sus características nutricionales y sensoriales. Sin embargo, el grado del efecto dependió del tipo de fibra utilizada y el nivel de sustitución de harina. La incorporación de inulina impartió características particulares a la masa de galletitas que permitieron que la pieza se expanda durante más tiempo, ya que el incremento en el comportamiento viscoso/elástico ocurrió a menores temperaturas y tiempos durante el proceso de horneado. El efecto mejorador que presentó la inulina se debe a un efecto dual de esta fibra: una parte se solubiliza en agua y otra parte tiene la capacidad de formar microcristales cuando se encuentra en solución, lo que se asimila a la estructura de la grasa utilizada en las galletitas. Esto hace que las propiedades reológicas de las masas no varíen significativamente a temperatura ambiente, aunque durante el calentamiento los microcristales dejan menor cantidad de agua disponible para que los gránulos de almidón se hinchen, disminuyendo la viscosidad y permitiendo que la masa se expanda durante más tiempo. Por lo tanto, las galletitas con inulina presentaron mejores parámetros de calidad y buena aceptabilidad, con importante mejora nutricional, ya que el contenido de fibra alimentaria fue ocho veces mayor al de la galleta control. La fibra de avena mostró efectos negativos en la expansión y por lo tanto en la calidad de las piezas, debido a que esta fibra es insoluble en agua y presenta mayor capacidad de retención de agua que la harina de trigo. Su incorporación, generó gran incremento en la consistencia de la masa a temperatura ambiente. Durante el calentamiento hubo un aporte extra a la fracción más móvil de agua, sin embargo este fenómeno se produjo más tarde en el proceso de horneado y no contribuyó a la expansión de la masa. La baja calidad de las galletitas con fibra de avena se vio reflejada en el análisis sensorial, donde, a pesar de la mejora nutricional, tuvo baja aceptación por parte de los jueces. La incorporación de ambos almidones resistentes afectó levemente la consistencia de las masas durante el calentamiento, ya que estos almidones típicamente no gelatinizan a la temperatura alcanzada en el horno. Por lo tanto, dejan más agua disponible para el hinchamiento de los gránulos de almidón nativo, incrementando de esta manera la consistencia de la masa hacia el final del horneado, por lo que afectó levemente la calidad de las galletitas, aunque presentaron menor aceptación por los jueces.

En el siguiente Capítulo se incorporó inulina en masas elaboradas con harinas de muy diversas características y se demostró que el efecto mejorador de la inulina va más allá de la calidad de la harina utilizada en la formulación, a pesar de que el grado del efecto fue variado y

también dependió del nivel de sustitución y la calidad de la harina utilizada. Esto indica que es posible desarrollar galletitas con alto contenido en fibra con un mejoramiento en los parámetros de calidad, a pesar de las características de las materias primas con las que son formuladas.

Finalmente, se intentó mejorar la calidad nutricional de las galletitas dulces con el reemplazo parcial de grasa y azúcar, mediante la incorporación de ingredientes que presentan un beneficio probado para la salud, como son la fibra alimentaria y la pulpa de fruta. Estas variaciones en la formulación resultaron en un incremento de la consistencia de la masa, probablemente debido al desarrollo de una red de gluten, sin embargo, la calidad final del producto se vio modificada mínimamente y presentó buena aceptación por parte de los consumidores. Además, se comprobó que la actividad antioxidante de las galletitas se vio incrementada por la incorporación de pulpas, como también la concentración y variedad de compuestos polifenólicos con respecto a las galletitas sin pulpa, lo que significa una importante mejora en el perfil nutricional de este producto.

Este trabajo de tesis permitió conocer la relación entre el comportamiento reológico de las masas y los cambios sufridos por las piezas durante el proceso de horneado, que determinan la calidad del producto final. Además se logró correlacionar los parámetros de calidad medidos instrumentalmente con los atributos evaluados en un análisis sensorial por un panel de jueces semientrenados.

Mediante el uso de herramientas novedosas en el análisis de panificados, como resonancia magnética nuclear y análisis termogravimétrico, se profundizó en el estudio de la disponibilidad de agua y su distribución dentro de la masa. Esto permitió explicar los cambios reológicos de las masas y su efecto sobre la calidad de las galletitas.

Este estudio permitió conocer en profundidad el sistema de las galletitas, la función los principales ingredientes y los impactos que producen sus modificaciones en el comportamiento de la masa y en la calidad del producto final. Mediante cambios en la formulación, se logró obtener un producto de calidad aceptable con la incorporación de ingredientes que minimicen los factores de riesgos de las ECNT.

## BIBLIOGRAFÍA

## Bibliografía

- Abboud, A. M., & Hosene, R. (1984). Differential scanning calorimetry of sugar cookies and cookie doughs. *Cereal Chemistry*, 61, 34–37.
- Abboud, A. M., Hosene, R. C., & Rubenthaler, L. (1985). Factors Affecting Cookie Flour Quality.pdf. *Cereal Chemistry*, 62(2), 130–133.
- Abboud, A. M., Rubenthaler, G. L., & Hosene, R. C. (1985). Effect of fat and sugar in sugar-snap cookies and evaluation of tests to measure cookie flour quality. *Cereal Chemistry*, 62(2), 124–129.
- Abragam, A. (1961). *The Principles of Nuclear Magnetism*. Oxford University Press.
- Aguirre, A., Badiali, O., Cantarero, M., León, A., Ribotta, P., & Rubiolo, O. (2002). Relationship of test weight and kernel properties to milling and baking quality in argentine triticales. *Cereal Research Communications*, 30(1–2), 203–208.
- Agyare, K. K., Xiong, Y. L., Addo, K., & Akoh, C. C. (2004). Dynamic rheological and thermal properties of soft wheat flour dough containing structured lipid. *Journal of Food Science*, 69(7), E297–E302.
- American Association of Cereal Chemistry (AACC). (1999a). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 9th Ed. Method 76-30A Determination of Damaged Starch. In *American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. USA* (pp. 1–2).
- American Association of Cereal Chemistry (AACC). (1999b). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 9th Ed. Method 80-60. Determination of reducing and nonreducing sugars. In *American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. USA* (pp. 1–4).
- American Association of Cereal Chemistry (AACC). (2000a). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 10th Ed. Method 08-21. Prediction of ash content in wheat flour. In *American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. USA* (p. 1).
- American Association of Cereal Chemistry (AACC). (2000b). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 10th Ed. Method 38-12A. Wet Gluten, Dry Gluten, Water-Binding Capacity, and Gluten Index. In *American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. USA*.
- American Association of Cereal Chemistry (AACC). (1999a). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 10th Ed. Method 32-05. Total Dietary Fiber. In *American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. USA* (pp. 1–4).

- American Association of Cereal Chemistry (AACC). (1999b). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 9th Ed. Method 46-13 Protein Content Micro Kjeldhal Method. In *American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. USA* (pp. 1–2).
- American Association of Cereal Chemistry (AACC). (2000a). AACC International. Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Method 56-11. Solvent Retention Capacity Profile. Approved November 8, 2000. AACC International, St. Paul, MN, U.S.A.
- American Association of Cereal Chemistry (AACC). (2000b). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 10th Ed. Method 44-01. Calculation of Percent Moisture. In *American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. USA* (p. 1). American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. USA.
- André, I., Mazeau, K., & Tvaroska, I. (1996). Molecular and crystal structures of inulin from electron diffraction data. *Macromolecules*, *29*(13), 4626–4635. Retrieved from <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ma951799f>
- André, I., Putaux, J. L., Chanzy, H., Taravel, F. R., Timmermans, J. W., & De Wit, D. (1996). Single crystals of inulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, *18*(3), 195–204. [http://doi.org/10.1016/0141-8130\(95\)01075-0](http://doi.org/10.1016/0141-8130(95)01075-0)
- Angioloni, A., & Collar, C. (2009). Gel, dough and fibre enriched fresh breads: Relationships between quality features and staling kinetics. *Journal of Food Engineering*, *91*(4), 526–532. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.09.033>
- Anjum, F. M., & Walker, C. E. (1991). Review on the significance of starch and protein to wheat kernel hardness. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *56*(90), 1–13. <http://doi.org/10.1002/jsfa.2740560102>
- Annisson, G., & Topping, D. L. (1994). Nutritional Role of Resistant Starch: Chemical Structure vs Physiological Function. *The Annual Review of Nutrition*, *14*, 297–320.
- Arranz, S., & Saura-Calixto, F. (2010). Analysis of polyphenols in cereals may be improved performing acidic hydrolysis.pdf. *Journal of Cereal Science*, *51*, 313–318.
- Artieda, D. (2001). Frutas y frutos secos. In *Alimentos: composición y propiedades* (pp. 191–213). Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- Assifaoui, A., Champion, D., Chiotelli, E., & Verel, A. (2006). Characterization of water mobility in biscuit dough using a low-field <sup>1</sup>H NMR technique. *Carbohydrate Polymers*, *64*(2), 197–204. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.11.020>
- Atwell, W. A., Hood, L. F., Lineback, D. R., Varriano-Marston, E., & Zobel, H. F. (1988). The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World*, *33*, 306–311.
- Baevre, A. B. (1999). Skadd stivelse i hvetemel-malemetoder og betydning for ferdig produkt.

- Norwegian Food Research Institute*, 2, 25–27.
- Baks, T., Ngene, I. S., van Soest, J. J. G., Janssen, A. E. M., & Boom, R. M. (2007). Comparison of methods to determine the degree of gelatinization for both high and low starch concentrations. *Carbohydrate Polymers*, 67, 481–490.
- Balestra, F., Cocci, E., Marsilio, G., & Rosa, M. D. (2011). Physico-chemical and rheological changes of fruit purees during storage. *Procedia Food Science*, 1, 576–582.  
<http://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.087>
- Baltsavias, A., Jurgens, A., & van Vliet, T. (1999). Properties of short-dough biscuits in relation to structure. *Journal of Cereal Science*, 29(3), 245–255.
- Baltsavias, a., Jurgens, a., & van Vliet, T. (1997). Rheological Properties of Short Doughs at Small Deformation. *Journal of Cereal Science*, 26(3), 289–300.  
<http://doi.org/10.1006/jcrs.1997.0133>
- Barak, S., Mudgil, D., & Khatkar, B. S. (2014). Effect of flour particle size and damaged starch on the quality of cookies. *Journal of Food Science and Technology*, 51(7), 1342–1348.  
<http://doi.org/10.1007/s13197-012-0627-x>
- Barichelo, V., Yada, R. I., Coffin, R. H., & Stanley, D. W. (1990). Low temperature sweetening in susceptible and resistant potatoes: Starch structure and composition. *Food Science*, 55, 1054–1059.
- Barrera, G. N. (2014). *Efecto del almidón dañado sobre las propiedades de las masas panarias y la calidad de los panificados*. Universidad Nacional de Córdoba.
- Bean, M. M., & Setser, C. S. (1992). Polysaccharide, sugars, and sweeteners. In J. Bowers (Ed.), *Food Theory and Applications* (pp. 69–198). New York: Macmillan.
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (1999). Carbohydrates. In *Food Chemistry 2nd Edition*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. (1996). Carbohydrates. In *Food Chemistry*. Nueva York: Marcel Dekker Inc.
- Berton, B., Scher, J., Villieras, F., & Hardy, J. (2002). Measurement of hydration capacity of wheat flour: Influence of composition and physical characteristics. *Powder Technology*, 128, 326–331.
- Bettge, A. D., & Morris, C. F. (2000). Relationships Among Grain Hardness , Pentosan Fractions , and End-Use Quality of Wheat, 77(2), 241–247.
- Bettge, A., Morris, C., & Greenblatt, G. (1995). Assessing genotypic softness in single wheat kernel using starch granule-associated friabilin as biochemical marker. *Euphytica*, 86, 65–72.
- Bilgiçli, N., Ibanoglu, Ş., & Herken, E. N. (2007). Effect of dietary fibre addition on the selected

- nutritional properties of cookies. *Journal of Food Engineering*, 78, 86–89.  
<http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.009>
- Biliaderis, C. G., Page, C. M., Maurice, T. J., & Juliano, B. O. (1986). Thermal characterization of rice starches: a polymeric approach to phase transitions of granular starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(1), 6–14. <http://doi.org/10.1021/jf00067a002>
- Borrelli, R. C., & Fogliano, V. (2005). Bread crust melanoidins as potential prebiotic ingredients. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49, 673–678.
- Bot, A., Erle, U., Vreeker, R., & Agterof, W. G. M. (2004). Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels. *Food Hydrocolloids*, 18(4), 547–556.  
<http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.09.003>
- Bourne, M. C. (1982). *Food texture and viscosity: concept and measurement*. New York: Academic Press Inc.
- Bourne, M. C. (1993). Texture measurements on finished baked goods. In *Advances in baking technology* (pp. 134–149).
- Brennan, J. G., Jowitt, R., & Williams, S. A. (1974). Sensory and instrumental measurement of “brittleness” and “crispness”. In *Proceedings IV International Congress of Food Science and Technology* (pp. 130–143).
- Brooker, B. E. (1996). The role of fat in the stabilization of gas cells in bread dough. *Journal of Cereal Science*, 24, 187–198.
- Brosnan, T., & Sun, D. (2004). Improving quality inspection of food products by computer vision—a review. *Journal of Food Engineering*, 61, 3–16.
- Brouns, F., Kettlitz, B., & Arrigoni, E. (2002). Resistant starch and “the butyrate revolution.” *Trends in Food Science and Technology*, 13, 251–261.
- Brown, I. L. (2004). Applications and uses of resistant starch. *Journal of AOAC International*, 87, 727–732.
- Bushuk, W. (1991). Milling and baking characteristic of triticale. In *Proceeding of Second International Triticale Symposium* (pp. 470–473). DF, Mexico: CIMMYT.
- Bushuk, W., & Larter, E. (1980). Triticale: Production, Chemistry, and Technology. In Y. Pomeranz (Ed.), *Advances in Cereal Science and Technology* (p. 15). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemistry.
- Carbonaro, M., Mattera, M., Nicoli, S., Bergamo, P., & Cappelloni, M. (2002). Modulation of Antioxidant Compounds in Organic vs Conventional Fruit ( Peach , *Prunus persica* L ., and Pear , *Pyrus communis* L .), 5458–5462.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. F. M. (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, 15–25.
- Carr, H. Y., & Purcell, E. M. (1954). Effects of Diffusion on Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments. *Physical Review*, 94(3), 630–638.
- Carr, N. O., & Daniels, N. W. R. (1992). Lipid interactions in breadmaking. *Critical Reviews in Food Science Y Nutrition*, 31, 237–258.
- Chan, S. (2006). Special Products: Dietetic bakery products. In Y. H. Hui, H. Corke, I. De Leyn, W. K. Nip, & N. Cross (Eds.), *Bakery products: Science and Technology*. Ames, USA: Blackwell Publishing Professional.
- Chaplin, M. F. (2003). Fibre and water binding. *Proceeding of the Nutrition Society*, 62, 223–227.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S., & Webb, C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 79(1–2), 131–141.
- Cheftel, J. C., & Cheftel, H. (1992). *Granos vegetales; en Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. España: Editorial Acribia S.A.
- Chevallier, S., Colonna, P., Buléon, A., & Della Valle, G. (2000). Physicochemical behaviors of sugars, lipids, and gluten in short dough and biscuit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 1322–1326.
- Chevallier, S., Colonna, P., Della Valle, G., & Lourdin, D. (2000). Contribution of Major Ingredients during Baking of Biscuit Dough Systems. *Journal of Cereal Science*, 31(3), 241–252. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1006/jcrs.2000.0308>
- CIMMYT. (1980). Wheat Improvement. *International Maize and Wheat Improvement Center*. El Batán, Mexico.
- CIMMYT. (1985). *Research report*. Mexico City.
- Colla, K., & Gamlath, S. (2015). Inulin and maltodextrin can replace fat in baked savoury legume snacks. *International Journal of Food Science and Technology*, 2297–2305.
- Colombo, A., Pérez, G. T., Ribotta, P. D., & León, A. E. (2008). A comparative study of physicochemical tests for quality prediction of Argentine wheat flours used as corrector flours and for cookie production. *Journal of Cereal Science*, 48(3), 775–780.
- Colombo, A., Pérez, G. T., Ribotta, P. D., & León, A. E. (2008). A comparative study of physicochemical tests for quality prediction of Argentine wheat flours used as corrector flours and for cookie production. *Journal of Cereal Science*, 48(3), 775–780. <http://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.05.003>
- Cooke, D., & Gidley, M. J. (1992). Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: Origin of the enthalpic transition. *Carbohydrate Research*, 227, 103–112.

- [http://doi.org/10.1016/0008-6215\(92\)85063-6](http://doi.org/10.1016/0008-6215(92)85063-6)
- Cooper, P. D., & Carter, M. (1986). Anti-complementary action of polymorphic “solubility forms” of particulate inulin. *Molecular Immunology*, 23(8), 895–901.
- [http://doi.org/10.1016/0161-5890\(86\)90075-1](http://doi.org/10.1016/0161-5890(86)90075-1)
- Cooper, P. D., Steele, E. J., & Algammulin, A. (1991). New Vaccine Adjuvant Comprising Gamma Inulin Particles Containing Alum: Preparation and in Vitro Properties. *Vaccine*, 9, 351–357.
- Cooper, K. V. (1985). *The australian triticale cookery book*. Adelaide: Savvas.
- Copeland, L., Blazek, J., Salman, H., & Chiming Tang, M. (2009). Form and functionality of starch. *Food Hydrocolloids*, 23, 1527–1534.
- Courtin, C. M., Roelants, A., & Delcour, J. A. (1999). Fractionation reconstitution experiments provide insight into the role of endoxylanases in breadmaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1870–1877.
- Cummings, J. H., Beatty, E. R., Kingman, S., Bingham, S. A., & Englyst, H. N. (1996). Digestion and physiological properties of resistant starch in the human large bowel. *British Journal of Nutrition*, 75, 733–747.
- Cummings, J. H., Edmond, L. M., & Magee, E. A. (2004). Dietary carbohydrates and health: do we still need the fibre concept? *Clinical Nutrition Supplements*, 1, 5–17.
- Cyran, M., Rakowska, M., & Miazga, D. (1996). Chromosomal location of factors affecting content and composition of non-starch polysaccharides in wheat-rye addition lines. *Euphytica*, 153–157.
- D’Appolonia, B. L., & Gilles, K. A. (1971). Effect of Various Starches in Baking. *Cereal Chemistry*, 48, 625–636.
- David, J. R. D., Graves, R. H., & Carlson, V. R. (1996). *Aseptic processing and packaging of food: a food industry perspective*. Boca Ratón: CRC Press.
- Davidson, V. J., Ryks, J., & Chu, T. (2001). Fuzzy models to predict consumer ratings for biscuits based on digital features. *IEEE Transactions on Fuzzy Systems*, 9, 62–67.
- Delwiche, S. R. (1993). Measurement of single-kernel wheat hardness using near infrared transmittance. *American Society of Agricultural Engineers*, 1431–1437.
- Denis, J., Le Botlan, L., & Ouguerram, L. (1997). Spin-spin relaxation time determination of intermediate states in heterogeneous products from free induction decay NMR signals. *Analytica Chimica Acta*, 339–347.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, W. (2011). InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Retrieved from <http://www.infostat.com.ar>

- Di Rienzo, J. A., Guzman, A. W., & Casanoves, F. (2002). A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics*, *7*, 129–142.
- Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas*. (2002). *Informe sobre la salud en el mundo* (Vol. 1). Ginebra.
- Dijksterhuis, G. B. (1997). *Multivariate Data Analysis in Sensory and Consumer Science*. Trumbull, Connecticut, USA: Food & Nutrition Press Inc.
- Doescher, L. C., Hosney, R. C., Milliken, G. A., & Rubenthaler, G. L. (1987). Effect of sugars and flours on cookie spread evaluated by time-lapse photography. *Cereal Chemistry*, *64*, 163–167.
- Doescher, L., & Hosney, R. (1985). Effect of sugar type and flour moisture in surface crackin of sugarsnap cookies. *Cereal Chemistry*, *62*(4), 263–266.
- Donelson, J. R., & Gaines, C. S. (1998a). Starch-Water Relationships in the Sugar Snap Cookie Dough System. *Cereal Chemistry*, *75*(5), 660–664. Retrieved from Binder 9 Page 10
- Donelson, J. R., & Gaines, C. S. (1998b). Starch-Water Relationships in the Sugar-Snap Cookie Dough System. *Cereal Chemistry*, *75*(5), 660–664.  
<http://doi.org/10.1094/CCHEM.1998.75.5.660>
- Donovan, J. W. (1979). Phase transitions of the starch-water system. *Biopolymers*, *18*, 263–275.
- Doxastakis, G., Zafiriadis, I., Irakli, M., Marlani, H., & Tananaki, C. (2002). Lupin, soya and triticale addition to wheat flour doughs and their effect on rheological properties. *Food Chemistry*, *77*(2), 219–227. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00362-4](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00362-4)
- Dreese, P. C., Faubion, J. M., & Hosney, R. C. (1988). The effect of different heating and washing procedures on the dynamic rheological properties of wheat gluten. *Cereal Foods World*, *33*, 225–228.
- Drewnowski, A., Nordensten, K., & Dwyerc, J. (1998). Replacing sugar and fat in cookies: implication on product quality and preference. *Food Quality and Preference*, *9*, 13–20.
- Drusch, S., & Berg, S. (2008). Localisation, determination and impact on oxidative stability. *Food Chemistry*, *109*(1), 17–24. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.016>
- Durazzo, A., Turfani, V., Azzini, E., Maiani, G., & Carcea, M. (2013). Phenols, lignans and antioxidant properties of legume and sweet chestnut flours. *Food Chemistry*, *140*, 666–671.
- Durchschlag, H., & Zipper, P. (2001). Comparative investigation of biopolymer hydration by physiochemical and modelling techniques. *Biophysical Chemistry*, *93*, 141–157.
- Eisenberg, A. (1984). The glass transition. In J. E. Mark, A. Eisenberg, W. W. Groessely, L.

- Mandelkern, & J. L. Koenig (Eds.), *Physical Properties of Polymers* (pp. 55–95). Washington, DC: American Chemical Society.
- Eugenia Steffolani, M., Ribotta, P. D., Pérez, G. T., & León, A. E. (2012). Combinations of glucose oxidase,  $\alpha$ -amylase and xylanase affect dough properties and bread quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(3), 525–534. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02873.x>
- FAO/WHO. (1998). *Food Standards Programme. Guidelines for Use of Nutrition Claims. Joint Codex Alimentarius*. Rome.
- Faridi, H., Gaines, C., & Finney, P. (1994). Soft wheat quality in the production of cookies and crackers. In *Wheat: Production, Properties, and Quality* (pp. 154–168). Glasgow, Scotland: Chapman and Hall.
- Fennema, O. R. (2000). Agua y hielo. In *Química de los alimentos*. Acribia, Editorial, S.A.
- Ferry, A. L. (1980). *Viscoelastic Properties of Polymers*. New York: John Wiley & Sons.
- Fessas, D., & Schiraldi, A. (2001). Water properties in wheat flour dough I: classical thermogravimetry approach. *Food Chemistry*, 72(2), 237–244. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00220-X](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00220-X)
- Feugang, J. M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F. C., & Zou, C. (2006). Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Cactus Used as Food and Medicine*, 2574–2589.
- Finney, K. F., Morris, V. H., & Yamazaki, W. T. (1950). Micro versus macro cookie baking procedures for evaluating the cookie quality of wheat varieties. *Cereal Chemistry*, 27–42.
- Foti, M. C., Daquino, C., & Geraci, C. (2004). Electron-transfer reaction of cinnamic acids and their methyl esters with the DPPH• radical in alcoholic solutions. *Journal of Organic Chemistry*, 69, 2309–2314.
- Francis, B., Hastings, W. R., & A., J. P. (1962). *Pilot scale high frequency biscuit baking with particular reference to the checking of hard sweet biscuits*.
- Fu, J., Mulvaney, S. J., & Cohen, C. (1997). Effect of added fat on the rheological properties of wheat flour doughs. *Cereal Chemistry*, 74(3), 304–311.
- Fuentes, S. (1998). Tendencias actuales en el uso de la fibra dietética en la alimentación séptimo simposio de alimentos. In *Séptimo simposio de alimentos* (pp. 1–25). Universidad Autónoma de Yucatán.
- Fustier, P., Castaigne, F., Turgeon, S. L., & Biliaderis, C. G. (2009). Impact of Commercial Soft Wheat Flour Streams on Dough Rheology and Quality Attributes of Cookies. *Journal of Food Engineering*, 90(2), 228–237. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.06.026>
- Gaines, C. S. (1985). Associations Among Soft Wheat Flour Particle Size, Protein Content,

- Chlorine Response, Kernel Hardness, Milling Quality, White Layer Cake Volume, and Sugar-Snap Cookie Spread. *Cereal Chemistry*, 62(4), 290–292.
- Gaines, C. S. (1990). Influence of chemical and physical modification of soft wheat protein on sugar-snap cookie dough consistency, cookie size and hardness. *Cereal Chemistry*, 67, 73–77.
- Gaines, C. S. (1994). *The Science of Cookie and Cracker Production*. (H. Faried, Ed.). New York.
- Gaines, C. S., Donelson, J. R., & Finney, P. L. (1988). Effects of Damaged Starch, Chlorine Gas, Flour Particle Size, and Dough Holding Time and Temperature on Cookie Dough Handling Properties and Cookie Size. *Cereal Chemistry*. Retrieved from Binder 9 Page 9
- Gaines, C. S., & Finney, P. L. (1989). Effects of Selected Commercial Enzymes on Cookie Spread and Cooked Dough Consistency. *Cereal Chemistry*, 66(2), 73–78. Retrieved from Binder 9 Page 8
- Gaines, C. S., Kassuba, A., & Finney, P. L. (1994). Influence of eight flours on the hardness of commercial cookies and crackers. *Cereal Foods World*, 39, 160–167.
- Gaté, L., Paul, J., Nguyen Ba, G., Tew, K. D., & Tapiero, H. (1999). Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 53, 169–180.
- Gélinas, P., & McKinnon, C. M. (2006). Effect of wheat variety, farming site, and bread-baking on total phenolics. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 329–332.
- Germany, R., do Rego, M., Campos, J., & Mazzari, M. (1991). Preliminary evaluation of the technological quality of five triticale varieties in Brazil. In *Proceedings of the 2nd International Triticale Symposium* (pp. 449–455). Passo Fundo, Brazil.
- Gibson, G. R., Beatty, E. R., Wang, X., & Cummings, J. H. (1995). Selective stimulation of Bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108, 975–982.
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. V., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17, 259–275.
- Gibson, G. R., Willems, A., Reading, S., & Collins, D. (1996). Fermentation of non-digestible oligosaccharides by human colonic bacteria. *Proceedings of the Nutrition Society*, 55, 899–912.
- Gidding, S. S., Dennison, B. A., Birch, L. L., Daniels, S. R., Gilman, M. W., Lichtenstein, H. A., ... Van Horn, L. (2005). Dietary recommendations for children and adolescents: A guide for practitioners: Consensus statement from the American Heart Association. *Circulation*, 112, 2061–2075.
- Gil, M., Tomás-Beltrán, F., Hess-Pierce, B., & Kader, A. (2002). Antioxidant Capacities, Phenolic

- Compounds, Carotenoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum Cultivars from California, 4976–4982.
- Giroux, M. J., & Morris, C. F. (1998). Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b. In *Proceedings of the National Academy of Sciences* (pp. 6262–6266).
- Glenn, G. M., Younce, F. L., & Pittis, M. J. (1991). Fundamental physical properties characterizing the hardness of wheat endosperm. *Journal of Cereal Science*, 13, 179–184.
- Gómez Pallarés, M., León, A. E., & Rosell, C. (2006). Trigo. In A. E. León & C. Rosell (Eds.), *De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica*. Córdoba, Argentina.
- Guarner, F., & Malagelada, J. R. (2003). Gut flora in health and disease. *Lancet*, 361, 512–519.
- Guttieri, M. J., McLean, R., Lanning, S. P., Talbert, L. E., & Souza, E. (2002). Assessing environmental influences on solvent retention capacities of two soft white spring wheat cultivars. *Cereal Chemistry*, 79, 880–884.
- Hager, A. S., Ryan, L. a M., Schwab, C., Gänzle, M. G., O’Doherty, J. V., & Arendt, E. K. (2011). Influence of the soluble fibres inulin and oat  $\beta$ -glucan on quality of dough and bread. *European Food Research and Technology*, 232(3), 405–413.  
<http://doi.org/10.1007/s00217-010-1409-1>
- Hallfrisch, J., & Behall, K. M. (2000). Mechanisms of the effects of grains on insulin and glucosa responses. *Journal of the American College of nutrition*, 19, 320–325.
- Halliwell, B. (1995). Antioxidant characterization; methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*, 49, 1341–1348.
- Haralampu, S. G. (2000). Resistant starch- a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers*, 41, 285–292.
- Hartemink, R., Van Laere, K. M. J., & Rombouts, F. M. (1997). Growth of enterobacteria on fructo-oligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology*, 83, 367–374.
- Hennelly, P. J., Dunne, P. G., O’Sullivan, M., & O’Riordan, E. D. (2006). Textural, rheological and microstructural properties of imitation cheese containing inulin. *Journal of Food Engineering*, 388–395.
- Hill, G. (1991). Triticale in animal nutrition. In *Proceedings of the 2nd International Triticale Symposium* (pp. 422–427). Passo Fundo, Brazil.
- Holm, J., Lundquist, J., Björck, I. M. E., Eliasson, A.-C., & Asp, N.-G. (1988). Degree in vitro, of starch gelatinization, and metabolic response in rats. *American Journal of Clinical Nutrition*, 47, 1010–1016.
- Hoseney, R. (1994a). *Principles of Cereal Science and Technology*. St. Paul, MN, USA: AACC

- International.
- Hoseney, R. (1994b). *Principles of Cereal Science and Technology* (2nd edn). St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemists.
- Hoseney, R., & Rogers, D. (1994). Mechanism of sugar functionality in cookies. In F. H (Ed.), *The Science of Cookie and Cracker Production* (pp. 203–226). St-Paul, Minnesota, USA: AACC.
- Jacob, J., & Leelavathi, K. (2007). Effect of fat-type on cookie dough and cookie quality. *Journal of Food Engineering*, 79(1), 299–305. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.01.058>
- Jacobs, D. R., Slavin, J., & Marquart, L. (1998). Whole grain intake may reduce risk of coronary heart disease death in postmenopausal women: The Iowa Women's Health Study. *American Journal Clinical Nutrition*, 68, 248–257.
- James, S. L., Muir, J. G., Curtis, S. L., & Gibson, P. R. (2003). Dietary fibre: a roughage guide. *Internal Medicine Journal*, 33, 291–296.
- Jenkins, D. J. A., Marchie, A., Augustin, L. S. A., Ros, E., & Kendall, C. W. C. (2004). Viscous dietary fibre and metabolic effects. *Clinical Nutrition Supplements*, 1, 39–49.
- Joshi, P., & Brimelow, C. (2002). Colour measurement of food by colour reflectance. In D. B. MacDougall (Ed.), *Colour in food* (Woodhead P). Cambridge, England.
- Józefiaka, D., Rutkowska, A., Jensenb, B. B., & Engbergb, R. M. (2007). Effects of dietary inclusion of triticale, rye and wheat and xylanase supplementation on growth performance of broiler chickens and fermentation in the gastrointestinal tract. *Animal Feed Science and Technology*, 79–93.
- Juszczak, L., Witczak, T., Ziobro, R., Korus, J., Cieślík, E., & Witczak, M. (2012). Effect of inulin on rheological and thermal properties of gluten-free dough. *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 353–360.
- Kalichevsky, M. T., Jaroszkiewicz, E. M., & Blanshard, J. M. V. (1992). Glass transition of gluten. 1: Gluten and gluten-sugar mixtures. *International Journal of Biological Macromolecules*, 14, 256–266.
- Kapur, J., Sahoo, P., & Wong, A. (1985). A new method for gray level picturing thresholding using the entropy of the histogram. *Graphical Models of Image Processing*, 29, 273–285.
- Kasarda, D. D., Bernardin, J., & Nimmo, C. (1976). Wheat proteins. In Y. Pomeranz (Ed.), *Advances in Cereal Science and Technology* (pp. 158–236). St Paul, MN: AACC International.
- Kaur, N., & Gupta, A. K. (2002). Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Biochemistry*, 27, 703–714.
- Kawai, K., Toh, M., & Hagura, Y. (2014). Effect of sugar composition on the water sorption and softening properties of cookie. *Food Chemistry*, 145, 772–776.

- <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.127>
- Kay, R. M. (1982). Dietary fiber. *Journal of Lipid Research*, *23*, 221–242.
- Kendall, C. W. C., Esfahani, A., & Jenkins, D. J. A. (2010). The link between dietary fibre and human health. *Food Hydrocolloids*, *24*, 42–48.
- Kies, C., & Fox, H. (1970a). Determination of the first limiting amino acid of wheat and triticale grain for humans. *Cereal Chemistry*, *47*, 615–625.
- Kies, C., & Fox, H. (1970b). Protein nutritive value of wheat and triticale grains for humans, studied at two levels of protein intake. *Cereal Chemistry*, *47*, 671–678.
- Kim, Y., Faqih, M. N., & Wang, S. S. (2001). Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*, *46*(2), 135–145.
- Kitryte, V., Adams, A., Rimantas Venskutonis, P., & De Kimpe, N. (2012). Impact of lipid oxidation-derived aldehydes and ascorbic acid on the antioxidant activity of model melanoidins. *Food Chemistry*, *135*, 1273–1283.
- Klassen, A., & Hill, R. (1971). Comparison of starch from triticale and its parental specie. *Cereal Chemistry*, *48*, 648–654.
- Korus, J., Witzczak, M., Ziobro, R., & Juszczak, L. (2009). The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free gough and bread. *Food Hydrocolloids*, *23*, 988–995.
- Kulshrestha, K., & Usha, M. S. (1992). Biochemical composition and nutritional quality of triticale. *Journal of Food Science and Technology*, *29*, 109–110.
- Kweon, M., Donelson, T., Slade, L., & Levine, H. (2010). Micro-Sugar-Snap and Micro-Wire-Cut Cookie Baking with Trans-Fat and Zero-Trans-Fat Shortenings. *Cereal Chemistry*; *87* (5): 415-419 Sep-Oct 2010, *87*(5), 415–419. Retrieved from <http://www.thomsoninnovation.com/tip-innovation/\nhhttp://www.thomsoninnovation.com/tip-innovation/recordView.do?datasource=WOK&category=LIT&selRecord=1&totalRecords=1&databases=WOS,CCC&idType=uid/recordid&recordKeys=000281973800006/WOS:000281973800006>
- Kweon, M., Slade, L., Levine, H., & Gannon, D. (2014). Cookie- versus cracker-baking--what's the difference? Flour functionality requirements explored by SRC and alveography. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *54*(1), 115–38. <http://doi.org/10.1080/10408398.2011.578469>
- Kweon, M., Slade, L., Levine, H., Martin, R., & Souza, E. (2009). Exploration of Sugar Functionality in Sugar-Snap and Wire-Cut Cookie Baking: Implications for Potential Sucrose Replacement or Reduction. *Cereal Chemistry*, *86*(4), 425–433. <http://doi.org/10.1094/CCHEM-86-4-0425>

- Kweon, M., Slade, L., Levine, H., & Souza, E. (2010). Application of RVA and Time-Lapse photography to explore effects of extent of chlorination, milling extraction rate, and particle-size reduction of flour on cake-baking functionality. *Cereal Chemistry*, 87(5), 409–414. <http://doi.org/10.1094/CCHEM-03-10-0046>
- Laguna, L., Hernández, M. J., Salvador, A., & Sanz, T. (2013). Study on Resistant Starch Functionality in Short Dough Biscuits by Oscillatory and Creep and Recovery Tests. *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), 1312–1320. <http://doi.org/10.1007/s11947-012-0785-x>
- Laguna, L., Vallons, K. J. R., & Jurgens, A. (2012). Understanding the Effect of Sugar and Sugar Replacement in Short Dough Biscuits. <http://doi.org/10.1007/s11947-012-0968-5>
- Laguna, L., Vallons, K. J. R., Jurgens, A., & Sanz, T. (2012). Understanding the Effect of Sugar and Sugar Replacement in Short Dough Biscuits. *Food and Bioprocess Technology*, 6(11), 3143–3154. <http://doi.org/10.1007/s11947-012-0968-5>
- Lai, H. M., & Lin, T. C. (2006). Bakery Products: Science and Technology. In Y. H. Hui, H. Corke, Y. De Leyn, W. K. Nip, & N. Cross (Eds.), *Bakery Products: Science and Technology* (pp. 3–65). Ames, USA: Blackwell Publishing.
- Lampe, J. W. (1999). Health effect of vegetables and fruit: assesing the mechanisms of action in human experiments studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 475–490.
- Larrauri, J. a., Rupérez, P., & Saura-Calixto, F. (1997). Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1390–1393. <http://doi.org/10.1021/jf960282f>
- Lazaridou, A., & Biliaderis, C. G. (2007). Molecular aspects of cereal b-glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *Journal of Cereal Science*, 46, 101–118.
- Leley, T. (1992). Triticale, still a promise. *Plant Breeding*, 109, 1–17.
- León, A. E. (1995). *Estudio de las propiedades de las harinas de triticale: Influencia de las proteínas y el almidón sobre la calidad para elaborar galletitas*. Universidad Nacional de La Plata.
- Leon, A. E., Rubiolo, A., & Anon, M. C. (1996). Use of Triticale Flours in Cookies : Quality Factors. *Cereal Chemistry*, 73(6), 779–784.
- Lezcano, E. (2011). Almimentos argentinos. In *Anuario farinaceous 2011*. Ministerio de agricultura Ganadería y Pesca.
- Li, F., Bo-Tao, X., Xiang-Rong, X., Ren-You, G., Yuan, Z., En\_Qin, X., & Hua-Bin, L. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129, 345–350.
- Limón-Pacheco, J., & Gonsebatt, M. E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related

- enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research*, 134, 3479–3485.
- Liu, D. L., Helyar, K. R., Conyers, M. K., Fisher, R., & Poile, G. J. (2004). Response of wheat, triticale and barley to lime application in semi-arid soils. *Field Crops Research*, 287–301.
- Liu, H., Xie, F., Yu, L., Chen, L., & Li, L. (2009). Thermal processing of starch-based polymers. *Progress in Polymer Science*, 34(12), 1348–1368.  
<http://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.07.001>
- Liu, H., Yu, L., Chen, L., & Li, L. (2007). Retrogradation of corn starch after thermal treatment at different temperatures. *Carbohydrate Polymers*, 69(4), 756–762.  
<http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.02.011>
- Liu, H., Yu, L., Xie, F. W., & Chen, L. (2006). Gelatinization of corn starch with different amylase/amylopectin contents. *Carbohydrate Polymers*, 65, 357–363.
- Liu, S., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Hu, F. B., Giovannucci, E., Colditz, G. A., ... Willett, W. C. (2000). A prospective study of whole grain intake and risk of type 2 diabetes mellitus in US women. *American Journal of Public Health*, 90, 1409–1415.
- Liu, S., Stampfer, M. J., Hu, F. B., Giovannucci, E., Rimm, E., Manson, J. E., ... Willett, W. C. (1999). Whole grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the Nurses' Health Study. *American Journal Clinical Nutrition*, 70, 412–419.
- Lobo, V., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals and functional foods: impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4, 118–126.
- Lopes da Silva, J. A., & Rao, M. A. (1999). Rheological behavior of food gel systems. In *Rheology of fluid and semisolid foods: Principles and applications*. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers.
- Lorenz, K. (1972). Food uses of triticale. *Food Technology*, 26, 66–74.
- Lorenz, K. (1974). The history, development and utilization of triticale. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, 5, 175–280.
- Lukow, O. M. (2006). Wheat Flour Classification. In H. I. Hiu (Ed.), *Bakery Products: Science and Technology* (Blackwell, pp. 68–86). Ames, Iowa, USA.
- Lunn, J., & Buttriss, J. L. (2007). Carbohydrates and dietary fibre. *Nutrition Bulletin*, 32(1), 21–64.
- Lushchak, V. I. (2011). Adaptative response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 153, 175–190.
- Maache-Rezzoug, Z., Bouvier, J.-M., Allaf, K., & Patras, C. (1998). Effect of principal ingredients on rheological behaviour of biscuit dough and on quality of biscuits. *Journal of Food Engineering*, 35(1), 23–42. [http://doi.org/10.1016/S0260-8774\(98\)00017-X](http://doi.org/10.1016/S0260-8774(98)00017-X)
- Macfarlane, S., & Macfarlane, G. T. (2003). Regulation of short-chain fatty acid production.

- Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 67–72.
- Madl, R., & Tsen, C. (1974). Trypsin and chymotrysin inhibitors of triticale. In *Triticale: First Man-Made Cereal* (pp. 168–182). St Paul, MN: AACC International.
- Maitan-alfnas, G. P., & Visser, E. M. (2015). ScienceDirect Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass : converting food waste in valuable products ~ es.  
<http://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.10.001>
- Mälkki, Y., & Virtanen, E. (2001). Gastrointestinal effects of oat bran and oat gum. A review. *LWT-Food Science and Technology*, 34, 337–347.
- Manley, D. (2000). *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies*. (D. Manley, Ed.). Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Manthey, F., Hareland, G., & Huseby, D. (1999). Soluble and insoluble dietary fiber content and composition in oat. *Cereal Chemistry*, 76(3), 417–420. Retrieved from <http://cerealchemistry.aaccnet.org/doi/abs/10.1094/CCHEM.1999.76.3.417>
- Martínez-Valverde, I., Periago, M. J., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericano de Nutrición*, 50, 5–18.
- Matz, S. A. (1962). *Food texture*. WestPort, CT: The AVI Publ Co, Inc.
- Meiboom, S., & Gill, D. (1958). Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times. *Review of Scientific Instruments*, 29(8), 688–691.  
<http://doi.org/10.1063/1.1716296>
- Menjivar, J. A., & Faridi, H. (1994). Rheological properties of cookie and cracker doughs. In H. Faridi (Ed.), *The science of cookie and cracker 1production*. London, UK: Chapman and Hall.
- Meyer, D. (2007). Inulin for product development of low GI products to support weight management. In *Dietary fibre: components and functions* (pp. 257–269). Wageningen Academic Publishers.
- Meyer, K. A., Kushi, L. H., Jacob, D. R. J., Slavin, J., Sellers, T. A., & Folsom, A. R. (2000). Carbohydrates, dietary fiber, incident type 2 diabetes mellitus in older women. *Americal Journal Clinical Nutrition*, 71, 921–930.
- Meyer, K. A., Kushi, L. J., & Folsom, A. R. (1999). Is whole grain intake associated with reduced total and cause specific death rates in older women: the Iowa Women’s Health Study. *Americal Journal of Public Health*, 89, 322–329.
- Mie, G. (1908). Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen Der Physik*, 330, 377–445.
- Miller, R. A., & Hosenev, R. C. (1997). Factors in hard wheat flour responsible for reduced cookie spread. *Cereal Chemistry*, 74(3), 330–336.

- Miller, R. A., & Hosenev, R. C. (1997). Factors in Hard Wheat Flour Responsible for Reduced Cookie Spread. *Cereal Chemistry*, 74(3), 330–336.  
<http://doi.org/10.1094/cchem.1997.74.3.330>
- Miller, R. A., & Hosenev, R. C. (1997). Use of elongational viscosity to estimate cookie diameter. *Cereal Chemistry*, 74(5), 614–616.
- Miller, R. A., Hosenev, R. C., & Morris, C. F. (1997a). Effect of Formula Water Content on the Spread of Sugar-Snap Cookies. *Cereal Chemistry*, 74(5), 669–671.
- Miller, R. A., Hosenev, R. C., & Morris, C. F. (1997b). Effect of formula water content on the spread of sugar-snap cookies. *Cereal Chemistry*, 74(5), 669–671.
- Miranda, G., Berna, A., Salazar, D., & Mulet, A. (2009). Sulphur dioxide evolution during dried apricot storage. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 531–533.
- Miri, T. (2011). Viscosity and Oscillatory Rheology. In *Practical Food Rheology* (pp. 7–28).
- Moiraghi, M. (2013). *Calidad tecnológica de trigos blandos para la obtención de galletitas. Asociación entre la composición genética del grano y las propiedades físico-químicas de sus harinas*. Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Moiraghi, M., Ribotta, P. D., Aguirre, A., Pérez, G. T., & León, A. E. (2005a). Análisis de la aptitud de trigos pan para la elaboración de galletitas y bizcochuelos. *Agriscientia*, XXII(2), 47–54.
- Moiraghi, M., Ribotta, P. D., Aguirre, A., Pérez, G. T., & León, A. E. (2005b). Análisis de la aptitud de trigos pan para la elaboración de galletitas y bizcochuelos. *Agriscientia*, 22(2), 47–54.
- Moiraghi, M., Vanzetti, L., Bainotti, C., Helguera, M., León, A., & Pérez, G. (2011). Relationship Between Soft Wheat Flour Physicochemical Composition and Cookie-Making Performance. *Cereal Chemistry*, 88(2), 130–136.
- Moita Brites, C., Igreja, G., & León, A. E. (2006). Centeno y Triticales. In *De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica*.
- Morant-Manceau, A., Pradier, E., & Tremblin, G. (2004). Osmotic adjustment, gas exchanges and chlorophyll fluorescence of a hexaploid triticale and its parental species under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 25–33.
- Naeem, H. A., Darvey, N. L., Gras, P. W., & MacRitchie, F. (2002). Mixing properties, baking potential, and functionality changes in storage proteins during dough development of triticale-wheat flour blends. *Cereal Chemistry*, 332–339.
- Niness, K. R. (1999). Inulin and Oligofructose: What are they? *Journal of Nutrition*, 129, 1402–1206.
- Noratto, G., Porter, W., Byrne, D., & Cisneros-Zevallos, L. (2009). Identifying Peach and Plum

- Polyphenols with.pdf. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5219–5226.
- Nugent, A. P. (2005). Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, 30(1), 27–54.  
<http://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2005.00481.x>
- O'Brien, C. M., Chapman, D., Neville, D. P., Keogh, M. ., & Arendt, E. K. (2003). Effect of varying the microencapsulation process on the functionality of hydrogenated vegetable fat in short dough biscuits. *Food Research International*, 36, 215–221.
- Organización Panamericana de la Salud. (2012). *Salud en Sudamérica: panorama de la situación de salud y de las políticas y sistemas de salud*. Washington, DC.
- Orlowska, M., Utzig, E., & Randzio, S. L. (2009). Thermogravimetric study of water state in wheat starch gels obtained under high pressures. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1189, 55–61.
- Osborne, T. B. (1907). Proteins of the wheat kernel. *Publication of the Carnegie Institution Washington*, (84), 1–119.
- Otto, J. (1990). *Aseptic technology*.
- Pak, N. (2006). Inulina y fructoolisacaridos: Propiedades nutricionales y funcionales. In *Carbohidratos en alimentos iberoamericanos* (pp. 337–356). Sao Paulo: Edusp.
- Pareyt, B., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2009). Sugar-Snap Cookie Dough Setting: The Impact of Sucrose on Gluten Functionality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(17), 7814–7818. <http://doi.org/10.1021/jf9010774>
- Pareyt, B., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2010). Impact of fat on dough and cookie properties of sugar-snap cookies. *Cereal Chemistry*, 87, 226–230.
- Pareyt, B., & Delcour, J. A. (2008). The Role of Wheat Flour Constituents , Sugar , and Fat in Low Moisture Cereal Based Products : A Review on Sugar-Snap Cookies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 824–839.
- Pareyt, B., Talhaoui, F., Kerckhofs, G., Brijs, K., Goesaert, H., Wevers, M., & Delcour, J. a. (2009). The role of sugar and fat in sugar-snap cookies: Structural and textural properties. *Journal of Food Engineering*, 90(3), 400–408.
- Pareyt, B., Van Steertegem, B., Brijs, K., Lagrain, B., & Delcour, J. A. (2010). The impact of redox agents on sugar-snap cookie making. *Journal of Cereal Science*, 52(2), 192–199.  
<http://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.05.005>
- Pareyt, B., Wilderjans, E., Goesaert, H., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2008). The role of gluten in a sugar-snap cookie system: A model approach based on gluten–starch blends. *Journal of Cereal Science*, 48(3), 863–869. Retrieved from  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521008001100>
- Parker, R., & Ring, S. G. (2001). Aspects of the physical chemistry of starch. *Journal of Cereal*

- Science*, 34, 1–17. <http://doi.org/10.1006/jcrs.2000.0402>
- Parra Rocha, F. A., Ribotta, P. D., & Ferrero, C. (2015). Starch – Apple Pomace Mixtures : Pasting Properties and Microstructure, 8, 1854–1863. <http://doi.org/10.1007/s11947-015-1541-9>
- Pastoriza, S., & Rufián-Henares, J. A. (2014). Contribution of melanoidins to the antioxidant capacity of the Spanish diet. *Food Chemistry*, 164, 438–445.
- Patrignani, M., Rinaldi, G. J., & Lupano, C. E. (2016). In vivo effects of Maillard reaction products derived from biscuits. *Food Chemistry*, 196, 204–210.
- Pauly, A., Pareyt, B., Lambrecht, M. A., Fierens, E., & Delcour, J. A. (2013). Flour from wheat cultivars of varying hardness produces semi-sweet biscuits with varying textural and structural properties. *LWT - Food Science and Technology*, 53(2), 452–457. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.03.014>
- Peña, J. R. (1979). *Factors affecting grain shrivelling in secondary hexaploid triticale*. Universidad Estatal de Kansas.
- Peña, J. R., & Bate, L. (1982). Grain shrivelling in secondary hexaploid Triticale. I. Alpha-amylase activity and carbohydrate content of mature and developing grains. *Cereal Chemistry*, 59, 454–458.
- Peña, R., & Amaya, A. (1980). Triticale: Un nuevo cereal en desarrollo. *Panagra*, 8, 45–50.
- Peressini, D., & Sensidoni, A. (2009). Effect of soluble dietary fibre addition on rheological and breadmaking properties of wheat doughs. *Journal of Cereal Science*, 49(2), 190–201.
- Perez, G. T., Leon, A. E., Ribotta, P. D., Aguirre, A., Rubiolo, O. J., & Añón, M. C. (2003). Use of triticale flours in cracker-making. *European Food Research and Technology*, 217(2), 134–137. <http://doi.org/10.1007/s00217-003-0729-9>
- Pérez, G. T., León, A. E., Ribotta, P. D., Aguirre, A., Rubiolo, O. J., & Añón, M. C. (2003). Use of triticale flours in cracker-making. *European Food Research and Technology*, 217(2), 134–137. <http://doi.org/10.1007/s00217-003-0729-9>
- Pérez-Nieto, a., Chanona-Pérez, J. J., Farrera-Rebollo, R. R., Gutiérrez-López, G. F., Alamilla-Beltrán, L., & Calderón-Domínguez, G. (2010). Image analysis of structural changes in dough during baking. *LWT - Food Science and Technology*, 43(3), 535–543. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.09.023>
- Piazza, L., & Masi, P. (1997). Development of crispness in cookies during baking in an industrial oven. *Cereal Chemistry*, 74(2), 135–140. <http://doi.org/10.1094/CCHEM.1997.74.2.135>
- Picolli da Silva, L., & Santorio Ciocca, M. L. (2005). Total, insoluble and soluble dietary fiber values measured by enzymatic-gravimetric method in cereal grains. *Journal of Food Composition and Analysis*, 113–120.

- Pietta, P. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, *63*, 1035–1042.
- Piteira, M. F., Maia, J. M., Raymundo, A., & Sousa, I. (2006). Extensional flow behaviour of natural fibre-filled dough and its relationship with structure and properties. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, *137*(1–3), 72–80.  
<http://doi.org/10.1016/j.jnnfm.2006.03.008>
- Pomeranz, Y. (1971). Composition and functionality of wheat-flour components. In Y. Pomeranz (Ed.), *Wheat, Chemistry and Technology* (pp. 585–674). St Paul, MN: AACC International.
- Pomeranz, Y., & Williams, P. C. (1990). Wheat hardness: its genetic, structural, and biochemical background, measurement, and significance. In Y. Pomeranz (Ed.), *Advances in Cereal Science and Technology* (pp. 471–548). St Paul, MN: AACC International.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*, 4290–4302.
- Prosky, L., & Hoebregs, H. (1999). Methods to determine Food Inulin and Oligofructose. *The Journal of Nutrition*, *129*, 1418–1423.
- Provencher, S. W. (1982). A constrained regularization method for inverting data represented by linear algebraic or integral equations. *Computer Physics Communications*, *27*(3), 213–227. [http://doi.org/10.1016/0010-4655\(82\)90173-4](http://doi.org/10.1016/0010-4655(82)90173-4)
- Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenolics as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*, 3396–3402.
- Que, F., Mao, L., Fang, X., & Wu, T. (2008). Comparison of hot air-drying and freeze-drying on the physicochemical properties and antioxidant activities of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) flours. *International Journal of Food Science and Technology*, *43*, 1195–1201.
- Quevedo, R., Lopez, C. G., Aguilera, J. M., & Cadoche, L. (2002). Description of food surfaces and microstructural changes using fractal image texture analysis. *Journal of Food Engineering*, *53*, 361–371.
- Ram, S., & Singh, R. P. (2004). Solvent Retention Capacities of Indian Wheats and Their Relationship with Cookie-Making Quality. *Cereal Chemistry*, *81*(1), 128–133.
- Ramírez, A., Pérez, G. T., Ribotta, P. D., & León, A. E. (2003). The occurrence of friabilins in triticale and their relationship with grain hardness and baking quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(24), 7176–7181.
- Ratnayake, W., & Jackson, D. (2008). Thermal behavior of resistant starches RS 2, RS 3 and RS4.

- Journal of Food Science*, 73, 356–366.
- Ratnayake, W. S., & Jackson, D. S. (2007). A new insight into the gelatinization process of native starches. *Carbohydrate Polymers*, 40, 775–784.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(98), 1231–1237.
- Rezende, N. V., Benassi, M. T., Vissotto, F. Z., Augusto, P. P. C., & Grossmann, M. V. E. (2015). Effects of fat replacement and fibre addition on the texture, sensory acceptance and structure of sucrose-free chocolate. *International Journal of Food Science and Technology*, 1413–1420.
- Ribotta, P. D., León, A. E., Aguirre, A., & Beltramo, D. (2002). Medición instrumental del color en galletitas dulces de triticale. Influencia del contenido de cenizas. *Información Tecnológica*, 13, 17–174.
- Ribotta, P. D., Pérez, G. T., Añón, M. C., & León, A. E. (2010). Optimization of additive combination for improved soy-wheat bread quality. *Food and Bioprocess Technology*, 3(3), 395–405. <http://doi.org/10.1007/s11947-008-0080-z>
- Ribotta, P., León, A., Aguirre, A., & Beltramo, D. (2002). Instrumental measurement of triticale cookie color. Effect of ash content | Medicion instrumental del color en galletitas dulces de triticale. Influencia del contenido de cenizas. *Informacion Tecnologica*, 13(1), 171–174.
- Rice-Evans, C. (2001). Flavonoid antioxidants. *Current Medicinal Chemistry*, 8, 797–807.
- Ring, S. G., Colona, P., l'Anson, K. J., Kalichevsky, M. T., Miles, M. J., Morris, J., & Orford, P. D. (1987). The gelation and crystallization of amylopectin. *Carbohydrate Research*, 162, 277–293.
- Roberfroid, M. B. (1999). Concepts in Functional Foods: The Case of Inulin and Oligofructose. *The Journal of Nutrition*, 219, 1398–1401.
- Roberfroid, M. B., & Delzenne, N. (1998). Dietary fructans. *Annual Review of Nutrition*, 18, 117–143.
- Roccia, P., Moiraghi, M., Ribotta, P. D., Pérez, G. T., Rubiolo, O. J., & León, A. E. (2006). Use of solvent retention capacity profile to predict the quality of triticale flours. *Cereal Chemistry*, 83(3), 243–249. <http://doi.org/10.1094/CC-83-0243>
- Roccia, P., Ribotta, P. D., Ferrero, C., Pérez, G. T., & León, A. E. (2012). Enzymes Action on Wheat-Soy Dough Properties and Bread Quality. *Food and Bioprocess Technology*, 5(4), 1255–1264. <http://doi.org/10.1007/s11947-010-0396-3>
- Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliar, V., Genovese, M. I., de Souza Schmidt Gonçalves, A. E., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity

- in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*, *127*, 174–179.
- Rodríguez-García, J., Laguna, L., Puig, A., Salvador, A., & Hernando, I. (2013). Effect of Fat Replacement by Inulin on Textural and Structural Properties of Short Dough Biscuits. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(10), 2739–2750. <http://doi.org/10.1007/s11947-012-0919-1>
- Roosendaal, H., Abu-hardan, M., & Frazier, R. A. (2012). Thermogravimetric analysis of water release from wheat flour and wheat bran suspensions. *Journal of Food Engineering*, *111*(4), 606–611. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.009>
- Roudaut, G., & Wallecan, J. (2015). New insights on the thermal analysis of low moisture composite foods. *Carbohydrate Polymers*, *115*, 10–15. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.066>
- Rubiolo, O. J., Ferretti, S., Ribotta, P. D., Aguirre, A., & León, A. (1998). Incidencia del contenido proteico de las harinas de triticale sobre su aptitud para elaborar galletitas. *Información Tecnológica*, *73*, 779–784.
- Sabattini, A. (1988). *Informe final de pasantía en el laboratorio del centro internacional de mejoramiento de trigo y maíz*.
- Samela G. (2011). El consumo de galletitas está entre los más altos del mundo, p. <http://www.ieco.clarin.com/empresas/consumo-gallet>.
- Santiveri, F., Royo, C., & Romagosa, I. (2002). Patterns of grain filling of spring and winter hexaploid triticales. *European Journal of Agronomy*, *219–230*.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., & Rémésy, C. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *45*, 287–306.
- Schieber, A., Keller, P., & Carle, R. (2001). Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, *910*, 265–273.
- Sciarini, L. S., Pérez, G. T., de Lamballerie, M., León, A. E., & Ribotta, P. D. (2012). Partial-Baking Process on Gluten-Free Bread: Impact of Hydrocolloid Addition. *Food and Bioprocess Technology*, *5*(5), 1724–1732. <http://doi.org/10.1007/s11947-011-0529-3>
- Sciarini, L. S., Van Bockstaele, F., Nusantoro, B., Pérez, G. T., & Dewettinck, K. (2013). Properties of sugar-snap cookies as influenced by lauric-based shortenings. *Journal of Cereal Science*, *58*(2), 234–240. <http://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.07.005>
- Se-Na, K., Mee-Ree, K., Soo-Muk, C., So-Young, K., Jung-Bong, K., & Young-Sook, C. (2012). Antioxidant activities and determination of phenolic compounds isolated from oriental plums (Soldam, Oishiwase and Formosa). *Nutrition Research and Practice*, *6*(4), 277–285.

- Sengupta, S., Tjandra, J. J., & Gibson, P. R. (2001). Dietary fiber and colorectal neoplasia. *Diseases of the Colon & Rectum*, *44*, 1016–1033.
- Serial, M. R., Blanco Canalis, M. S., Carpinella, M., Valentinuzzi, M. C., León, A. E., Ribotta, P. D., & Acosta, R. H. (2016). Influence of the incorporation of fibers in biscuit dough on proton mobility characterized by time domain NMR. *Food Chemistry*, *192*, 950–957. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.101>
- Seymour, R. B., & Carraher, C. E. (1995). Plastificantes, estabilizadores, retardadores de llama y otros aditivos. In *Introducción a la química de los polímeros*. Barcelona: Reverté SA.
- Shewry, P. R., Halford, N. G., & Lafiandra, D. (2003). Genetics of wheat gluten proteins. In *Advances in Genetics* (pp. 111–184).
- Shibanuma, K., Takeda, Y., Hizukuri, S., & Shibata, S. (1994). Molecular structures of some wheat starches. *Carbohydrates Polymer*, *25*, 111–116.
- Shinnick, F. L., Longare, M. J., Ink, S. L., & Marlett, J. A. (1988). Oat fiber: Composition versus physiological function in rats. *Journal of Nutrition*, *118*, 144–151.
- Shogren, R. L. (1992). Effect of moisture content on the melting and subsequent physical aging of cornstarch. *Carbohydrate Polymers*, *25*, 111–116.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*, 144–158.
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance. A review. *Appetite*, *51*, 456–467.
- Skendi, A., Papageorgiou, M., & Biliaderis, C. G. (2006). Molecular size and concentration effects of barley  $\beta$ -glucan supplementation on dough and bread characteristics. In *Book of Abstracts of Dietary Fibre Conference 2006: Multifunctional Complex of Components* (p. 200). Helsinki.
- Skovmand, B. P., Fox, P. N., & Villarreal, L. R. (1984). Triticale in commercial agriculture: Progress and promise. *Advances in Agronomy*, *37*, 1–45.
- Slade, L., & Levine, H. (1987). Recent Developments in Industrial Polysaccharides. In *Industrial Polysaccharides* (Gordon and, pp. 387–430). New York.
- Slade, L., & Levine, H. (1988). Non-equilibrium behavior of small carbohydrate systems. *Pure and Applied Chemistry*, *60*, 1841–1864.
- Slade, L., & Levine, H. (1991). Beyond water activity: recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *30*(2–3), 115–360. <http://doi.org/10.1080/10408399109527543>
- Slade, L., & Levine, H. (1993). Water and the glass transition - Dependence of the glass transition on composition and chemical structure: Special implications for flour

- functionality in cookie baking. *Journal of Food Engineering*, 22(1–4), 143–188.  
[http://doi.org/10.1016/0260-8774\(94\)90029-9](http://doi.org/10.1016/0260-8774(94)90029-9)
- Slade, L., & Levine, H. (1994). Structure-function relationships of biscuit and cracker ingredients. In H. Faridi (Ed.), *The Science of Biscuit and Cracker Production* (pp. 23–141). New York: Chapman and Hall.
- Slade, L., Levine, H., & Finley, J. W. (1989). Protein-water interactions: Water as a plasticizer of gluten and other protein polymers. In *Protein Quality and the Effects of Processing* (pp. 9–124). New York.
- Slade, L., Levine, H., Ievolella, J., & Wang, M. (1993). The glassy state phenomenon in applications for the food industry: Application of the food polymer science approach to structure–function relationships of sucrose in cookie and cracker systems. *Science of Food and Agriculture*, 63(2), 133–176.
- Slade, L., Levine, H., Wang, M., & Ievolella, J. (1996). DSC analysis of starch thermal properties related to functionality in low-moisture baked goods. *Journal of Thermal Analysis*, 47, 1299–1314.
- Sluimer, P. (2005). Mixing. In *Principles of breadmaking: functionality of raw materials and process steps*. St Paul, MN: American Association of Cereal Chemists Inc.
- Soulaka, A. B., & Morrison, W. R. (1985). The amylose and lipid contents, dimensions, and gelatinization characteristics of some wheat starches and their A- and B-granule fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36, 709–718.
- Steele, I. W. (1977). The search for consistency in biscuit doughs. *Baking Industry Journal*, 9(3), 21.
- Steffe, J. F. (1994). *Rheological Methods in Agricultural Engineering* (Vol. 23).  
[http://doi.org/10.1016/0260-8774\(94\)90090-6](http://doi.org/10.1016/0260-8774(94)90090-6)
- Steffe, J. F. (1996). Introduction to rheology. In *Rheological methods in food process engineering*. Michigan, USA: Freeman.
- Stephen, A. M., Dahl, W. J., Johns, D. M., & Englyst, H. N. (1997). Effect of oat hull fiber on human colonic function and serum lipids. *Cereal Chemistry*, 74, 379–383.
- Stevenson, S. G., Fok, P. Y., & Edwards, N. M. (2010). Evaluating sugar-snap cookie quality using digital image analysis. *Cereal Chemistry*, 87, 137–140.
- Stone, H., & Sidel, J. L. (1993). *Sensory Evaluation Practice*. San Diego, CA: Academic Press, Inc.
- Story, J. A., & Kritchevsky, D. (1976). Comparison of the binding of various bile acids and bile salts in vitro by several types of fiber. *Journal of Clinical Nutrition*, 106, 1292–129.
- Sudha, M. L., Srivastava, A. K., Vetrmani, R., & Leelavathi, K. (2007). Fat replacement in soft dough biscuits: Its implications on dough rheology and biscuit quality. *Journal of Food*

- Engineering*, 80(3), 922–930. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.08.006>
- Sugihara, T. F. (1978). Studies on Pure Culture Fermentation for Soda Cracker Production. In *Proceedings of Annual Technical Conference of Biscuit Cracker Manufacturers Association*.
- Symons, L. J., & Brennan, C. S. (2004). The influence of (1-3) (1-4)-b-D- glucan-rich fractions from barley on the physicochemical properties and in vitro reducing sugar release of white wheat breads. *Journal of Food Science*, 69, 463–467.
- Szenes, E. (1991). *Fruit juices*.
- Tanilli, V. H. (1976). Characterization of wheat and flour cookie and cracker production. *Cereal Foods World*, 21, 624–628.
- Teeuwen, H., Thone, M., & Vandorpe, J. (1992). Inulin: A versatile fibre ingredient. *International Food Ingredients*, 5, 10–14.
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch structure and digestibility Enzyme-Substrate relationship. *World Poul Sci J*, 60(June), 186–195. <http://doi.org/10.1079/WPS200312>
- Thomke, S., Petterson, D., Aman, P., & Rundgren, M. (1987). Chemical characterization and nutritive evaluation of triticale in comparison with wheat and rye. *Sver*, 97, 65–77.
- Titgemeyes, E. C., Bourquin, L. D., Fahey, G. C., & Garleb, K. A. (1991). Fermentability of various fiber sources by human fecal bacteria in vitro. *America Journal of Clinical Nutrition*, 53, 1418–1424.
- Tiwari, A., Sharma, H. K., Kumar, N., & Kaur, M. (2015). The effect of inulin as a fat replacer on the quality of low-fat ice cream. *International Journal of Dairy Technology*, 374–380.
- Tohver, M., Kann, A., Täht, R., Mihhalevski, A., & Hakman, J. (2005). Quality of triticale cultivars suitable for growing and bread-making in northern conditions. *Food Chemistry*, 125–132.
- Topping, D. (1991). Soluble fiber polysaccharides: effects on plasma cholesterol and large bowel short- chain fatty acids. *Nutrition Reviews*, 49, 195–203.
- Topping, D. (2007). Cereal complex carbohydrates and their contribution to human health. *Journal of Cereal Science*, 46, 220–229.
- Torri, C. L., Ribotta, P. D., Morcillo, M. H., Rubiolo, O. J., Pérez, G. T., & León, A. E. (2003). Influencia del contenido de almidón dañado sobre la calidad galletitera en harinas de triticale. *Agriscientia*, 20, 3–8.
- Torri, C., Ribotta, P. D., Morcillo, M. H., Rubiolo, O. J., Perez, G. T., & Leon, A. E. (2003). Determinación del contenido de almidón dañado en harinas de triticale. Su influencia sobre la calidad galletitera. *Agriscientia*, 20, 3–8.
- Tsen, C. (1974). Bakery products from triticale flours. In C. C. Tsen (Ed.), *Triticale: First Man-Made Cereal* (p. 234). St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemistry.
- Unrau, A., & Jenkins, B. (1964). Investigations on synthetic cereal species. Milling, baking and

- some compositional characteristics of some “triticale” and parental species. *Cereal Chemistry*, *41*, 365–375.
- Van Loo, J., Coussment, P., Leenheer, L., Hoebregs, H., & Smits, G. (1995). On the presence of inulin and oligofructose as a natural ingredients in the western diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *35*, 525–552.
- Van Steertegem, B., Pareyt, B., Slade, L., Levine, H., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2013). Impact of Heat Treatment on Wheat Flour Solvent Retention Capacity (SRC) Profiles. *Cereal Chemistry*, *90*(6), 608–610. <http://doi.org/10.1094/CCHEM-04-13-0069-N>
- Varughese, G. (1991). Recognizing triticale’s proepr place among the world’s cereals. In *2nd Int. Triticale Symp* (p. 6). Passo Fundo, Brazil: Berthier Grafica.
- Veraverbeke, W. S., & Delcour, J. A. (2002). Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Food Science and Nutrition*, *42*, 179–208.
- Vettern, J. L. (1984). Technical bulletin. In *American Institute of Baking*. Manhattan, KS, USA.
- Villegas, E., Mc Donald, C., & Gilles, K. (1970). Variability in the lysine content of wheat, rye and triticale proteins. *Cereal Chemistry*, *47*, 746–757.
- Vizzotto, M., Porter, W., Byrne, D., & Cisneros-Zevallos, L. (2014). Polyphenols of selected peach and plum genotypes reduce cell viability. *Food Chemistry*, *164*, 363–370.
- Wade, P. (1988). Biscuits, cookies and crackers: the principles of the craft. *Elsiever Applied Science*. London , UK and New York, USA.
- Waigh, T. A., Gidley, J. M., Komanshek, B. U., & Donald, A. M. (2000). The phase transformations in starch during gelatinisation: a liquid crystalline approach. *Carbohydrate Research*, *328*, 165–176.
- Walker, S., Seetharaman, K., & Goldstein, a. (2012). Characterizing physicochemical changes of cookies baked in a commercial oven. *Food Research International*, *48*(1), 249–256. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.04.003>
- Wang, M., Hamer, R. J., Vliet, T. Van, & Oudgenoeg, G. (2002). Interaction of Water Extractable Pentosans with Gluten Protein : Effect on Dough Properties and Gluten Quality. *Journal of Cereal Science*, *36*, 25–37. <http://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0453>
- Whiteley, P. R. (1965). Ingredient proportions of wafers. *Biscuit Maker & Plant Baker*.
- Williams, C. L. (1995). Importance of Dietary Fiber in Childhood. *Journal of the American Dietetic Association*, *95*, 1140–1149.
- World and Health Organization. (2014). *Global Status Repot on noncommunicable diseases*.
- World Health Organization. Food and Agriculture Organization. (2003). *Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases*.

- Xiao, Z. S., Park, S. H., Chung, O. K., Caley, M. S., & Seib, P. A. (2006). Solvent retention capacity values in relation to hard winter wheat and flour properties and straight-dough breadmaking quality. *Cereal Chemistry*, *83*, 465–471.
- Xie, F., Yu, L., Chen, L., & Li, L. (2008). A new study of starch gelatinization under shear stress using dynamic mechanical analysis. *Carbohydrate Polymers*, *72*, 229–234.
- Yadav, N., Roopa, B. S., & Bhattacharya, S. (2006). Viscoelasticity of a simulated polymer and comparison with chickpea flour doughs. *Journal of Food Process Engineering*, *29*, 234–252.
- Yamamoto, Y. Y. (2000). *Free radicals in chemistry, biology and medicine*. UK: OICA International.
- Yamazaki, W., & Lord, D. (1971). Soft wheat products. In Y. Pomeranz (Ed.), *Wheat, Chemistry and Technology* (pp. 743–776). AACC International.
- Yúfera, E. P. (1998). Cereales. In *Química de los alimentos*. Madrid, España: Editorial Síntesis S.A.
- Zahn, S., Pepke, F., & Rohm, H. (2010). Effect of inulin as a fat replacer on texture and sensory properties of muffins. *International Journal of Food Science & Technology*, *45*(12), 2531–2537. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02444.x>
- Zambrano, Z., de la Luz, M., Hernández, A., & Gallardo, Y. (1998). Caracterización fisicoquímica del Nopal. In *Fibra dietética* (pp. 29–41). Instituto Politécnico Nacional, Mexico: CYTED.
- Zoulias, E. I., Oreopoulou, V., & Kounalaki, E. (2002). Effect of fat and sugar replacement on cookie properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *82*(14), 1637–1644. <http://doi.org/10.1002/jsfa.1230>
- Zoulias, E. I., Oreopoulou, V., & Tzia, C. (2000). Effect of fat mimetics on physical, textural and sensory properties of cookies. *International Journal of Food Properties*, *3*, 385–397.
- Zuleta, A., & Sambucetti, M. E. (2006). Fructanos: Características estructurales y metodología analítica. In *Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos* (pp. 197–210). Sao Paulo: Edusp.
- Zuleta, a., & Sambucetti, M. E. (2001). Inulin determination for food labeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(10), 4570–4572. <http://doi.org/10.1021/jf010505o>

# ANEXO

### Evaluación sensorial de galletitas dulces

Nombre: .....

Fecha: .....

¿Con qué frecuencia consume galletitas dulces?

- Casi todos los días       1-2 veces por semana
- 1-2 veces al mes       No consume

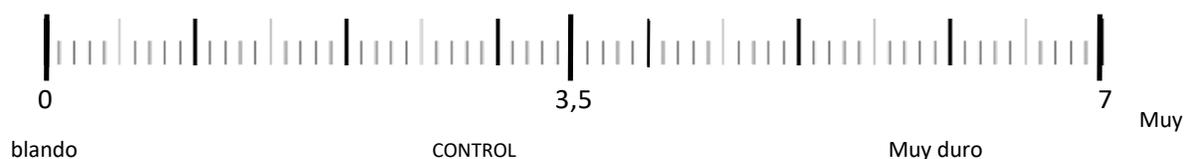
¿Durante que momentos del día consume galletitas dulces?

- Desayuno       Colación       Merienda

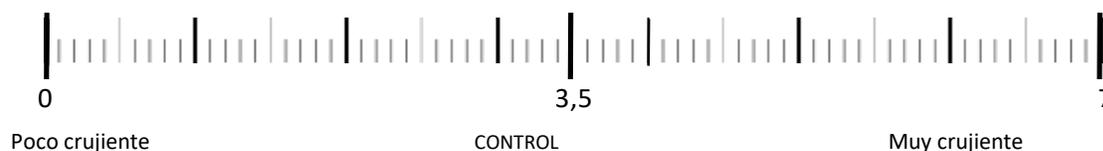
Tome cada una de las muestras presentadas, evalúe el atributo indicado comparando con la muestra control y coloque una marca donde considere.

**Atributos:**

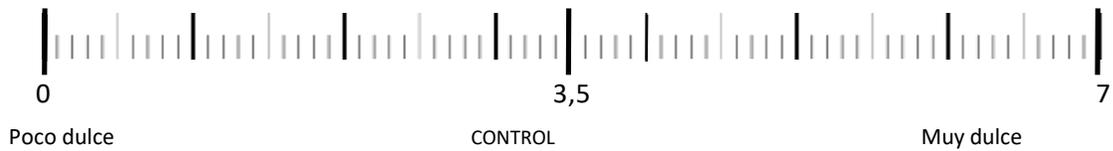
Dureza: evaluar la fuerza necesaria para comprimir un trozo de galletita (un cuarto de pieza aproximadamente) entre los dos molares, cuando se lo muerde por primera vez.



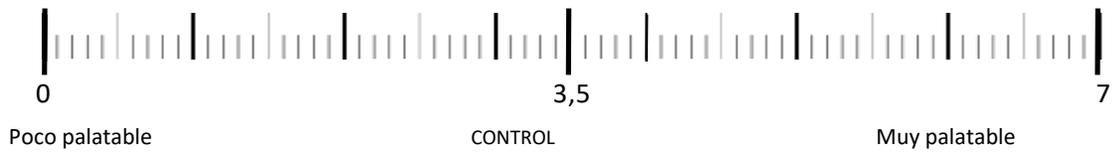
Crujencia: evaluar el sonido percibido por el oído a través del aire y los huesos luego de morder la galletita con los molares.



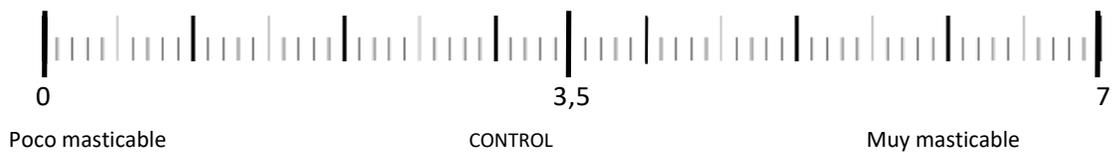
Gusto Dulce: evaluar el dulzor o la intensidad de gusto dulce percibido en la punta de la lengua mientras se mastica la galletita.



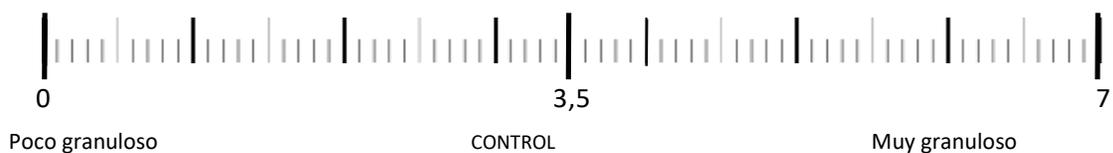
Palatabilidad: evaluar la sensación grasa que queda en el paladar luego de la deglución. Muy palatable, equivale a mucha sensación de grasa.



Masticabilidad: evaluar la cantidad de veces que debe masticar un trozo de galletita (aproximadamente un cuarto de la pieza de galletita) hasta alcanzar la consistencia requerida para ser deglutido. Muy masticable, necesita masticarse mayor cantidad de veces.



Granulosidad: evaluar la presencia de gránulos percibidos por la lengua durante la masticación de la galleta previo a la deglución.



Por favor ordene las muestras según su grado de **preferencia**, escribiendo el código de la muestra que menos le gusta a la izquierda siguiendo hacia la derecha con la que más le gusta, **incluyendo el control**.

Apariencia visual: \_\_\_\_\_

Textura: \_\_\_\_\_

Sabor: \_\_\_\_\_



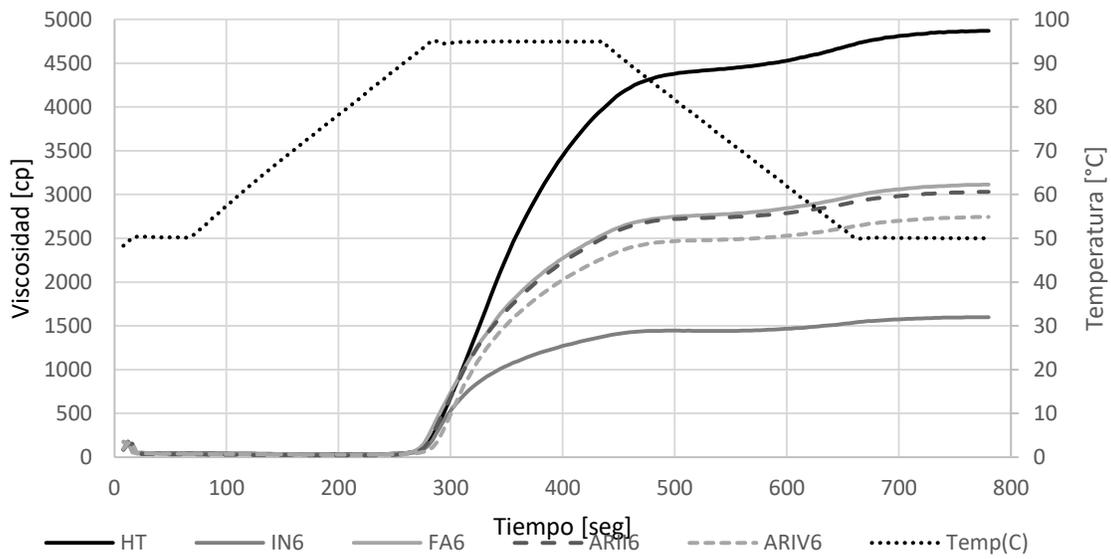


Figura 1. Curvas de viscosidad de harina de trigo (HT) y muestras con incorporación de 6% de fibra alimentaria con una solución de sacarosa 50% como solvente. IN: inulina; FA: fibra de avena; ARII: Almidón resistente tipo II; ARIV: Almidón resistente tipo IV.

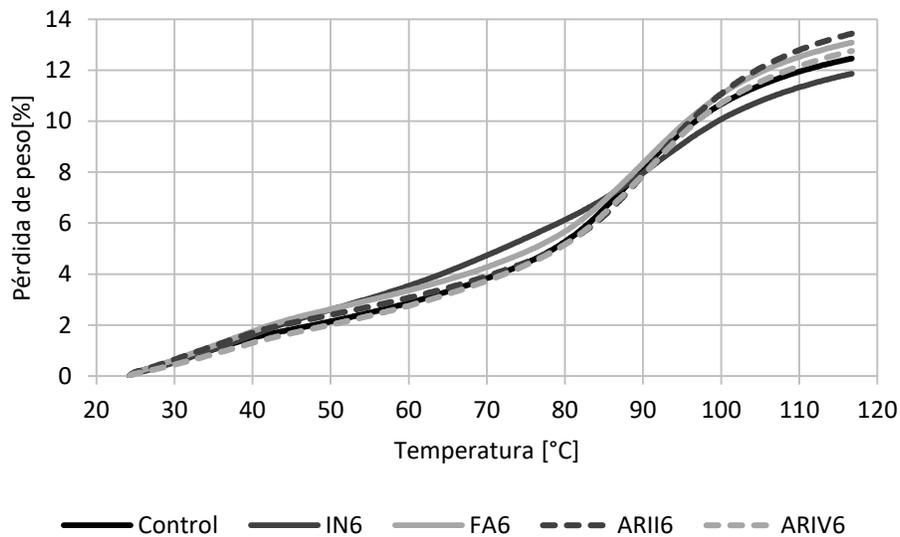


Figura 2. Curva de pérdida de peso de las muestras control y con 6% de incorporación de fibra durante el calentamiento. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV.

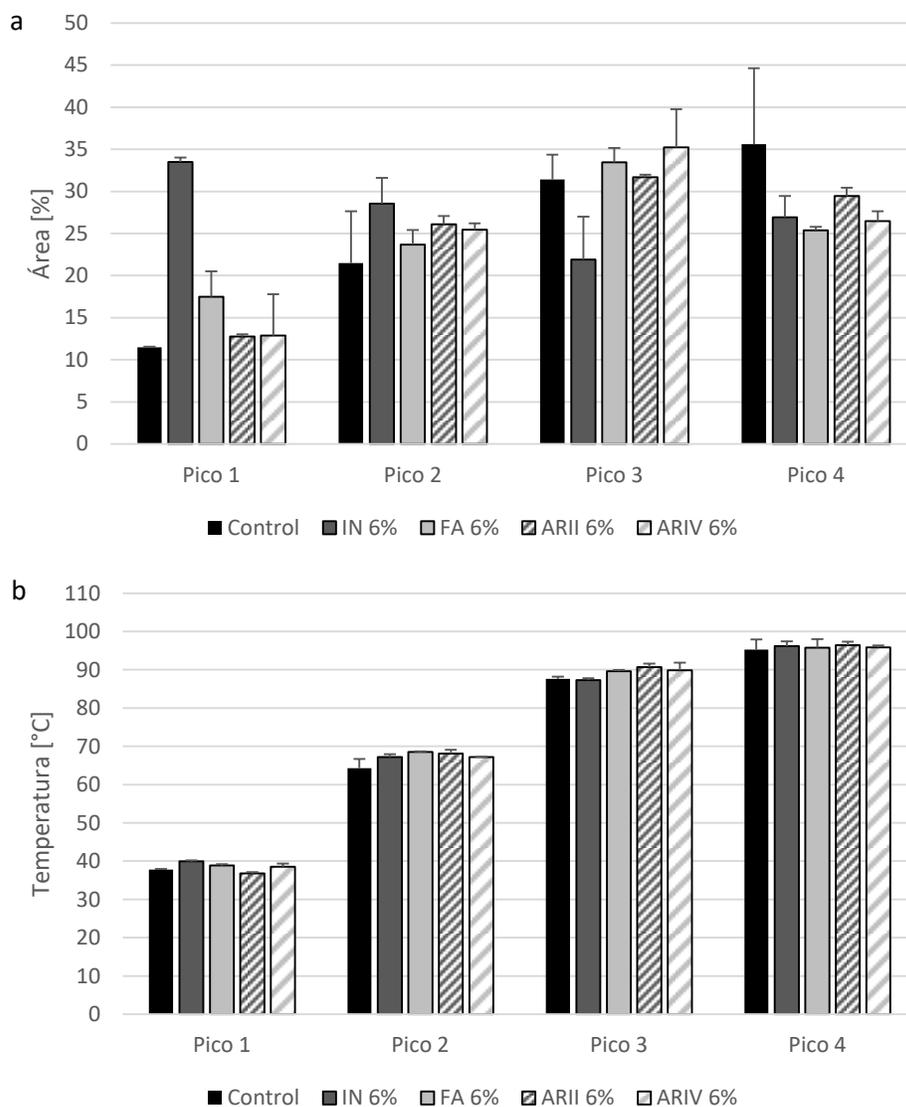


Figura 3. Área (a) y temperatura del centro (b) de cada pico obtenidos por deconvolución de DTGA de las muestras Control y con 6% de incorporación de fibras. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV.

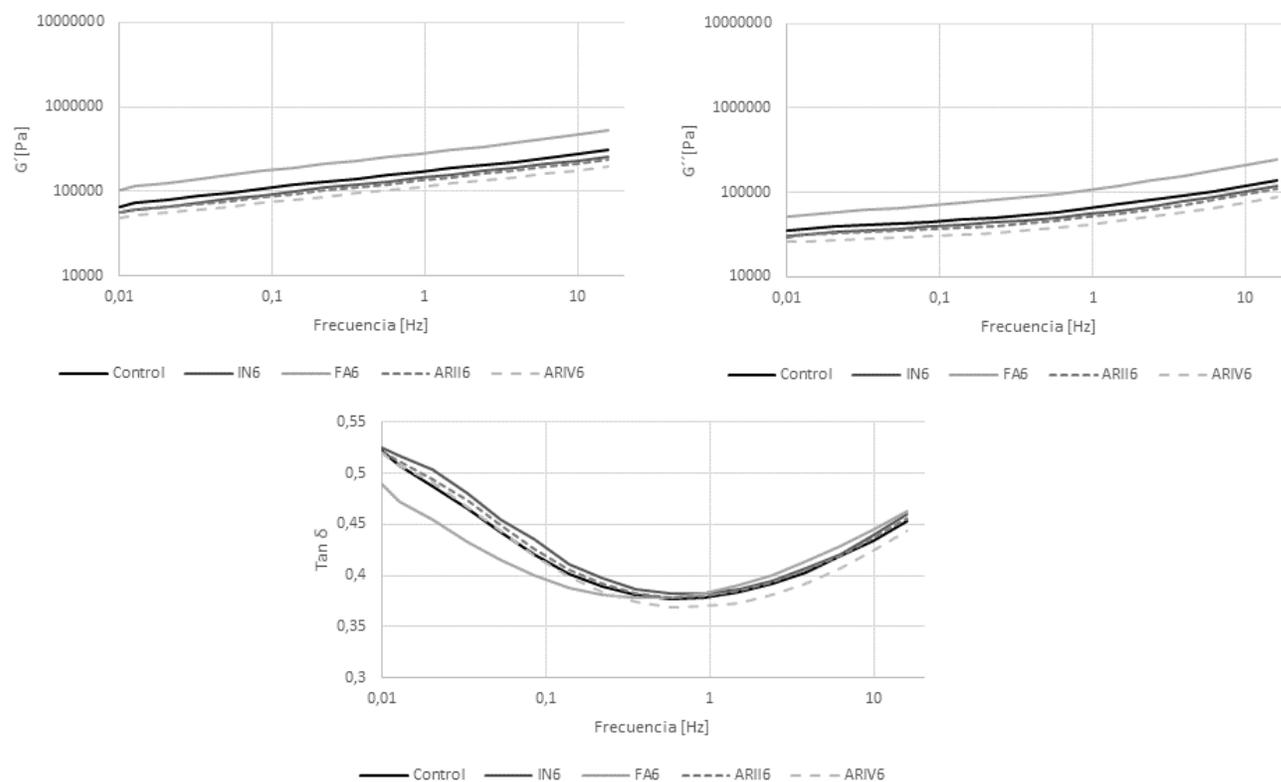


Figura 4. Efecto de la incorporación de fibra sobre el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y módulo de pérdida ( $G''$ ) obtenidos por barrido de frecuencia. C: control. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 indica la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

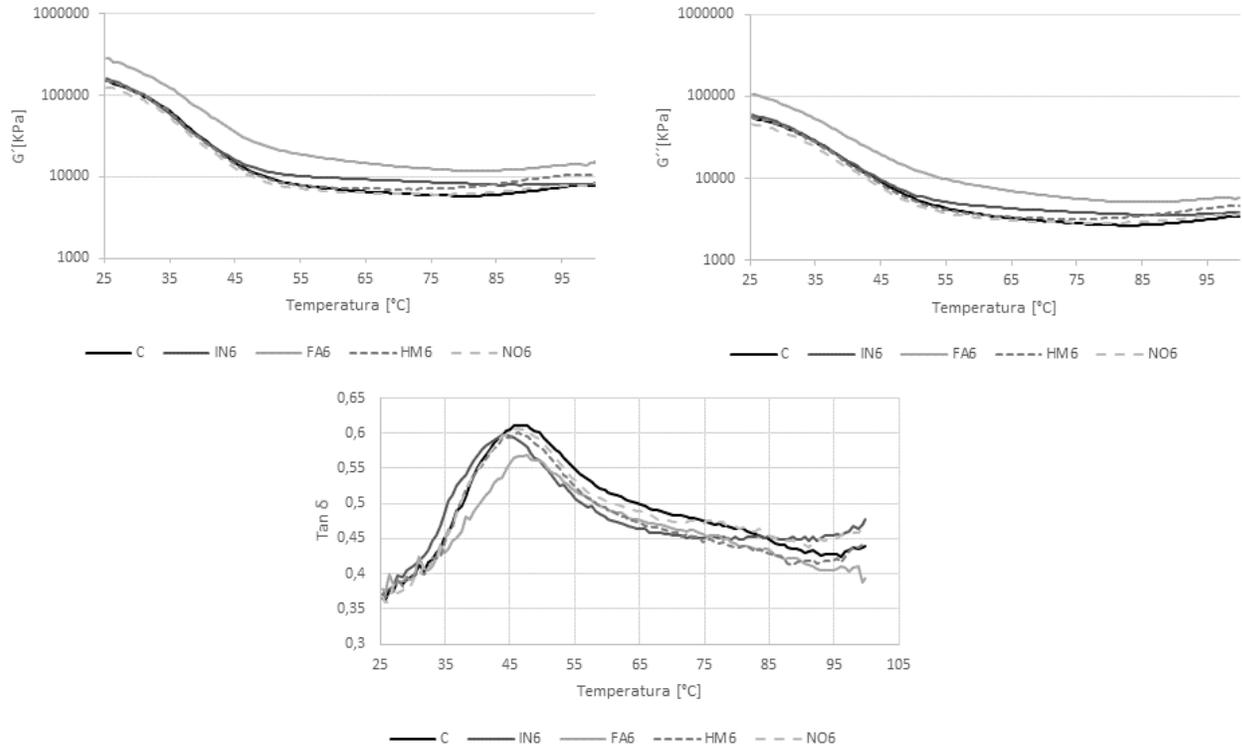


Figura 5. Efecto de la incorporación de fibra en masas de galletita sobre el módulo de almacenamiento ( $G'$ ), módulo de pérdida ( $G''$ ) y  $\tan \delta$ , obtenidos por barrido de temperatura. C: control. IN: inulina. FA: fibra de avena. ARII: almidón resistente tipo II. ARIV: almidón resistente tipo IV. 6 indican la cantidad de fibra incorporada a la formulación.

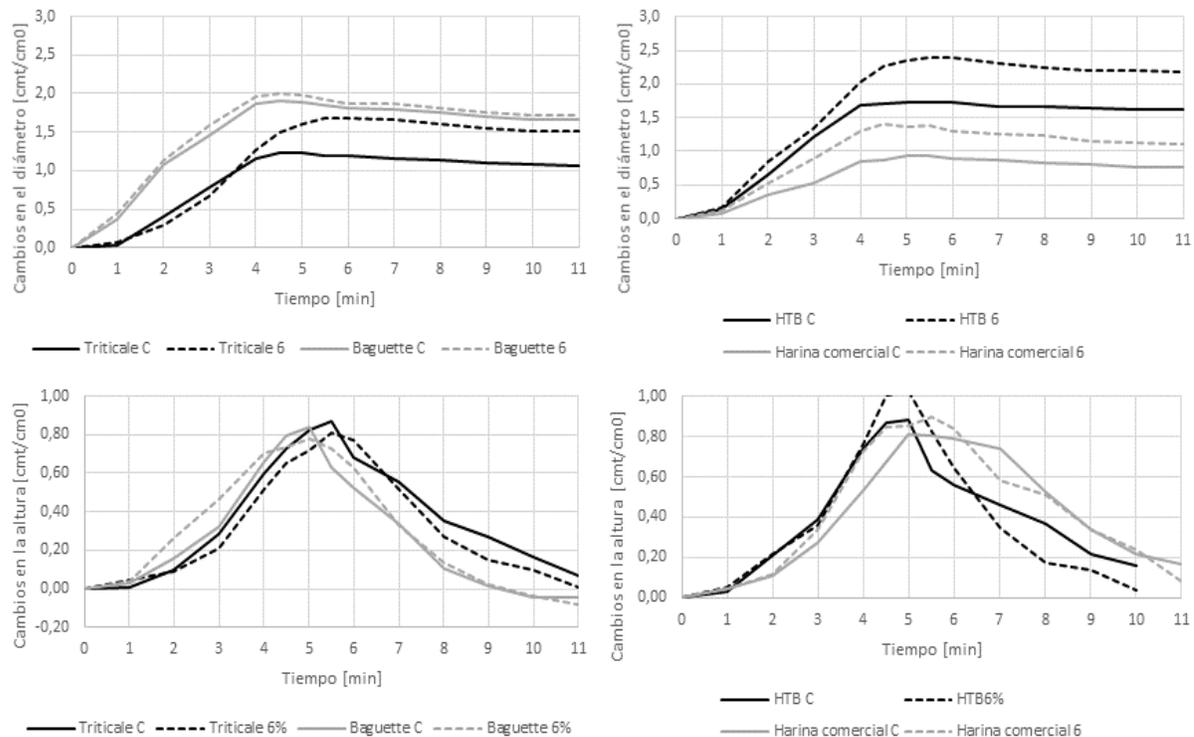


Figura 1. Efecto de la incorporación de fibra sobre la evolución del diámetro y la altura de las galletitas durante el horneado. El diámetro se expresa como cambio en el diámetro (diámetro al tiempo t - diámetro inicial) y la altura como cambio en la altura (altura al tiempo t – altura inicial). HTB: harina de trigo blando. C: control. 6 indica el nivel de incorporación de inulina.

Con los resultados de este trabajo hasta el momento se han realizado las siguientes publicaciones:

#### **Participación en Congresos, Conferencias y Seminarios internacionales**

- Efectos de la reducción de grasa y azúcar en la formulación para la obtención de galletitas dulces. Parámetros de calidad. BLANCO CANALIS M.S., León A.E., Ribotta P.D. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, 2012. Presentación de poster.
- Efectos de la reducción de grasa y azúcar en la formulación para la obtención de galletitas dulces. Propiedades reológicas. BLANCO CANALIS M.S., León A.E., Ribotta P.D. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, 2012. Presentación de poster.
- Efectos de la incorporación de fibras sobre las propiedades reológicas de las masas y la calidad de las galletitas dulces. Gastaldo M., BLANCO CANALIS M.S., León A.E., Ribotta P.D. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, 2012. Presentación de poster.
- Influence of the incorporation of fibers in biscuit dough. Characterization by time domain NMR. Serial M.R., BLANCO CANALIS M.S., Carpinella, León A.E., Ribotta P.D., Acosta R. Workshop Frontiers in Magnetic Resonance, from Materials to Biological Systems. Rosario 2013. Presentación de poster.
- Influence of the incorporation of fibers in biscuit dough. Characterization by time domain NMR and rheology. Serial R., BLANCO CANALIS M.S., Carpinella M., León A.E., Ribotta P.D., Acosta R. 18th International Society of Magnetic Resonance Meeting. Rio de Janeiro, Brasil. 2013. Presentación de poster.
- Estudio de la incorporación de fibra alimentaria sobre el comportamiento térmico de las masas de galletitas. BLANCO CANALIS M.S., Valentinuzzi M.C., Acosta R., León A.E., Ribotta P.D. V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba 2014. Presentación de oral.
- Estudio de la movilidad de protones relacionados a los componentes de masa de galletitas durante el proceso de cocción mediante RMN. Valentinuzzi M.C., Serial R., BLANCO CANALIS M.S., Ribotta P.D., León A.E., Acosta R. V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba 2014. Presentación de poster.
- Evaluación sensorial de galletitas enriquecidas con fibra alimentaria. BLANCO CANALIS M.S., Quiroga, M.F., León A.E., Ribotta P.D. VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba 2016. Presentación de poster.

#### **Participación en Congresos, Conferencias y Seminarios nacionales**

- Reducción de grasa y azúcar en galletitas dulces. Efecto sobre la calidad tecnológica. BLANCO CANALIS M.S., León A.E., Ribotta P.D. V Jornadas Integradas de Investigación y Extensión de la FCA-UNC. Córdoba, 2012. Presentación de poster.

- Reducción de grasa y azúcar en galletitas dulces. Efecto sobre las propiedades reológicas. BLANCO CANALIS M.S., León A.E., Ribotta P.D. V Jornadas Integradas de Investigación y Extensión de la FCA-UNC. Córdoba, 2012. Presentación de poster.
- Efecto de la incorporación de inulina y de fibra de avena sobre la movilidad del agua en la masa de galletitas dulces y su relación con las propiedades reológicas y con la calidad del producto final. BLANCO CANALIS M.S., Serial M.R., Carpinella M., Acosta R.H., León A.E., Ribotta P.D. XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Rosario 2013. Presentación de poster.

#### **Trabajos publicados en extenso en libros de congresos.**

- Efectos de la reducción de grasa y azúcar en la formulación para la obtención de galletitas dulces. Parámetros de calidad. BLANCO CANALIS M.S., León A.E., Ribotta P.D. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, 2012.
- Efectos de la incorporación de fibras sobre las propiedades reológicas de las masas y la calidad de las galletitas dulces. Gastaldo M., BLANCO CANALIS M.S., León A.E., Ribotta P.D. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, 2012.
- Efecto de la incorporación de inulina y de fibra de avena sobre la movilidad del agua en la masa de galletitas dulces y su relación con las propiedades reológicas y con la calidad del producto final. BLANCO CANALIS M.S., Serial R., Carpinella M., Acosta R., León A.E., Ribotta P.D. XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Rosario 2013.
- Estudio de la incorporación de fibra alimentaria sobre el comportamiento térmico de las masas de galletitas. BLANCO CANALIS M.S., Valentinuzzi M.C., Acosta R., León A.E., Ribotta P.D. V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba 2014. Presentación de oral.

#### **Publicaciones de artículos en revistas internacionales con referato.**

- Serial R., BLANCO CANALIS M.S., Carpinella M., Valentinuzzi C., León A.E., Ribotta P.D., Acosta R. 2016. Influence of the incorporation of fibers in biscuit dough characterized by time domain NMR. Food Chemistry. 192:950-957
- BLANCO CANALIS M.S., Steffolani M.E., León A.E., Ribotta P.D. 2017. Effect of different fibers on dough properties and biscuit quality. Journal of the Science Food and Agriculture. 97:1607-1615.
- BLANCO CANALIS M.S., León A.E., Ribotta P.D. 2017. Effect of inulin on dough and biscuit quality from different flours. Journal of Food Studies. 6:13-23.