

---

**ALIMENTOS SALUDABLES:  
DESARROLLO, CARACTERIZACIÓN Y CONSERVACIÓN  
DE RELLENOS PARA GALLETITAS  
CON UTILIZACIÓN DE FIBRAS DIETARIAS**

Tesis de doctorado

*LAURA LORENA BATTAIOTTO*

Presentada ante la Facultad de Ingeniería de la  
Universidad Nacional de La Plata  
como requisito para la obtención del grado académico de

DOCTORA EN INGENIERÍA

Director: *Dra. Dello Staffolo, Marina*

Codirector: *Dra. Conforti, Paula Andrea*

Jurado de Tesis: *Dra. Vairo-Cavalli, Sandra*

*Dra. de Escalada Pla, Marina*

*Dra. Buera, María del Pilar*

Fecha de la defensa oral y pública:

25 de Octubre de 2024

## ***Agradecimientos***

*A mis directoras Dra. Marina Dello Staffolo y Dra. Paula Conforti, por haber confiado en mí, por guiarme y acompañarme durante el desarrollo y la culminación de esta Tesis.*

*A la Dra. Alicia Bevilacqua y Dra. Cecilia Lupano, por haberme brindado la posibilidad de realizar un posgrado y dirigirme durante esta experiencia, poniendo a mi disposición todos los recursos necesarios para llevarla a cabo de manera exitosa.*

*A la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por otorgarme becas y subsidios que hicieron posible la realización de esta Tesis.*

*A las autoridades y a todos los integrantes del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CIDCA), por brindarme un lugar de trabajo de alto nivel donde pude aprender y desarrollarme profesionalmente.*

*Al Prof. Tai Hua Mu y su equipo del Instituto de Ciencia y Tecnología de Productos Agroalimentarios de la Academia China de Ciencias Agrícolas (Institute of Agro-Products Science & Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences), por recibirme en Beijing y acompañarme durante mi estadía.*

*A la Dra. Mariela Patrignani, por su colaboración para la determinación de la capacidad antioxidante de las muestras.*

*A Nati Ranalli, Vicky Santos, Juli Orjuela, Analía Gómez, Mica Ureta y a todos mis compañeros de box y de laboratorio, por brindarme su amistad durante mi paso por el Instituto, por la ayuda y la contención, por los mates, las charlas y los buenos momentos compartidos.*

*A la Facultad de Ingeniería de la UNLP, por formarme académicamente y como docente, permitiéndome así descubrir mi vocación.*

*A Ana Rivera, Tulio Semento y a todos mis amigos y amigas, por quererme, alentarme y apoyarme.*

***Y por sobre todo, a mi familia,  
a quienes dedico esta Tesis.  
Decirles que tenían razón:  
“piano, piano, si va lontano”.***

Producción científica obtenida durante el desarrollo de esta Tesis:

Trabajos publicados en revistas internacionales con referato:

- ✚ **Patrignani, M., Battaiotto, L.L., Conforti, P. (2022).** Development of a good quality honey biscuit filling: Optimization, sensory properties and shelf life analysis, *International Journal of Gastronomy and Food Science*, Ed. ELSEVIER, 28, 100508, ISSN 1878-450X. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100508>.
- ✚ **Battaiotto, L.L., Dello Staffolo, M. (2020).** Drying kinetics, microstructure, and texture of cheese cracker fillings, *Food and Bioproducts Processing*, Ed. ELSEVIER, 123, 199-208, ISSN 0960-3085. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.06.014>.
- ✚ **Battaiotto L.L., Lupano C.E., Bevilacqua A.E. (2013).** Optimization of basic ingredient combination for sandwich cookie filling using Response Surface Methodology, *Food and Bioprocess Technology*, 6(7), 1847-1855. <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11947-012-0853-2>.

Trabajos completos, presentaciones orales y resúmenes publicados en actas de congresos:

- ✚ **Battaiotto L.L., Patrignani M., Dello Staffolo M., Conforti P.A. (2023).** Estabilidad durante el almacenamiento de rellenos de galletitas adicionados con fibra dietética, reducido en grasa y sacarosa, envasados en polipropileno. XVIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos; 04 al 06 de Octubre. Buenos Aires, Argentina.
- ✚ **Battaiotto, L.L., Dello Staffolo M. (2021).** Microestructura de rellenos de queso de leche ovina para galletitas y su variación con respecto a la formulación y al procesamiento. I Encuentro sobre Innovación y Calidad en la Alimentación; 30 de Septiembre y 01 de Octubre, Buenos Aires, Argentina.
- ✚ **Patrignani, M., Battaiotto, L.L., Conforti, P., Lupano, C.E. (2015).** Uso de miel en reemplazo de sacarosa en rellenos de galletitas y su influencia sobre la capacidad antioxidante de producto final. XV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos; 03 al 05 de Noviembre. Buenos Aires, Argentina. ISBN: 978-987-22165-7-3.
- ✚ **Battaiotto, L.L., Patrignani, M., Conforti, P., Lupano, C.E. (2015).** Actividad acuosa y parámetros de textura de rellenos de galletitas: uso de miel en reemplazo de sacarosa. XV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos; 03 al 05 de Noviembre. Buenos Aires, Argentina. ISBN: 978-987-22165-7-3.
- ✚ **Battaiotto, L.L., Dello Staffolo, M., Lupano, C.E. (2014).** Efecto del agregado de hidrocoloides sobre la cinética de secado y la textura de rellenos de galletitas elaborados con queso de oveja. V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos; 17 al 19 de Noviembre. Córdoba, Argentina.

- ✚ **Battaiotto, L.L., Dello Staffolo, M., Lupano, C.E. (2013).** Rellenos de galletitas a base de queso de oveja y gomas alimentarias. VII Congreso Argentino de Ingeniería Química; 20 al 23 de Octubre. Rosario, Santa Fe, Argentina. ISSN: 1850-3500.
- ✚ **Battaiotto, L.L., Lupano, C.E., Bevilacqua, A.E. (2013).** Modelado del proceso de secado y determinación de actividad acuosa de rellenos de galletitas con queso de oveja y distintos hidrocoloides. XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos; 23 al 25 de Octubre. Rosario, Santa Fe, Argentina. ISBN: 978-987-22165-5-9.
- ✚ **Battaiotto, L.L., Dello Staffolo, M., Lupano, C.E., Bevilacqua, A.E. (2013).** Influencia del proceso de secado de rellenos de galletitas con queso de oveja y distintos hidrocoloides sobre los atributos de textura. XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 23 al 25 de Octubre. Rosario, Santa Fe, Argentina. ISBN: 978-987-22165-5-9.
- ✚ **Battaiotto, L.L., Lupano, C.E., Bevilacqua, A.E. (2012).** Textura de rellenos de galletitas: efecto de los ingredientes principales. Actas del Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas; 28 al 30 de Marzo. Mendoza, Argentina. ISBN: 978-987-575-106-4.
- ✚ **Battaiotto, L.L., Dello Staffolo, M., Lupano, C.E., Bevilacqua, A.E. (2012).** Gomas alimentarias: efecto sobre la calidad final de rellenos de galletitas a base de queso de oveja. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba; 14 al 16 de Noviembre. Córdoba, Argentina. ISBN: 978-987-28845-0-5.
- ✚ **Battaiotto, L.L., Lupano, C.E., Bevilacqua, A.E. (2011).** Efecto de los ingredientes principales en la actividad acuosa y en los parámetros de textura de rellenos de galletitas. XIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimento; 19 al 21 de Octubre. Buenos Aires, Argentina. ISBN: 978-987-22165-4-2.

## **RESUMEN**

La Argentina encabeza la nómina de los diez principales países consumidores de galletitas y bizcochos industriales del mundo. La categoría galletitas es la segunda más grande del mercado de productos de consumo masivo en la Argentina. Teniendo en cuenta que un número cada vez mayor de consumidores optan por alternativas de alimentos más saludables, y que las principales empresas mundiales en el mercado de las galletitas confían en la innovación en sabor, formato y empaque para mantener su posición competitiva a nivel regional, en este Trabajo de Tesis se propuso como objetivo aportar conocimiento integral en el campo de los rellenos de galletitas para su aplicación tecnológica e incrementar su valor nutricional. Para ello, se desarrollaron rellenos para galletitas dulces y saladas más saludables, adicionados con fibras dietarias e incorporando ingredientes naturales de producción nacional como la miel y el queso de leche de oveja a su formulación. Se optimizaron las formulaciones de los diversos rellenos con el objetivo de obtener un producto con características funcionales, fisicoquímicas y sensoriales similares a los comerciales, mejorando la calidad nutricional de los mismos.

# ÍNDICE

## **CAPITULO 1: Introducción general**

- 1.1. [El mercado de las galletitas en Argentina y el mundo](#), 1
- 1.2. [Características de las galletitas rellenas](#), 3
  - 1.2.1. [Proceso de elaboración industrial de los rellenos](#), 5
    - 1.2.1.1. [Etapa de mezclado](#), 7
    - 1.2.1.2. [Etapa de confección de las galletitas rellenas](#), 8
    - 1.2.1.3. [Etapa de enfriado de las galletitas rellenas](#), 9
    - 1.2.1.4. [Puntos críticos del proceso de confección de galletitas rellenas](#), 10
- 1.3. [Alimentos funcionales](#), 11
  - 1.3.1. [Efectos de los alimentos funcionales](#), 12
  - 1.3.2. [Mercado de alimentos funcionales y pronóstico 2021-2026](#), 12
- 1.4. [Fibra dietaria](#), 13
  - 1.4.1. [Clasificaciones y composición química de la fibra dietaria](#), 15
  - 1.4.2. [Propiedades fisicoquímicas y aplicaciones tecnológicas de la fibra dietaria](#), 18
  - 1.4.3. [Influencia de la fibra dietaria en la prevención de enfermedades y promoción de la salud](#), 19
- 1.5. [Potenciales alimentos para funcionalizar](#), 20
  - 1.5.1. [Uso del queso como ingrediente](#), 20
- 1.6. [Evaluación de la calidad de los productos desarrollados](#), 23
  - 1.6.1. [Contenido de humedad, actividad acuosa y vida útil](#), 23
  - 1.6.2. [Microestructura y métodos fundamentales, empíricos y/o imitativos de análisis de textura](#), 26
  - 1.6.3. [Evaluación sensorial y conservación](#), 30

## **CAPITULO 2: Objetivos**

- 2.1. [Objetivo general](#), 32
- 2.2. [Objetivos específicos](#), 33

## **CAPÍTULO 3: Efecto de la combinación de ingredientes naturales básicos sobre las propiedades fisicoquímicas de rellenos de galletitas**

- 3.1. [Introducción](#), 35
- 3.2. [Materias primas utilizadas](#), 35
  - 3.2.1. [Manteca de cacao](#), 35
  - 3.2.2. [Almidón de maíz](#), 39

- 3.2.3. [Azúcar impalpable](#), 40
- 3.2.4. [Gelatina](#), 41
- 3.3. [Objetivos específicos del Capítulo](#), 41
- 3.4. [Materiales y Métodos](#), 42
  - 3.4.1. [Materiales](#), 42
  - 3.4.2. [Elaboración de los rellenos](#), 43
  - 3.4.3. [Análisis del perfil de textura](#), 44
  - 3.4.4. [Ensayo de compresión-relajación](#), 46
  - 3.4.5. [Determinación de actividad acuosa](#), 47
  - 3.4.6. [Optimización de la formulación de rellenos de galletitas dulces utilizando Metodología de Superficie de Respuesta](#), 47
    - 3.4.6.1. [Diseño de experimento empleado](#), 47
    - 3.4.6.2. [Estimación de las superficies de respuesta](#), 49
    - 3.4.6.3. [Metodología de optimización](#), 51
  - 3.4.7. [Análisis estadístico](#), 53
- 3.5. [Resultados y Discusión](#), 54
  - 3.5.1. [Parámetros de textura de los rellenos comerciales](#), 54
  - 3.5.2. [Parámetros de textura de las formulaciones desarrolladas](#), 55
  - 3.5.3. [Actividad acuosa](#), 59
  - 3.5.4. [Optimización de la formulación](#), 61
  - 3.5.5. [Validación del modelo](#), 62
- 3.6. [Conclusiones del Capítulo](#), 63

## **CAPÍTULO 4: Desarrollo de rellenos de galletitas dulces con incorporación de fibras dietarias y contenido reducido de grasa y sacarosa**

- 4.1. [Introducción](#), 65
  - 4.1.1. [Propiedades y características de la fibra de avena](#), 65
  - 4.1.2. [Propiedades y características de la goma xantano](#), 67
  - 4.1.3. [Propiedades y características de la miel](#), 69
- 4.2. [Objetivos específicos del Capítulo](#), 71
- 4.3. [Materiales y Métodos](#), 72
  - 4.3.1. [Diseño experimental](#), 72
    - 4.3.1.1. [Diseño de mezclas](#), 72
    - 4.3.1.2. [Región de operatividad y restricciones aplicadas](#), 74
  - 4.3.2. [Elaboración de los rellenos](#), 76

- 4.3.3. [Caracterización y determinación de los parámetros de calidad de los rellenos elaborados](#), 76
  - 4.3.3.1. [Análisis de perfil de textura](#), 77
  - 4.3.3.2. [Ensayo de compresión-relajación](#), 77
  - 4.3.3.3. [Evaluación de la capacidad antioxidante de las formulaciones](#), 77
    - 4.3.3.3.1. [Actividad antioxidante por DPPH](#), 77
    - 4.3.3.3.2. [Actividad antioxidante por FRAP](#), 79
  - 4.3.3.4. [Determinación de la actividad acuosa de los rellenos elaborados](#), 79
- 4.3.4. [Obtención de las superficies de respuesta en experimentos con mezclas](#), 79
- 4.3.5. [Metodología para la optimización y la validación del modelo](#), 80
- 4.3.6. [Metodología y herramientas estadísticas empleadas](#), 81
- 4.4. [Resultados y Discusión](#), 81
  - 4.4.1. [Efecto del agregado de miel sobre las propiedades fisicoquímicas de los rellenos](#), 81
    - 4.4.1.1. [Atributos de textura](#), 82
    - 4.4.1.2. [Evaluación de la capacidad antioxidante de las formulaciones](#), 87
    - 4.4.1.3. [Actividad acuosa](#), 89
  - 4.4.2. [Optimización de la formulación de un relleno con fibras dietarias y reducido en grasa y sacarosa. Validación del modelo](#), 89
  - 4.4.3. [Conclusiones del Capítulo](#), 91

## **CAPÍTULO 5: Atributos de calidad, evaluación sensorial y estudio del almacenamiento de relleno de galletitas adicionado con fibras dietarias y reducido en grasa y sacarosa**

- 5.1. [Introducción](#), 93
- 5.2. [Objetivos específicos del Capítulo](#), 96
- 5.3. [Materiales y Métodos](#), 97
  - 5.3.1. [Ensayo de aceptabilidad por atributos de las formulaciones optimizadas](#), 98
  - 5.3.2. [Parámetros evaluados durante el almacenamiento](#), 101
    - 5.3.2.1. [Actividad acuosa de los rellenos almacenados](#), 101
    - 5.3.2.2. [Humedad de los rellenos almacenados](#), 101
    - 5.3.2.3. [Textura de los rellenos almacenados](#), 102
    - 5.3.2.4. [Evaluación de la capacidad antioxidante de los rellenos almacenados](#), 102
    - 5.3.2.5. [Determinación de la oxidación lipídica de los rellenos almacenados](#), 102
      - 5.3.2.5.1. [Extracción de los lípidos](#), 102
      - 5.3.2.5.2. [Determinación del índice de peróxidos](#), 103
    - 5.3.2.6. [Ensayos microbiológicos](#), 104

- 5.3.2.6.1. [Recuento microbiano](#), 104
- 5.3.2.6.2. [Calidad sanitaria](#), 105
- 5.3.3. [Metodología y herramientas estadísticas empleadas](#), 106
- 5.4. [Resultados y Discusión](#), 106
  - 5.4.1. [Evaluación de la aceptabilidad por parte de los consumidores](#), 106
  - 5.4.2. [Actividad acuosa y contenido de humedad de los rellenos almacenados](#), 109
  - 5.4.3. [Atributos de textura de los rellenos durante el almacenamiento](#), 111
  - 5.4.4. [Actividad antioxidante de los rellenos durante el almacenamiento](#), 112
  - 5.4.5. [Estabilidad oxidativa de los rellenos almacenados](#), 113
  - 5.4.6. [Calidad microbiológica y sanitaria de los productos](#), 114
- 5.5. [Conclusiones del Capítulo](#), 115

## **CAPÍTULO 6: Cinética de secado, microestructura y textura de rellenos de galletitas adicionados con fibras dietarias y elaborados a partir de queso fresco de leche ovina**

- 6.1. [Introducción](#), 117
  - 6.1.1. [Queso de leche de oveja](#), 118
  - 6.1.2. [Propiedades y características de los hidrocoloides empleados en la elaboración de los rellenos](#), 119
    - 6.1.2.1. [Goma xántica](#), 120
    - 6.1.2.2. [Alginato de sodio](#), 120
    - 6.1.2.3. [Goma garroñín](#), 121
    - 6.1.2.4. [Carragenanos](#), 122
  - 6.1.3. [Gelatinización del almidón](#), 124
  - 6.1.4. [Proceso de secado de los rellenos](#), 125
  - 6.1.5. [Microestructura de los rellenos](#), 127
- 6.2. [Objetivos específicos del Capítulo](#), 128
- 6.3. [Materiales y Métodos](#), 128
  - 6.3.1. [Elaboración del queso de oveja fresco sin sal](#), 128
  - 6.3.2. [Elaboración de los rellenos sabor queso](#), 129
    - 6.3.2.1. [Determinación de la temperatura y el tiempo de cocción](#), 130
  - 6.3.3. [Caracterización de los parámetros de calidad de los rellenos sabor queso](#), 131
    - 6.3.3.1. [Determinación de la actividad acuosa](#), 131
    - 6.3.3.2. [Medición de los valores de pH](#), 131
    - 6.3.3.3. [Determinación de la humedad](#), 132
    - 6.3.3.4. [Análisis de perfil de textura](#), 132

- 6.3.4. [Secado de las muestras de relleno sabor queso](#), 132
  - 6.3.4.1. [Modelado matemático de las curvas de secado](#), 133
- 6.3.5. [Microscopía Láser de Barrido Confocal](#), 135
- 6.3.6. [Metodología y herramientas estadísticas empleadas](#), 136
- 6.4. [Resultados y Discusión](#), 136
  - 6.4.1. [Condiciones de cocción de los rellenos](#), 136
  - 6.4.2. [Parámetros cinéticos del proceso de secado por aire caliente](#), 138
  - 6.4.3. [Análisis de la microestructura de los rellenos sabor queso para diversas etapas de procesamiento](#), 142
  - 6.4.4. [Análisis de la textura de los rellenos sabor queso para diversas etapas de procesamiento](#), 146
- 6.5. [Conclusiones del Capítulo](#), 152

## **CAPÍTULO 7: [Conclusiones generales](#)**

- 7.1. [Conclusiones generales](#), 154

## **[Bibliografía](#)**, 156

### **ANEXOS:**

[Anexo I](#), 178

[Anexo II](#), 179

[Anexo III](#), 181

[Anexo IV](#), 184

## *Abreviaturas*

Actividad acuosa	$a_w$
Análisis de perfil de textura	<i>TPA</i>
Chi-cuadrado reducido	$\chi^2$
Coefficiente de determinación de ajuste	$R^2$
Coefficiente de interacción del modelo	$\beta_{12}$
Coefficiente del término independiente del modelo	$\beta_o$
Coefficientes de los términos cuadráticos del modelo	$\beta_{11}, \beta_{22}$
Coefficientes de los términos lineales del modelo	$\beta_1, \beta_2$
Coefficientes de regresión del modelo	$\beta_p, \beta_{ij}, \beta_{ijk}$
Colorante fast green	<i>FCF</i>
Colorante rojo nilo	<i>RN</i>
Concentración mínima del <i>i</i> -ésimo componente	$L_i$
Constantes del Modelo de Henderson y Pabis	$A, k$
Contenido de humedad a tiempo <i>t</i>	$W_t$
Contenido de humedad inicial	$W_o$
Coordenadas de diseño	$x_i^*$
Distancia del centro a un punto axial del espacio de diseño	$A$
Eficiencia de modelado aumentada	<i>EF</i>
Error cuadrático medio	<i>RMSE</i>
Esfuerzo normal	$F_\sigma$
Fuerza de compresión a tiempo <i>t</i> = 20 minutos	$F_{20}$
Fuerza máxima de compresión	$F_o$
Fugacidad del agua	$F$
Fugacidad del disolvente puro	$f^o$
Función conveniencia global	$D$
Función objetivo o conveniencia <i>n</i> -ésima	$d_n$
Humedad relativa	<i>HR</i>
Humedad relativa adimensional	<i>WR</i>
Humedad relativa de equilibrio	$W_{eq}$
Humedad relativa experimental <i>i</i> -ésima	$WR_{exp,i}$
Humedad relativa media experimental <i>i</i> -ésima	$\overline{WR}_{exp,i}$
Humedad relativa predicha <i>i</i> -ésima	$WR_{pre,i}$
Índice de peróxidos	<i>IP</i>

Masa de lípidos	$M$
Masa a tiempo $t$	$m_t$
Masa de Fe(+3) acorde a la curva de calibración	$m_c$
Masa inicial	$m_0$
Materia seca	$m.s.$
Metodología de Superficies de Respuesta	$MRS$
Nivel de almidón de maíz en la mezcla seca	$x_1$
Nivel de factor $i$ -ésimo	$x_i$
Nivel de manteca de cacao en la mezcla líquida	$x_2$
Número de componentes de la mezcla	$k$
Número de constantes del modelo	$n$
Número de factores	$k$
Número de puntos experimentales	$N$
Número de réplicas del punto central	$cp$
Peso de la placa de Petri con muestra	$m_1$
Peso de la placa de Petri sin muestra	$m_o$
Peso del residuo seco	$m_2$
Presión de vapor	$p$
Presión de vapor del agua pura	$p^o$
Tensión tangencial	$F_\tau$
Tiempo de secado	$t$
Respuesta de la $n$ -ésima variable	$y_n$
Respuesta deseada de la $n$ -ésima variable	$y_{obj,n}$
Respuesta máxima de la $n$ -ésima variable	$y_{máx,n}$
Respuesta mínima de la $n$ -ésima variable	$y_{mín,n}$
Variación en la respuesta atribuida al modelo	$R^2\%$
Variación en la respuesta atribuida al error aleatorio	$R^2_{aj}$
Velocidad de secado media	$DR$

## CAPITULO 1

### Introducción general

#### 1.1. El mercado de las galletitas en Argentina y el mundo

La industria de galletitas es tradicional en Argentina. Sus orígenes datan de fines del siglo XIX, cuando empresas familiares dedicadas a la actividad panadera se inician en la industria de elaboración de galletitas. La industria argentina de galletitas se encuentra en tercer lugar como demandante interno de harina de trigo (4 %), luego de la panificación (72 %), y pastas secas (8 %) ([Acuña y Petrantonio, 2013](#)). Con la introducción en el país de las tecnologías de envasado modernas, la venta de galletitas y bizcochos industriales por peso (tanto al mostrador como en latas o cajas que las contenían) quedó en desuso. Entre los beneficios del envasado fraccionado en el establecimiento que las elabora se encuentran: la prolongación de la vida útil, la mejor calidad visual del producto, la preservación de su integridad, la mayor posibilidad de brindar al consumidor calidad y seguridad alimentaria, y la información sobre ingredientes y composición nutricional, entre otros ([Lezcano, 2015](#)).

Las galletitas tienen gran relevancia en la alimentación de los argentinos. La Argentina encabeza la nómina de los diez principales países consumidores de galletitas y bizcochos industriales, con un volumen situado en torno a los 10 Kg por habitante por año ([Lezcano, 2015](#)), siendo el más alto de América, duplicando los valores de Estados Unidos y México, superado por Europa, donde países como Bélgica y Holanda el consumo alcanza los 15 Kg per cápita. La categoría galletitas es la segunda más grande del mercado de productos de consumo masivo en la Argentina ([The food tech, 2022](#)). Se estima que el 35 % del consumo nacional corresponde a galletas de agua, 35 % galletitas dulces secas, 15 % galletitas dulces rellenas y obleas y 15 % galletitas con cereal ([Pantanelli, 2012](#)). Dentro de este enorme mercado, la producción de galletitas dulces se mantiene un poco por encima de las saladas ([The food tech, 2022](#)).

A nivel mundial, se proyecta que el mercado de galletas crezca a una tasa compuesta anual de 7,37 % durante el período de pronóstico 2020 - 2027 ([Market Intelligence and advisory, 2022](#)). El creciente número de consumidores que optan por alternativas más saludables, debido a las crecientes preocupaciones sobre la obesidad, la mala alimentación y otros problemas de salud, continúa respaldando el crecimiento del mercado de las galletas a nivel mundial. Además, un aumento en las ofertas de nuevos productos por parte de los proveedores, utilizando nuevos sabores, ingredientes seguros y empaques, ha atraído el interés de los consumidores por las galletas. El mercado está dominado por Europa, seguido de América del Norte. Países como Italia y España lideran el mercado de demanda de galletas en Europa Occidental. El mercado de galletas Asia - Pacífico representa el mercado de más rápido crecimiento, dada la creciente urbanización y el aumento de los ingresos disponibles entre los consumidores. Las principales empresas mundiales en el mercado de las galletas confían en la innovación en sabor, formato y empaque para mantener su posición competitiva a nivel regional. Los líderes del mercado como Mondelez International Inc. han continuado invirtiendo en la creación de marcas e innovaciones de productos para mantener la lealtad a la marca. En cada región, el mercado se caracteriza por la presencia de muchas empresas locales y muy pocas empresas grandes. Algunas de las principales empresas en el mercado de las galletas a nivel mundial incluyen a Mondelez International, The Kellogg Company, Parle Products, Grupo Bimbo, Kraft Foods, entre otros ([Mordor Intelligence, 2022](#)).

En la Argentina, la sociedad Arcor-Danone (que incluye a Bagley, firma histórica en el rubro, y que también incluye a la marca LIA) lidera con un 50 % del mercado, seguida por Kraft (Mondelez International que incluye a Terrabusi, Vizzolini, Mayco-Capri y Canale). Entre ambas, se reparten el 70 % del mercado argentino. Estas empresas poseen una capacidad instalada de producción superior a las 430 mil toneladas. Un dato interesante a considerar es que todas las cadenas de supermercados cuentan con marcas propias, tanto de galletitas dulces como saladas, lo que aumenta la competencia por el espacio en las góndolas ([Lezcano, 2011](#) y [2015](#); [The food tech, 2022](#)). En una encuesta del tipo “top of mind” con respuesta espontánea se determinó que los consumidores recordaron 47 marcas distintas de galletitas dulces, lo cual permite afirmar que el mercado argentino de estos productos es muy grande. El posicionamiento de las galletitas rellenas más consumidas resultó el siguiente; “*Sonrisas*” (primer lugar),

“Oreo” (segundo lugar), “Melba” (tercer lugar), “Panchitas” (cuarto lugar), “Merengadas” (quinto lugar), “Rumba” (séptimo lugar), “Opera” (décimo lugar), “Amor” (decimonoveno lugar) y “Mellizas” (vigésimosegundo lugar) ([The food tech, 2022](#)). En Argentina, las galletas entran dentro de la dieta y están más consideradas como un alimento que como un snack para comer entre horas, como sucede en Europa. Pero además, somos muy consumidores de mate y las galletas dulces y saladas lo acompañan muy bien. Asimismo, la tendencia hacia un estilo de vida saludable no logró desterrar el hábito de los consumidores argentinos por las galletitas, pero sí empujó a las empresas hacia la diversificación de la oferta: sin sal, con cereales, con fibras, sin grasas trans ([Clarín iEco, 2011](#); [The food tech, 2022](#)). Muchos de estos nuevos alimentos procesados pueden caracterizarse como alimentos funcionales. Esta oferta fue bien recibida por los consumidores locales que comprendieron la importancia de incorporar alimentos saludables en su dieta.

## 1.2. Características de las galletitas rellenas

Las galletitas son productos horneados elaborados principalmente a partir de harina, azúcar y lípidos. Existen de diversas formas y tamaños, y una vez horneadas, pueden ser sometidas a un proceso secundario para incrementar su valor agregado, ya sea por el agregado de coberturas o colocación de rellenos de diversos sabores. Las galletitas rellenas también pueden ser muy variadas en su sabor y forma: típicamente, dos tapas de galletitas idénticas contienen una capa de relleno, pero también se encuentran variantes como tapas de diferentes formas o color, o con un agujero en una de las tapas que permite la visualización directa del relleno. A su vez, existen galletitas con múltiples capas de relleno (como las obleas), o galletitas rellenas en las que se deposita la capa de relleno sobre una única tapa de galletita y luego se la baña con alguna cobertura. Así, el proceso de rellenado de las galletitas ofrece una amplia gama de opciones en sabores, colores y formas, a fin de aumentar la aceptabilidad del producto ([Tiefenbacher, 2019](#)). La cantidad de relleno en las galletitas rellenas varía entre el 17 y el 36 % del peso total del producto, con un valor promedio de 26 % ([Manley, 1998](#)).

Los rellenos de galletitas dulces son básicamente una mezcla de grasas y azúcar. Las características de las grasas empleadas y el tamaño de las partículas de azúcar definen la

mayoría de las cualidades organolépticas de los rellenos ([Tiefenbacher, 2017](#)). El contenido de grasa en los rellenos comerciales varía ampliamente entre 22 y 35 % ([Manley, 1998](#)). Las características de textura de los rellenos es un factor crítico para el producto final. Si el relleno resulta muy blando, éste se saldrá hacia los costados cuando la galletita es mordida y resultará imposible asegurar la estabilidad mecánica de la galletita rellena. El uso de grasas semisólidas asegura la dureza de los rellenos a temperatura ambiente. A su vez, cuanto mayor sea el contenido de azúcar empleado en la formulación, mayor será la dureza obtenida; y cuanto mayor sea el tamaño del cristal de sacarosa, mayor será la sensación de “arenosidad” en el paladar para el consumidor. Además, los almidones de maíz, papa y arroz también son empleados como ingredientes de los rellenos ([Manley, 2001](#)), al igual que el uso de pectinas y agentes gelificantes como alginatos, gomas naturales y carboximetilcelulosa sódica ([Manley, 1998](#)) a fin de obtener la textura deseada.

La consistencia del relleno está determinada principalmente por el contenido de sólidos de la grasa. La fracción en estado líquido de la materia grasa proporciona la única fase líquida en la mezcla de ingredientes. Claramente, cuanto mayor sea la temperatura, menor será el contenido de sólidos en la grasa resultando así un relleno más blando. Es necesario contar con un relleno que sea blando al momento de confeccionar las galletitas rellenas y firme al momento de ser consumido. Más aún, el relleno será más aceptable por el consumidor si la grasa empleada se derrite rápida y fácilmente en la boca y presenta una pequeña fracción de sólidos que se funden a temperaturas superiores a la temperatura corporal (37 °C). En presencia de cantidades significativas de sólidos con elevado punto de fusión en la grasa, el consumidor percibirá la formación de una película oleosa en la boca, lo cual puede resultar desagradable ([Manley, 2000](#)). Las grasas comúnmente empleadas para la elaboración de rellenos de galletitas son aquellas que presentan una curva de fusión de pendiente pronunciada. El ácido láurico, la manteca de cacao, el aceite de palma y mezclas parciales de éstos, resultan los más clásicos en la industria alimentaria ([Manley, 1998](#)). Este tipo de grasas funden rápidamente y extraen calor latente de la boca dando lugar a un atractivo efecto refrescante durante la masticación. Generalmente, desde el punto de vista comercial, estas grasas son mucho más caras que los aceites y, tecnológicamente, son bastante más complejas de manipular ([Manley, 2000](#)). En la industria, la consistencia de los rellenos es ajustada principalmente mediante el control de la temperatura de las máquinas en las

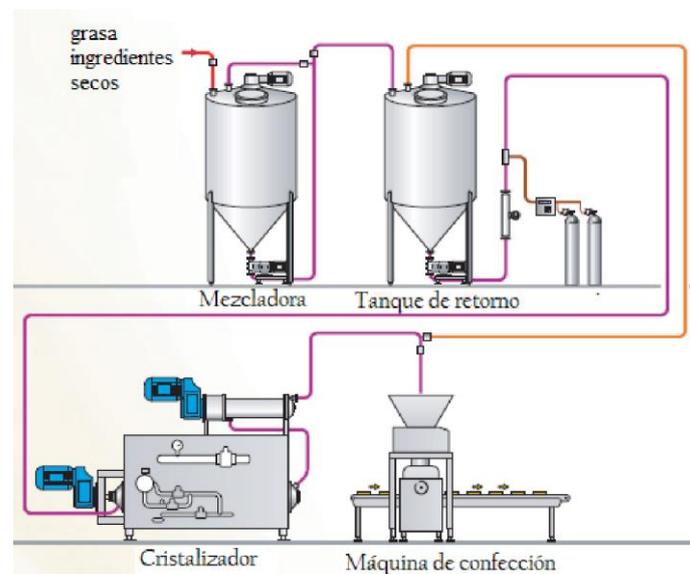
que se elaboran las preparaciones, dependiendo de si se desean obtener rellenos más firmes o blandos. Debe notarse que si el contenido de materia grasa en el relleno resulta muy bajo, surgirán problemas de separación entre el relleno y las tapas debido a que no habrá suficientes cristales de grasa en la interfase relleno/tapa para sellar la galletita una vez que la grasa se haya enfriado. El “flavor” es la sensación creada en la boca cuando un alimento es masticado o disuelto, combinado con el sabor y el olor ([Kemp y col., 2009](#)). El sabor es la combinación de las sensaciones percibidas por la lengua y puede clasificarse en dulce, salado, amargo y ácido. El olor es el sentido mediante el cual las sustancias volátiles pueden ser percibidas en las membranas sensitivas de la nariz. Por ello, cuando un consumidor prueba una galletita rellena es importante que sea una experiencia satisfactoria.

Las especias y hierbas son un recurso básico de flavor para galletitas saladas. Otros ingredientes que aportan flavor en galletitas dulces y saladas son: leche en polvo, queso (cheddar o el parmesano), cacao en polvo (en rellenos sabor chocolate), esencia de vainilla y frutilla, y ácidos cítrico (en rellenos sabor frutilla), tartárico y málico ([Cabatec, 1992](#)). El uso de colorantes permitidos en los rellenos también es muy común con el propósito de crear una correlación con el flavor. Esto es, si el relleno es coloreado adecuadamente al flavor involucrado, se genera un mayor grado de convicción acerca del sabor ([Manley, 2001](#)).

### **1.2.1. Proceso de elaboración industrial de los rellenos**

Las cremas de relleno pueden elaborarse en procesos discontinuos (tipo batch) o en sistemas continuos ([Almond y col., 1991](#)). La preparación de los batch usualmente comienza con el depósito de las cantidades necesarias de grasa sólida para ser fundida. La manipulación a granel de la grasa fundida requiere un control exhaustivo, ya que al momento de adicionar el azúcar y los restantes ingredientes, se producirá una disminución de la temperatura. Mediante la acción de golpeado y mezclado, la pasta resultante se calienta lentamente y se produce la incorporación de aire a la mezcla. Al final del proceso de mezclado, la crema debe tener la consistencia y la densidad deseadas. Las características del relleno dependen también del tipo de máquina con el que cuenta la fábrica y del tipo de grasa empleada. Muchas cremas de rellenos

elaboradas en batch presentan dificultades al ser descargadas de las mezcladoras, no fluyen por las tuberías y deben ser manipuladas manualmente. En la Fig. 1.1 se presenta el diagrama de flujo del proceso de producción continuo de relleno para galletitas. Los sistemas de elaboración continuos bombean grasa previamente fundida al mezclador. Los ingredientes restantes se van adicionando de manera gradual y la crema de relleno resultante es bombeada hacia la máquina. El relleno elaborado de esta manera, tiene una temperatura de procesamiento más elevada que con el proceso en batch.



**Fig.1.1:** Diagrama de flujo de un proceso continuo de producción de relleno para galletita

En los rellenos más suaves se inyecta una corriente de nitrógeno mediante un aireador, lo cual incrementa la adhesividad y previene la oxidación de la materia grasa ([Almond y col., 1991](#)). En el cristalizador, se produce el proceso de cristalización de la grasa a fin de maximizar la adhesión de los rellenos a las tapas durante la confección de las galletitas rellenas. Durante el proceso de mezclado de los ingredientes en las tolvas, se debe evitar introducir aire que causaría problemas en los rellenos al afectar la densidad. Esto se debe a que las burbujas de aire, que resultan muy pequeñas bajo presión, se agrandan y colapsan a medida que el relleno es depositado en la tolva. El bombeo de una mezcla de grasa y azúcar da lugar a problemas de erosión y desgaste sobre el agitador de la tolva, debido a la naturaleza abrasiva del azúcar. Lo que suele hacerse es utilizar un tanque de retorno que presenta puntos de desviaciones hacia las otras

máquinas, a fin de mantener el mezclador funcionando y garantizar cierta velocidad continua de generación de relleno.

### 1.2.1.1. Etapa de mezclado

En esta etapa, la temperatura de mezclado debe ser tal que se garantice que la materia grasa se encuentre en estado líquido. Asimismo, el tiempo y la velocidad de mezclado característicos para la elaboración de los distintos rellenos se establecen a fin de que la mezcla resulte homogénea. En la Tabla 1.1 se presenta la composición de los rellenos de las galletitas rellenas comerciales más consumidas a nivel nacional.

**Tabla 1.1.** Composición (g/100 g) declarada por los fabricantes en el rótulo del envase, de los rellenos de las galletitas rellenas comerciales más consumidas en Argentina

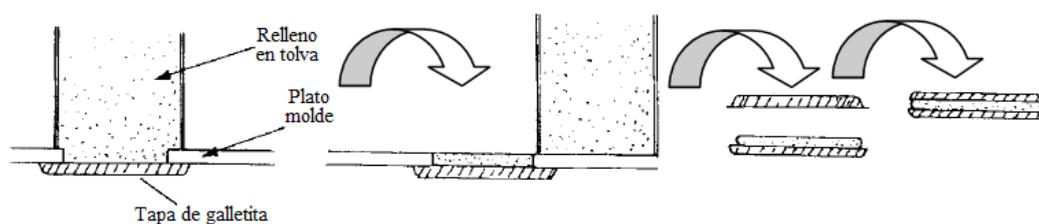
Ingrediente (g/100g)	<i>Oreo</i> <sup>®</sup>	<i>Maná</i> <sup>®</sup>	<i>Panchitas</i> <sup>®</sup>	<i>Melba</i> <sup>®</sup>	<i>Duquesa</i> <sup>®</sup>
<b>Azúcar</b>	53,50	50,70	56,40	65,90	55,40
<b>Grasa</b>	30,00	41,10	37,60	33,90	29,80
<b>Dextrosa</b>	12,20				
<b>Almidón</b>					9,40
<b>Leche en polvo</b>	4,10	7,10			
<b>Manteca de cacao</b>			5,80		4,90
<b>Goma</b>		0,50			
<b>Sal</b>		0,40			
<b>Resaltador de sabor</b>	0,10	0,20	0,10	0,10	
<b>Colorante</b>	0,10		0,10	0,05	0,40
<b>Ácido cítrico</b>				0,05	

Como se mencionó previamente, los ingredientes principalmente usados son: azúcar, almidón, agentes gelificantes y grasas como la manteca de cacao, ácido láurico, aceite de palma, etc. Otros ingredientes tales como agentes humectantes (glicerina, jarabe de fructosa), espesantes (pectinas, lecitina), colorantes y potenciadores del sabor, se encuentran en mucha menor proporción ([Tiefenbacher, 2019](#)). Es común el uso de gomas en las formulaciones de los rellenos a fin de reducir la migración de agua entre los componentes de los alimentos compuestos cuando éstos tienen distintos contenidos de humedad ([Almond y col., 1991](#)). El sabor puede mejorarse con pequeñas cantidades de sal, y el costo de las recetas suele reducirse mediante la adición de pequeñas

cantidades de almidón o galletita molida (llamado también polvo de reciclaje). Todos estos ingredientes se pueden introducir en la mezcladora.

### 1.2.1.2. Etapa de confección de las galletitas rellenas

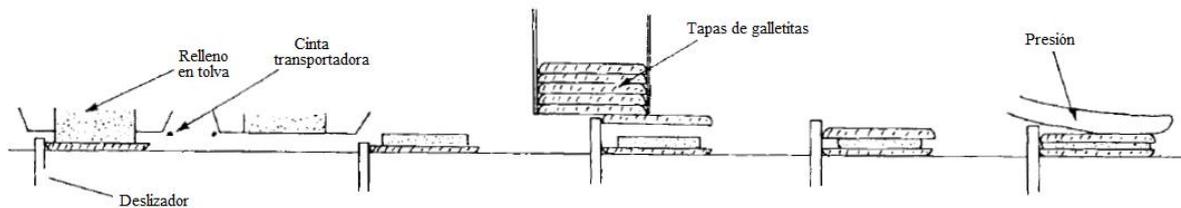
Originalmente, el proceso de confección de las galletitas rellenas se hacía enteramente de manera manual. Actualmente existen dos formas de confección automática: por moldeado o por extrusión. En el primer caso, se moldean los rellenos con moldes de metal depositando la cantidad de relleno requerido sobre una de las tapas mediante un brazo mecánico provisto de un inyector, seguido por la adición de la tapa superior (Manley, 1998). El plato molde posee un espesor adecuado para el relleno, y la forma del molde es apropiada para las tapas de las galletitas. La galletita usada como base se ubica debajo del plato molde, y se rellena el molde con la pasta (Fig. 1.2). Su funcionamiento es intermitente, lo que permite la colocación de la tapa debajo del agujero del molde, el llenado del molde y el traslado de la galletita con el relleno a otro sector donde la tapa superior es colocada, obteniéndose así la galletita rellena. Este proceso requiere un relleno rico en grasa a fin de controlar la fluidez del mismo y, dado que el espesor del molde del plato está fijo, la única forma de variar la cantidad de relleno en la galletita es a través de la densidad del relleno.



**Fig. 1.2:** Secuencia de formación de una galletita rellena por moldeado

El método de confección por extrusión se ilustra en la Fig. 1.3 y consiste en un mecanismo de multitolvas dispuestas sobre cintas transportadoras (Manley, 1998). El extruido es depositado sobre la tapa de la galletita por elevación de la boquilla de la tolva y cortado mediante un cable tirante. Este proceso requiere que el relleno sea lo

suficientemente fluido. La tapa de la galletita es mantenida en su lugar por un sistema de succión en la cinta transportadora. La cantidad de relleno depositado puede ser ajustado variando la presión en el tubo de descarga de la tolva o por constricción de las boquillas. El proceso de colocación de la tapa superior es similar al usado en el método de moldeado. En las máquinas por extrusión, existe la posibilidad de depositar las tapas de galletitas sobre la cinta transportadora a medida que son requeridas, a partir de contenedores cilíndricos que contienen columnas de tapas de galletitas, tanto para las bases como para las tapas de las galletitas rellenas. Así, los contenedores cilíndricos depositan las tapas inferiores de galletitas sobre la cinta y son transportadas hasta colocarlas debajo de las boquillas de las tolvas. El relleno es colocado por extrusión sobre las tapas. Las galletitas con relleno son transportadas hasta el sector donde se encuentran los contenedores cilíndricos y se añade una tapa de galletita en la parte superior. Finalmente, se ejerce una presión con una cuña o rodillo sobre el producto a fin de unir las tapas con el relleno.



**Fig. 1.3:** Secuencia de formación de una galletita rellena por extrusión

La velocidad de producción de una línea de producción con este tipo de máquina adicionada es aproximadamente de 800 galletitas por minuto, considerablemente mayor a la velocidad de producción asociada a procesos por moldeado.

### 1.2.1.3. Etapa de enfriado de las galletitas rellenas

En muchos casos, las galletitas rellenas atraviesan un túnel de enfriamiento con el propósito de enfriar el relleno y sellar la galletita antes del envasado. Esto asegura la estabilidad mecánica del producto final, sobre todo en procesos continuos donde la temperatura de elaboración de los rellenos es mayor y, en consecuencia, los rellenos

resultan más blandos al momento de elaborar las galletitas. Este proceso evita que la presión y manipulación ejercidos sobre las galletitas rellenas durante el envasado afecten el tamaño y la forma del producto.

Únicamente en galletitas cuyos rellenos fueron elaborados con bajas cantidades de grasa, o en productos que contienen poca cantidad de relleno, puede evitarse el paso de enfriamiento sin poner en riesgo la calidad del producto final ([Manley, 1998](#)).

#### **1.2.1.4. Puntos críticos del proceso de confección de galletitas rellenas**

Para garantizar la calidad del producto, el proceso de elaboración de las galletitas rellenas requiere atención sobre ciertos parámetros. Es necesario controlar la temperatura de las tolvas y las boquillas dado que, si la temperatura del relleno es muy baja, se produce retardo en el flujo del relleno, mientras que si la temperatura es elevada, el relleno fluirá con mayor facilidad para una dada presión. Ambas situaciones dan lugar a la variación del peso del relleno depositado en la galletita. La alineación de la galletita rellena debe ser adecuada tanto al momento de la elaboración como después del proceso de enfriamiento, de lo contrario el producto lucirá desalineado y podría no ajustarse al envase. Puede que el relleno salga por los costados, o que no alcance los bordes correctamente. La variación en la densidad del relleno para un espesor especificado, puede traer problemas en el proceso de aplicación de presión a la galletita. Durante esta etapa, si la densidad del relleno resulta muy baja, el relleno podría escurrirse fuera de los bordes de la galletita; mientras que si resulta muy alta, el relleno no se extenderá suficientemente cerca de los bordes de las tapas.

Asimismo, si la temperatura del relleno es muy baja, el relleno depositado no se adhiere lo suficiente a la tapa inferior y se separan las partes luego de cortar el relleno de la boquilla. La adhesión del relleno a las tapas es uno de los parámetros más importantes a controlar durante la elaboración de este alimento. Es importante corroborar que el peso de la galletita es el correcto, Si se deposita una menor cantidad de relleno, puede resultar insuficiente para sellar las tapas. Las partes pueden separarse luego del proceso de enfriado o incluso durante el almacenamiento. Rellenos con bajo contenido de grasa pueden no proveer suficiente grasa fundida para asegurar el sellado entre el relleno y las tapas al momento de confeccionar el producto. La separación durante el

almacenamiento podría ocurrir debido a la higroscopicidad de las galletitas, que al absorber humedad se expanden ([Manley, 1998](#)).

### 1.3. Alimentos funcionales

En la actualidad, el concepto de nutrición ha evolucionado notablemente gracias a la investigación constante y al crecimiento de la información disponible. La prevención de enfermedades crónicas no transmisibles se ha convertido en el foco de interés tanto desde la Salud Pública como desde la investigación y la tecnología. En este marco nacen los alimentos funcionales, diseñados especialmente con componentes conocidos como bioactivos que pueden promover un efecto positivo en la salud más allá de su valor nutritivo tradicional ([Korhonen, 2009](#); [Park y Oh, 2010](#)). Los consumidores conscientes de sus necesidades, buscan en el mercado aquellos productos que contribuyan a su salud y bienestar. Siguiendo esta tendencia, reciben abundante información sobre las propiedades saludables de los alimentos, en especial de aquellos alimentos que ejercen una acción beneficiosa sobre algunos procesos fisiológicos y/o reducen el riesgo de padecer una enfermedad. Estos alimentos que promueven la salud han sido denominados alimentos funcionales y las empresas que los producen presentan una rápida expansión mundial ([Olagnero y col., 2007](#)). En los mercados actuales, la innovación tecnológica representa una estrategia competitiva fundamental para el liderazgo.

Los alimentos funcionales son alimentos que contienen componentes bioactivos: compuestos químicos que pueden agregarse durante el procesamiento de los alimentos y que ejercen funciones bioquímicas/fisiológicas específicas cuando son consumidos, son nutritivos y pueden cumplir con alguna de las siguientes características ([Roberfroid, 2002](#)): contribuir a la mantención de la salud y bienestar, a la disminución del riesgo de enfermar, o ambas cosas ([Olagnero y col., 2007](#); [Korhonen, 2009](#); [Park y Oh, 2010](#)). Deben ser alimentos manufacturados a partir de ingredientes naturales, se deben consumir como parte de la dieta diaria y deben cumplir un papel específico en la fisiología del ser humano. Es importante resaltar que un alimento funcional debe seguir siendo un alimento y ejercer sus acciones benéficas en las cantidades habitualmente consumidas en la dieta ([Olagnero y col., 2007](#)). Como los beneficios para la salud que

ofrecen los alimentos funcionales se determinan por los ingredientes usados en su formulación, se reconocen a nivel mundial que ingredientes tales como fibra dietaria, péptidos y proteínas, glúcidos, bacterias lácticas, minerales y ácidos grasos poliinsaturados, entre otros, favorecen la salud ([Vasconcellos, 2001](#); [Das y Sen, 2014](#), [Takahashi y col., 2019](#)).

### **1.3.1. Efectos de los alimentos funcionales**

Es importante remarcar que los efectos de los alimentos funcionales pueden ser divididos en efectos funcionales y efectos sobre la salud. Los efectos funcionales, como la modulación metabólica, la atenuación del colesterol, el equilibrio de la flora intestinal, la modulación inmunológica, la acción antioxidante, etc., son acciones metabólicas más fáciles de poner en evidencia, y hay diversos trabajos científicos en este sentido. Los efectos sobre la salud, relacionados con prevención y cura de enfermedades o reducción de riesgo de dolencias, requieren un estudio más exhaustivo. Actualmente, el conocimiento científico correlaciona las funciones de varios componentes alimenticios (nutrientes y no nutrientes) con la prevención y el tratamiento de enfermedades específicas ([Watson, 2017](#); [Kabir, 2020](#)). En este contexto, aún existen áreas que pueden ser exploradas tales como la determinación de la naturaleza y el tipo de interacciones entre los nutrientes y los componentes no nutritivos de los alimentos y su biodisponibilidad en el organismo humano; el estudio de las tecnologías relacionadas con el desarrollo de nuevos productos beneficiosos para la salud y su aceptabilidad por parte del consumidor y también la caracterización científica de la interrelación entre los ingredientes funcionales y las enfermedades y su mecanismo de acción ([Siró y col., 2008](#); [Singh y col., 2021](#)).

### **1.3.2. Mercado de alimentos funcionales y pronóstico 2021-2026**

El mercado global de alimentos funcionales se valoró en aproximadamente 177 mil millones de dólares en 2020 y se prevé que el mercado crezca a una tasa de crecimiento anual compuesta del 2,71 % durante el período 2021 - 2026 ([Mordor Intelligence,](#)

[2022](#)). Este mercado se vio afectado positivamente por la pandemia de COVID-19 en 2020, mostrando un gran impacto en las ventas de los alimentos funcionales en varias regiones del mundo. También se ha observado un creciente interés de los consumidores en una dieta saludable, con un aumento considerable en la cantidad de personas que esperan que los alimentos que comen brinden beneficios funcionales, incluida la inmunidad. La demanda de alimentos preparados como barras de bocadillos, galletas, pan, yogur y cereales aumentó, especialmente para la categoría fortificada. Se anticipa que la fortificación de alimentos con ingredientes funcionales como ácidos grasos omega-3, fibra, vitaminas y minerales, seguirá impulsando el crecimiento del mercado ([Mordor Intelligence, 2022](#)). La creciente población y el cambio en los hábitos alimenticios de las personas son los principales impulsores del mercado. Los consumidores son cada vez más conscientes de su salud y han comenzado a prestar más atención a sus estilos de vida y dietas, lo que ha impulsado la demanda de alimentos funcionales a nivel mundial. Una de las principales ventajas de los alimentos funcionales es que los consumidores están dispuestos a pagar más por sus ventajas funcionales.

El mercado mundial de alimentos funcionales está fragmentado y es de naturaleza competitiva. Empresas que se centran en el lanzamiento de nuevos productos con ingredientes más saludables son Danone SA, Nestlé SA, PepsiCo Inc., The Kellogg's Company y Abbott Laboratories. Para lograr una mayor participación en el mercado estudiado, los fabricantes están revitalizando sus carteras de productos dirigidos a consumidores preocupados por la salud.

#### **1.4. Fibra dietaria**

La Comisión del Codex Alimentarius adoptó una nueva definición de la fibra en julio de 2009, destinada a armonizar el uso de la palabra en todo el mundo. Se describe a la fibra como elementos no hidrolizables por las enzimas endógenas en el intestino delgado (indigestibilidad), y que tienen efectos fisiológicos beneficiosos para la salud. Las fibras dietarias son polímeros de carbohidratos con diez o más unidades monoméricas y que pertenecen a una de las siguientes tres categorías: polímeros comestibles de hidratos de carbono de origen natural en los alimentos, polímeros de carbohidratos que han sido

obtenidos de materia prima alimentaria por medios físicos, enzimáticos o químicos y carbohidratos poliméricos sintéticos ([Cummings y col., 2009](#); [Phillips y Cui, 2011](#); [FDA, 2018](#)).

El Código Alimentario Argentino (2021) en el Artículo 1339, Capítulo XVII, incluye a los alimentos adicionados con fibra dentro del grupo de alimentos que satisfacen necesidades alimentarias específicas de determinados grupos de personas sanas. Esto es, la fibra dietaria es considerada un ingrediente de los alimentos funcionales. Ésta consiste en una gran variedad de sustancias y ha sido consumida por centurias como parte de los alimentos naturales. Recientes estudios epidemiológicos han mostrado que una dieta rica en fibra, generalmente refleja un estilo de vida saludable ([Kritshesky, 2000](#); [McRae, 2017](#); [Gong y col., 2015](#); [Lamothe y col., 2021](#)). Sin embargo, aumentar el consumo de fibra en la dieta ha sido un gran desafío, sobre todo en algunas poblaciones occidentales, donde el consumo es escaso ([Green, 2000](#)).

En la década del 70, se comenzaron a publicar trabajos donde reportan los efectos fisiológicos beneficiosos asociados al consumo de fibra, por ejemplo los trabajos realizados por [Trowell \(1974\)](#), [Burkitt y col. \(1974\)](#) y [Painter y Burkitt \(1975\)](#). En la actualidad, el consumo de fibra se asocia a la mejora y la prevención de enfermedades de tipo no transmisibles como enfermedades coronarias, diabetes, divertículos, hernia de hiato, hemorroides, varices, constipación crónica, enfermedades respiratorias crónicas y cáncer de colon ([OMS, 2021](#)).

La fibra se agrega a los alimentos con el propósito de influir positivamente en funciones biológicas específicas, mejorar el estado general de salud y/o reducir el riesgo de padecer distintas enfermedades. El consumo de fibra dietaria en los países occidentales se estima actualmente entre 15,6 - 18,9 g por persona por día ([Dietary Guidelines Advisory Committee, 2020](#)). De acuerdo con las recomendaciones actuales, el promedio diario requerido de fibra dietaria es de 25 g por día para las mujeres menores de 50 años, 21 g por día para las mujeres mayores de 50 años; 38 g por día para los hombres menores de 50 años, y 30 g por día para los hombres mayores de 50 años ([Food and Nutrition Board, 2001](#)). La recomendación de la ingesta de fibras durante la niñez se estima en base a la edad y peso corporal. Para niños menores de tres años es de 0,5 g de fibra dietética por día por Kg, mientras que para mayores de tres años, se toma en cuenta la edad más 5 g por día ([Williams, 1995](#)). Es por eso que el desarrollo de

alimentos fortificados o adicionados con fibras ayudaría a los consumidores a satisfacer tales recomendaciones.

#### 1.4.1. Clasificaciones y composición química de la fibra dietaria

La composición química de la fibra dietaria abarca celulosa, hemicelulosas, pectinas, mucílagos, gomas, polisacáridos de algas y lignina (Tabla 1.2).

**Tabla 1.2.** Constituyentes de la fibra dietaria

<b>Fibra Total</b>	<i>Fibra soluble</i>	Polisacáridos no almidón (NSP) Pectina - algunas hemicelulosas Gomas - mucílagos
	<i>Fibra insoluble</i>	Celulosa - hemicelulosas Lignina Almidón resistente

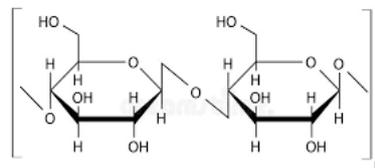
Todos estos compuestos son polímeros de glucosa, excepto la lignina, que es un polímero de fenilpropano. Varios sistemas de clasificación han sido utilizados para agrupar a las sustancias integrantes de la fibra dietaria, dentro de ellos, la clasificación en base a la solubilidad en buffer de pH definido, y la clasificación en base a su fermentabilidad en un sistema *in vitro* que simula el intestino grueso, son las más utilizadas y ampliamente difundidas ([Dello Staffolo y col., 2012](#)).

La fibra se puede clasificar en fibra soluble y fibra insoluble ([Lupano, 2013](#)).

- ✚ *Fibra soluble:* Dentro de este grupo se encuentran las pectinas, las gomas, los mucílagos y algunas hemicelulosas. Esta fibra es metabolizada por las bacterias del colon. Al formar geles retardan el tránsito intestinal afectando la absorción de nutrientes como azúcares y materia grasa en el intestino delgado. Se caracteriza por su capacidad para aumentar la viscosidad, reducir la respuesta glicémica y el colesterol plasmático.
- ✚ *Fibra insoluble:* En este grupo están la celulosa, parte de las hemicelulosas y la lignina. Se caracterizan por su porosidad, baja densidad, capacidad de retener agua en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad y por su

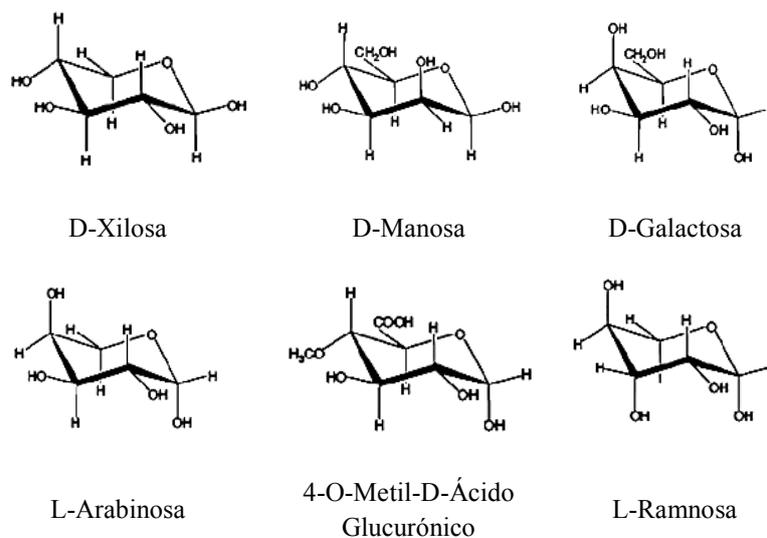
capacidad de aumentar el volumen fecal y disminuir el tiempo total del tránsito intestinal.

La estructura básica de la celulosa (Fig. 1.4) está constituida por dos moléculas de D-glucosa unidas por enlaces  $\beta(1\rightarrow4)$ . Las moléculas se asocian fuertemente en forma paralela, presentando zonas amorfas y zonas cristalinas. Las áreas amorfas son más fácilmente hidrolizables, debido a que tienen más grupos hidroxilos disponibles que las áreas cristalinas. Las características funcionales de la celulosa dependen de la relación entre componentes amorfos y cristalinos ([Lupano, 2013](#)).



**Fig.1.4:** Estructura de la celulosa

Por otro lado, las hemicelulosas (Fig. 1.5) están formadas por cadenas lineales y ramificadas de unidades de pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (glucosa, galactosa, manosa, ramnosa), ácidos urónicos (glucurónico y galacturónico) y algunas formas desoxi de azúcares ([Dello Staffolo y col., 2012](#)).

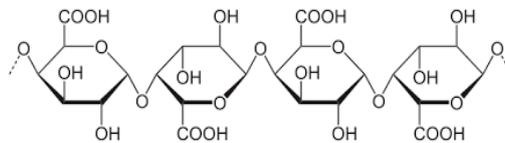


**Fig. 1.5:** Monosacáridos que constituyen las hemicelulosas

Las hemicelulosas (Fig. 1.5) exhiben gran solubilidad debido al alto grado de ramificaciones ([Schneeman, 1986](#)), pudiendo formar parte de la fibra soluble o insoluble ([Gray, 2003](#); [López y Suárez, 2005](#)).

La lignina es un polímero de fenilpropano (no es un carbohidrato), que está covalentemente unido a la celulosa de la pared celular de los vegetales. Tiene una composición heterogénea con una o dos unidades de varios fenilpropanos que están unidos cíclicamente.

Las pectinas (Fig. 1.6) se encuentran en la laminilla media de las células vegetales y desde el punto de vista tecnológico, se utilizan mucho como agentes gelificantes en jaleas y mermeladas. Están formadas principalmente por cadenas de unidades de ácido D-galacturónico unidas por uniones  $\alpha(1\rightarrow4)$ , parcialmente esterificadas con metanol, y ramificaciones de ramnosa, arabinosa, xilosa y fucosa ([Dello Staffolo y col., 2012](#)). Se diferencian entre sí según su contenido de ésteres metílicos, en pectinas de alto o bajo metoxilo ([Lupano, 2013](#)).



**Fig. 1.6:** Estructura básica de las pectinas

Dentro de la clasificación de fibras (Tabla 1.2), se utiliza comúnmente en la industria el término “goma” para referirse a cualquier polisacárido soluble en agua, excluyendo al almidón y las pectinas, que posea la capacidad de aumentar la viscosidad de una solución y/o formar geles. Se utilizan como agentes estabilizantes o emulsificantes ([Lupano, 2013](#)). Las gomas se extraen de vegetales terrestres o marinos, o de microorganismos. Según su composición, algunas son cargadas (goma arábiga, goma tragacanto, carragenanos, alginatos y xantano), mientras que otras no tienen carga (goma guar, goma garrofin, agar y goma espina corona) ([Whistler y Daniel, 1993](#)).

### 1.4.2. Propiedades fisicoquímicas y aplicaciones tecnológicas de la fibra dietaria

La fibra dietaria fue inicialmente promovida por sus propiedades saludables para el cuerpo humano. Sin embargo, también tiene propiedades tecnológicas que pueden ser aprovechadas en la formulación de alimentos ([Elleuch y col., 2011](#)), ya que tiene la capacidad de modificar textura, estabilizar los alimentos con altos contenidos de grasa y emulsiones, y aumentar la vida útil ([Thebaudin y col., 1997](#); [Elleuch y col., 2011](#)). Además, las fibras modifican la viscosidad de soluciones acuosas. Generalmente se observa un aumento en la viscosidad de la solución cuando la fibra presenta un mayor peso molecular o largo de las cadenas. Se sabe que los polímeros de cadenas largas, como las gomas guar y tragacanto, provocan soluciones muy viscosas. En cambio, las fibras compuestas por polímeros de cadenas relativamente cortas y muy ramificadas tienen baja viscosidad en solución (tal es el caso de la goma arábiga, inulina y oligosacáridos).

La capacidad de formar geles también es un atributo importante de algunas fibras. El gel retiene agua y otros compuestos que estén en solución para constituir una estructura tridimensional firme ([Gibson y Williams, 2000](#)). La gelación representa la asociación de polímeros para formar una red. Su formación depende del tipo de sustancia, su concentración, temperatura, presencia de iones (calcio, potasio), pH y la presencia de otros modificadores reológicos en el caso de los sistemas alimenticios. La cantidad de agua que un gel retiene en su estructura sin la aplicación de presión o cizalla se define como su capacidad de retención de agua. La cantidad de agua que un gel retiene en su estructura luego de la aplicación de una fuerza centrífuga se define como su capacidad de unir agua. Esta propiedad tiene una gran importancia práctica, ya que en los procesos de manufactura de alimentos se aplican fuerzas durante los procesos de extrusión, mezclado, homogeneización, bombeo por tuberías, etc. Esta propiedad de unir agua es influenciada por el tipo de compuesto químico, el largo y el tamaño de las fibras y la porosidad del gel formado. También es afectada por las condiciones del medio tales como el pH, la fuerza iónica, la concentración de la fibra e interacción con otras sustancias capaces de unir agua ([Tungland y Meyer, 2002](#)).

### 1.4.3. Influencia de la fibra dietaria en la prevención de enfermedades y promoción de la salud

Debido a que la fibra no se hidroliza, ni se digiere ni se absorbe en el intestino delgado, contribuye a aumentar el volumen fecal, estimular la fermentación en el colon y reducir los niveles de glucosa y colesterol en sangre ([Elleuch y col., 2011](#)). Además, el consumo de fibra disminuye la concentración sérica de lípidos, disminuye la presión arterial, mejora el nivel de glucemia en la diabetes, ayuda en la pérdida de peso y mejora la función inmune ([Anderson y col., 2009](#)). Teniendo en cuenta lo anterior, el consumo de fibra proporciona varios beneficios para la salud como reducir el riesgo de enfermedades coronarias, accidentes cerebrovasculares, hipertensión, diabetes, obesidad, ciertos desórdenes gastrointestinales, diverticulosis y ayuda a prevenir el cáncer de colon ([Lairon y col., 2007](#); [Wang y col., 2007](#); [Leach, 2007](#); [Cummings y col., 2009](#); [Molist y col., 2009](#); [Dahm y col., 2010](#); [Sluijs y col., 2010](#); [Lattimer y Haub, 2010](#); [Phillips y Cui, 2011](#); [Eshak y col., 2010](#); [Brownlee, 2011](#); [Kaczmarczyk y col., 2012](#); [Barber y col., 2020](#)). La fibra que llega al intestino grueso es metabolizada por las bacterias allí presentes con generación de ácidos grasos de cadena corta, como el ácido butírico, del cual hay evidencias sobre los beneficios que produce en la preservación de la capa epitelial del colon, en la modulación de la inflamación y en el mantenimiento de la función de la barrera intestinal ([Hajjar y col., 2021](#)).

Por otro lado, estudios científicos sugieren que una alta ingesta de fibra podría reducir el riesgo de cáncer de mama por la reducción del nivel de estrógeno ([Stoll, 1996](#); [De Stefani y col., 1997](#)). En el mismo sentido, estudios informan sobre la disminución del nivel de colesterol en sangre con dietas ricas en fibra ([Ripsin y col., 1992](#); [Glore y col., 1994](#)). Un estudio realizado por [Ludwing \(1999\)](#) reveló que la ingesta de fibra dietética reduce la secreción de insulina retardando la velocidad de absorción de nutrientes después de cada comida. De esta manera se podría prevenir la hiperinsulinemia y la obesidad asociada con la resistencia a la insulina. Está confirmado que altos niveles de insulina se hallan relacionados con el aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares. Normalmente los alimentos ricos en fibra son de bajo contenido de grasas y calorías, los cuales producen una sensación de saciedad en el estómago, favoreciendo el control del peso corporal. Informes científicos han sugerido modificar las dietas de los niños incrementando las cantidades de fibra, con el objetivo de

acostumbrarlos a ciertos hábitos que podrían reducir el riesgo de enfermedades crónicas en la adultez ([Mälkki, 2004](#)). A fin de aumentar la ingesta diaria de fibras sería importante desarrollar nuevos alimentos atractivos para los consumidores que las contengan. En especial, incorporar fibra en alimentos procesados que normalmente no las contienen y que resultan de consumo masivo.

### **1.5. Potenciales alimentos para funcionalizar**

El diseño y desarrollo de alimentos funcionales no solo debe hacerse teniendo en cuenta las propiedades nutricionales deseadas, sino también las propiedades sensoriales como el color, textura y sabor. El aspecto y las propiedades sensoriales son los atributos más importantes para el consumidor, incluso por encima de los valores nutricionales, que deciden la adquisición del alimento. A su vez, el aspecto y las propiedades organolépticas dependen de la formulación química del alimento y de las características fisicoquímicas que deriven de esta formulación. Por lo tanto, es muy importante la elección del tipo de producto para desarrollar un alimento funcional y la evaluación de su textura, sabor y vida útil para satisfacer a los consumidores y lograr una buena inserción en el mercado.

Las galletitas constituyen un alimento ideal para ser funcionalizado debido a su alto consumo y amplio margen etario de consumidores. Es un alimento que se consume durante todo el día o varias veces al día. En particular, las galletitas rellenas son un vehículo ideal para funcionalizar al alimento y maximizar la llegada a los consumidores de los beneficios para la salud. Los rellenos de las galletitas que se consumen actualmente pueden tener tanto sabor dulce como salado. Un ingrediente ampliamente aceptado y factible para elaborar rellenos salados es el queso.

#### **1.5.1. Uso del queso como ingrediente**

De todos los tipos de alimentos disponibles, el queso es un excelente producto base para desarrollar un alimento funcional ya que es un producto que responde perfectamente a las modernas tendencias del consumo: es un alimento saludable y completo (con

proteínas, un nivel de grasas aceptable, calcio, fósforo, vitaminas A, B y D), conveniente (adecuado para múltiples usos) y atractivo (por su sabor). El queso es un ingrediente lácteo muy versátil que se puede usar directamente en una variedad de platos culinarios, productos alimenticios formulados y comidas preparadas. En estas aplicaciones, contribuye a la estructura, textura, sabor, sensación en la boca, propiedades de cocción y/o nutrición ([Guinee, 2011](#), [Fox, 2016](#)). La funcionalidad de los quesos se puede extender a través del procesamiento secundario. Los efectos interactivos de varios factores, incluidos el procedimiento de elaboración, la composición del queso, el grado de emulsificación de la grasa, la proteólisis y la lipólisis (procesos que suceden durante la maduración), afectan la funcionalidad del queso.

Este producto es muy utilizado en la industria de los alimentos dado que puede ser tratado térmicamente sin perder sus atractivas características organolépticas. La aplicación de calor incide en sus propiedades funcionales como ablandamiento (fusión), estirabilidad, fluidez, viscosidad aparente y tendencia al pardeamiento. Todos estos comportamientos implican el desplazamiento de las capas adyacentes de la matriz de proteína como resultado de tensiones en la estructura de para-caseína, es decir, ejercen su efecto principalmente al afectar las distribuciones microestructurales de grasa y proteína, y el grado de hidratación (o agregación) de la matriz de caseína en los quesos crudos y calentados. El queso se define como un producto fresco o madurado, obtenido del drenaje del suero luego de la coagulación de las caseínas. Las caseínas se pueden coagular mediante la producción de ácidos por microorganismos seleccionados, mediante la utilización de enzimas o por la adición de acidulantes alimenticios ([Walther y col., 2008](#)). Están formados por una estructura primaria de proteínas que contiene atrapada en su interior la materia grasa. La relación agua-proteína regula la firmeza y la elasticidad de los quesos mediante el aumento de retención de humedad de la cuajada y esta relación, a su vez, se ve afectada por el tenor graso. La textura de los quesos con alto contenido de grasa generalmente es más aceptada que la de los quesos con bajo contenido de grasa ([Küçüköner y Haque, 2003](#)).

Existen en el mercado mundial muchos tipos de quesos y se clasifican según el contenido de humedad en: duros (entre 27 y 35 % de agua), semiduros (entre 36 y 44 % de agua) y frescos (entre 45 y 80 % de agua). Además, pueden clasificarse según el origen de la leche empleada. El Código Alimentario Argentino los agrupa teniendo en

cuenta el porcentaje de materia grasa del extracto seco y el contenido de humedad (CAA, Capítulo Capítulo VIII, Alimentos lácteos). Las variedades de queso en el mercado son enormes, lo que se refleja también en la variabilidad en la composición química y, por lo tanto, en las propiedades fisicoquímicas que poseen los diferentes tipos de quesos.

Los quesos de pasta muy blanda, con un contenido de humedad mayor al 55 % (comúnmente llamados frescos), son ampliamente consumidos y aceptados por los consumidores, por lo tanto, resultan una buena elección para introducir aditivos beneficiosos para la salud. Su mayor consumo está asociado a su menor precio y su adaptabilidad a las mayores exigencias dietéticas y nutricionales. La inmensa gama de variedades y aplicaciones posibles, que van desde el consumo directo hasta la utilización como ingrediente de las comidas más sofisticadas, lo transforman en uno de los productos más versátiles y de mayor difusión a escala global (Guinee, 2011, Fox, 2016). Entre los quesos de pasta muy blanda se encuentran aquellos producidos por la coagulación de la leche o suero mediante acidificación lenta o combinación de acidificación y acción enzimática, con o sin tratamiento térmico. Estos productos están listos para consumir una vez que finalizan las operaciones de manufactura (Fig. 1.7) y no tienen una etapa de maduración.

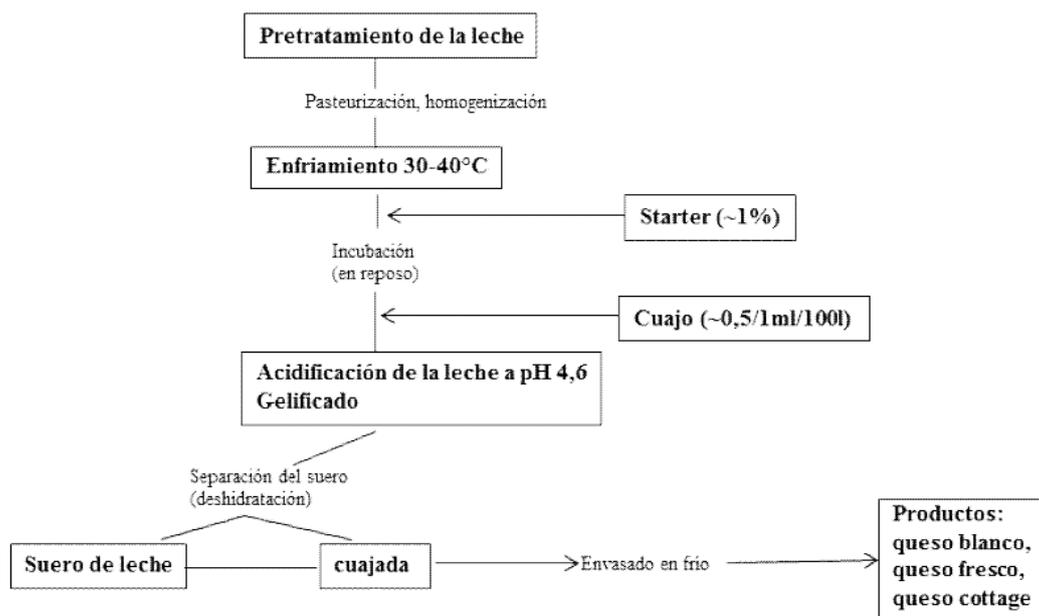


Fig. 1.7. Esquema de producción de queso de pasta muy blanda

Los quesos frescos son aquellos en los que la elaboración consiste únicamente en cuajar y deshidratar la leche, a los cuales no se les aplican técnicas de conservación adicionales, por lo que su vida útil es relativamente corta en comparación con otros tipos de quesos. A su vez, el hecho de procesar la leche en menor medida hace que tengan sabores suaves y texturas poco consistentes. Estos quesos son muy utilizados como ingrediente en la preparación de otros alimentos, como ser quesos saborizados, salsas, aderezos, rellenos para galletitas saladas, panificados, pastas, etc. A su vez, también se los puede usar en la preparación de ingredientes alimentarios variados, como por ejemplo los quesos deshidratados.

## **1.6. Evaluación de la calidad de los productos desarrollados**

Como ya se mencionó, la elección del tipo de producto para desarrollar un alimento funcional implica que debe tener también una buena aceptación por parte del consumidor, por lo que es aconsejable que posea propiedades fisicoquímicas y sensoriales similares a las de los productos del mismo tipo ya existentes en el mercado ([Spence, 2006](#)). Por lo tanto, una vez desarrollado el alimento, es necesario evaluar las características fisicoquímicas como: contenido de humedad, actividad acuosa, microestructura, textura, etc. Asimismo, es importante la evaluación de los atributos sensoriales (como sabor, color, apariencia, aceptabilidad general, etc.) con consumidores habituales del producto desarrollado. Por último, es necesario establecer la vida útil del producto a partir del estudio de la conservación, empleando diversos métodos de almacenamiento, teniendo en cuenta que una de las características centrales de estos productos es el hecho que se comercializan envasados, a diferencia de los productos similares elaborados por las panaderías tradicionales, que son adquiridos por peso ([Lezcano, 2015](#)).

### **1.6.1. Contenido de humedad, actividad acuosa y vida útil**

El concepto de actividad acuosa ( $a_w$ ) fue propuesto por [Scott \(1957\)](#) y está estrechamente relacionado con el tiempo de vida útil de los alimentos. Se emplea para

predecir la susceptibilidad de los componentes alimentarios a distintas reacciones de deterioro y al crecimiento de microorganismos. La actividad acuosa se define como la relación entre la fugacidad o tendencia del agua a escaparse del alimento ( $f$ ) y la fugacidad del disolvente puro ( $f^o$ ) a una temperatura  $T$  constante (Ec.1.1).

$$a_w = \left( \frac{f}{f^o} \right)_T \quad \text{Ec.1.1}$$

Considerando que el vapor de agua se comporta de manera ideal a presión atmosférica y temperatura ambiente, la fugacidad se puede aproximar a la presión del gas (Ec.1.2) (Syamaladevi y col., 2016). Esta aproximación sólo sería válida si hay equilibrio termodinámico, lo cual suele no suceder en los sistemas alimenticios.

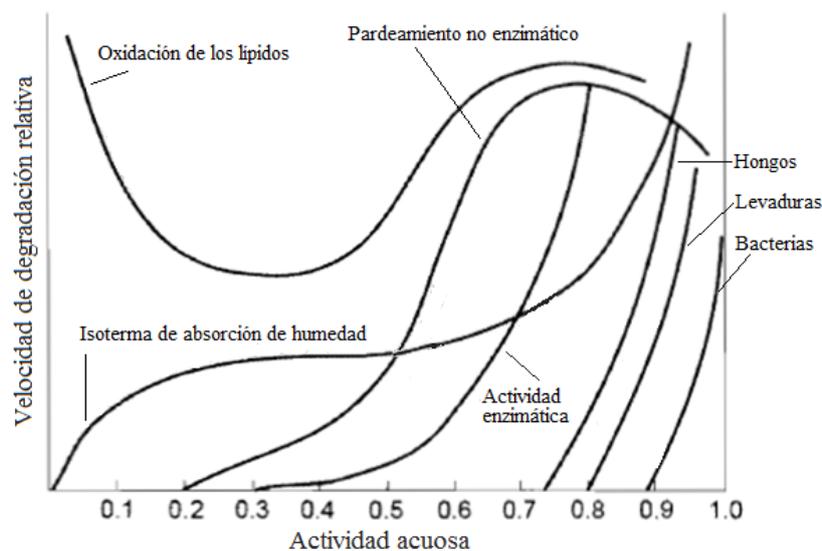
$$a_w = \left( \frac{p}{p^o} \right)_T \quad \text{Ec.1.2}$$

Por la simplicidad de medida, se utiliza comúnmente la Ec.1.2, en donde  $p$  es la presión de vapor en el alimento y  $p^o$  indica la presión de vapor del agua pura a la temperatura  $T$  (Fennema y col., 2017).

La vida útil de un producto se define como el tiempo en el que el alimento es apto para su consumo conservando las características deseables intactas. La pérdida de estas características conlleva al rechazo del producto por parte del consumidor resultando en posibles pérdidas en las ventas (Manley, 2001). En este sentido, en la industria de las galletitas el contenido de humedad de las galletitas sin relleno suele ser de aproximadamente 4 % y si se emplean envases resistentes al vapor de agua, pueden alcanzar una vida útil de hasta seis meses (Manley, 2001). A su vez, es deseable que la humedad de las galletitas rellenas no sea superior al 20 % (Pantanelli, 2012), con el propósito de obtener un tiempo de vida útil aceptable.

Los alimentos compuestos son aquéllos en los que se combinan porciones secas y crujientes con rellenos suaves de diverso origen, composición y textura, como por ejemplo las galletitas rellenas. Las galletitas son productos de larga vida útil, mientras

sean correctamente envasadas y conservadas en sitios adecuados. Si el envase no es lo suficientemente impermeable al vapor de agua, o una vez que el producto se encuentre fuera del paquete, puede absorber humedad ambiente. Los alimentos que poseen baja humedad tienen un tiempo de vida útil más largo que aquéllos que poseen mayor contenido de agua. Sin embargo, dos alimentos con un mismo contenido de humedad pueden tener distinta vida útil. Así, la cantidad de agua que posee un alimento no es un parámetro que pueda utilizarse como medida del tiempo de vida útil del mismo. Es necesario considerar también la intensidad de las interacciones con las que el agua se asocia a los componentes del alimento. Sólo el agua que no está fuertemente asociada a estos componentes podría estar disponible para proporcionar un medio propicio para el desarrollo microbiano ([Lacey y Magan, 1991](#)), para aumentar la actividad enzimática ([Acker, 1963](#)) y para aumentar las reacciones de Maillard y las de oxidación lipídica, tal como se observa en la Fig. 1.8.



**Figura 1.8:** Velocidad de degradación, isoterma de absorción de humedad y tipo de deterioro de los alimentos en función del valor de la actividad acuosa

En las galletitas rellenas, si la actividad acuosa del relleno es muy alta, el agua difundirá desde la fase más húmeda hacia la fase más seca del producto dando lugar a cambios irreversibles en la calidad organoléptica y microbiológica, reduciendo su vida útil ([Labuza y Hyman, 1998](#); [Le Meste y col., 2002](#)). Entre los cambios químicos más importantes se incluye la generación de sabores desagradables, la posible pérdida de la

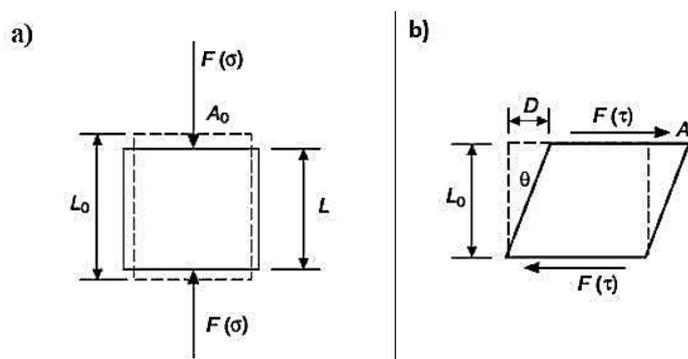
calidad nutricional del producto ([Lupano, 2013](#)) y cambios en los parámetros en la textura. Como se explicó anteriormente, las características de textura de los rellenos es un factor crítico para garantizar la calidad del producto. Dos productos en contacto con diferentes valores de actividad acuosa, intercambiarán humedad hasta igualar sus actividades acuosas. Al alcanzar el equilibrio, sus valores de actividad acuosa serán iguales aunque no así necesariamente su contenido de humedad. De acuerdo a [Manley \(1998\)](#), se requiere que los rellenos posean valores de actividad acuosa cercanos a 0,6 a fin que el proceso de migración de agua no afecte de manera adversa las características texturales de las tapas de galletitas durante el almacenamiento.

### **1.6.2. Microestructura y métodos fundamentales, empíricos y/o imitativos de análisis de textura**

Muchas de las propiedades de los alimentos, tales como la textura y el sabor, son determinados por la disposición espacial de los componentes presentes ([Ong y col., 2011](#)). La disposición de estos componentes en la escala de micras se conoce como la microestructura del producto. La elección de los ingredientes para la elaboración de un producto alimenticio y las condiciones del proceso tecnológico aplicado durante la manufactura, pueden alterar su microestructura considerablemente y, por lo tanto, las propiedades funcionales del producto final ([Lopez, 2005](#), [Battaiotto y Dello Staffollo, 2020](#)). La posibilidad de visualizar y caracterizar estos cambios es una herramienta importante para el control de calidad de los alimentos ([Ong y col., 2011](#)). En el caso de las galletitas rellenas, las operaciones de proceso que más pueden afectar la microestructura de los rellenos son los tratamientos térmicos y la homogeneización.

La textura de los alimentos es una experiencia humana subjetiva que abarca las propiedades de los alimentos que estimulan los sentidos de la vista, el tacto y el oído. La Organización Internacional de Normalización ([ISO, 2009](#)) define la textura de un producto alimenticio como aquellos atributos reológicos y estructurales (geométricos y de superficie) del producto, perceptibles por medio de los sentidos del tacto, visión y audición ([Gunasekaran y Ak, 2003](#)). La capacidad de medir la textura con precisión y rapidez permite a la industria de alimentos establecer estándares de calidad y monitorear el deterioro que se puede producir durante el almacenamiento y la distribución de los

productos. Para su evaluación, se han desarrollado equipos de medición que permiten cuantificar directa o indirectamente las propiedades mecánicas del producto alimenticio. El estudio del comportamiento mecánico, es decir, el estudio de la deformación y el flujo de los alimentos como consecuencia de fuerzas aplicadas sobre ellos, cae dentro del campo de la reología de alimentos. Las variables básicas utilizadas en el estudio de las propiedades mecánicas de los alimentos son: fuerza, esfuerzo o tensión, deformación y tiempo (Fig. 1.9). La fuerza ( $F$ ) es considerada como una fuerza externa que actúa en la superficie o en un punto de la superficie del alimento y se conoce como tensión o esfuerzo. El esfuerzo normal a la superficie ( $F_\sigma$ ) da lugar a deformaciones normales del producto, que resultan ser las principales responsables de la expansión o contracción, es decir, del cambio de tamaño del alimento (Fig. 1.9a). La tensión tangencial ( $F_\tau$ ) se corresponde con las deformaciones de cizallamiento, las cuales provocan distorsiones o cambio del ángulo entre dos planos del alimento (Fig. 1.9b). Estas deformaciones miden el cambio de tamaño o de la forma de un alimento con respecto a su tamaño o forma original.



**Fig. 1.9:** (a) Compresión uniaxial o normal de un alimento con una longitud original ( $L_0$ ) y área ( $A_0$ ) que causa una deformación normal y (b) corte o cizalla de un alimento que actúa sobre planos opuestos que provocan la deformación de corte o cizallamiento

Para la mayoría de los productos alimenticios, la relación fuerza/deformación de respuesta a la fuerza externa aplicada es dependiente del tiempo y/o velocidad de carga, por lo tanto, hay ensayos donde la respuesta medida es constante durante el tiempo del ensayo (en estado estacionario) y hay ensayos donde la respuesta medida varía con el tiempo (en estado transiente). Los alimentos crudos o elaborados son materiales bioquímicos que cambian constantemente con el tiempo debido a reacciones químicas

como la oxidación, a la acción microbiana y a las interacciones físicas con el medio ambiente (como el calor y la humedad). Lurgo, las propiedades mecánicas de los alimentos también cambian con el tiempo y además, pueden ser influenciadas por las condiciones ambientales. Como consecuencia de la diversidad, los atributos necesarios para describir completamente la textura de los productos y los cambios en éstos debido a su deterioro, pueden ser determinados mediante técnicas que pueden ser subjetivas o instrumentales. La evaluación subjetiva o sensorial de la textura, implica la utilización de un grupo de personas para cuantificar los atributos de textura de un producto. En cambio, las mediciones instrumentales son ampliamente utilizadas para aplicaciones comerciales y de investigación, debido a su relativa sencillez de uso, la amplia disponibilidad, la tendencia a proporcionar valores consistentes cuando se usan por personas diferentes y ser menos costosos que los paneles sensoriales ([Lu y Abbott, 2004](#)).

Los métodos instrumentales pueden agruparse en fundamentales, empíricos y/o imitativos. Los métodos fundamentales evalúan propiedades mecánicas bien definidas de los alimentos que, si se miden correctamente, son independientes del método de medición. Estas medidas requieren un diseño experimental acorde al tipo de muestra a evaluar y una meticulosa configuración del equipo. Estos métodos son muy valiosos en la investigación de las propiedades físicas de los alimentos. Por otra parte, los métodos empíricos consisten en aplicar una fuerza al producto y medir el esfuerzo y la deformación acompañante, pero dependen de las condiciones de ensayo tales como: volumen y forma de la muestra, velocidad del ensayo, etc. Muchos de los diferentes dispositivos que existen para aplicar la fuerza sobre las muestras, se han desarrollado dentro de las distintas industrias elaboradoras y son apropiados para sus productos específicos. Dentro de las ventajas de los métodos empíricos se encuentran: la simplicidad en la realización, la rapidez y su utilización en rutinas del control de calidad de procesos de elaboración. Por último, los métodos imitativos pretenden reproducir mecánicamente el acto fisiológico de la masticación, y por lo tanto miden varios atributos de la textura de los alimentos.

El análisis de perfil de textura (TPA) es un método instrumental de medición imitativo que se realiza con un texturómetro. En este ensayo se comprime la muestra de alimento con una fuerza constante en dos ciclos sucesivos por medio de un émbolo plano, con el objetivo de imitar la acción de molienda de la mandíbula. Los texturómetros difieren en

su construcción mecánica y en su capacidad de análisis y adquisición de datos, pero tienen una serie de características importantes en común. Todos están constituidos por un cabezal transversal al cual va unido la sonda o celda de carga, que es impulsada verticalmente a una velocidad constante deseada y que puede completar uno o más ciclos con un rango de distancias y/o carga establecidos convenientemente. Se pueden utilizar diferentes tipos de celdas para comprimir, penetrar, cortar o triturar los alimentos. La fuerza se registra en relación con el tiempo o la distancia de penetración/deformación. El control del equipo, el registro, el almacenamiento y el análisis de los datos se realiza por una computadora. Una ventaja importante de este tipo de instrumentos es que la flexibilidad de su diseño permite que sean utilizados para una amplia gama de alimentos. Esto es particularmente útil para las empresas que manejan o fabrican una gran variedad de productos. Las sondas y los porta-muestras se pueden cambiar fácilmente para adaptar las mediciones en diferentes tipos de productos, dando una precisión adecuada tanto para alimentos relativamente blandos como para alimentos muy duros.

Otra manera de clasificar los métodos utilizados en la evaluación de la textura es aquella que discrimina entre ensayos destructivos y no-destructivos. Los métodos de fuerza/deformación destructivos son considerados por muchos como el medio preferido para medir la textura de alimentos ya que suelen estar mejor relacionados con la evaluación sensorial que los métodos no destructivos ([Bourne, 2002](#)). Las técnicas destructivas son útiles para proporcionar información sobre la calidad media de un lote de alimentos. Sin embargo, tienen la desventaja que las muestras utilizadas se destruyen en el proceso de medición. Los métodos destructivos pueden ser empíricos o fundamentales. Los métodos destructivos empíricos también son a menudo algo imitativos ya que, semejan la masticación o la preparación del alimento. Utilizan una gran variedad de sondas que aplican al alimento una fuerza que va más allá del punto de fractura. Basado en el patrón de carga, los métodos destructivos incluyen punción, penetración, compresión, corte o cizalla, torsión, tensión, flexión, equipos para medir el flujo del alimento, etc. ([Kilcast, 2004](#); [Lu y Abbott, 2004](#)). Los métodos destructivos fundamentales miden propiedades mecánicas básicas como el módulo de Young, el coeficiente de Poisson, el módulo de cizallamiento y otros. Cuando el efecto del tiempo es importante, se realizan ensayos de fluencia y de relajación. Los métodos no destructivos permiten que las muestras de alimentos no sean destruidas o degradadas

durante el proceso de medición. Como resultado de este requisito básico, los niveles de fuerza y/o la deformación deben ser tales que no se rebase el límite que podría causar daños permanentes en el producto alimenticio. Por lo tanto, entran dentro de los métodos fundamentales donde las teorías de la elasticidad y viscoelasticidad de los materiales funcionan bien para describir la respuesta mecánica de los alimentos en condiciones de ensayo donde la fuerza aplicada sea no destructiva. Pertenecen a este grupo, por ejemplo, los ensayos oscilatorios dinámicos para alimentos viscoelásticos, en los cuales se aplica una fuerza sinusoidal al producto en un rango de frecuencias y se registra el desplazamiento correspondiente, la aceleración o la velocidad ([Lu y Abbott, 2004](#)).

### **1.6.3. Evaluación sensorial y conservación**

La evaluación sensorial, es un paso necesario y fundamental antes de lanzar un producto al mercado. La percepción oral del alimento es compleja e involucra propiedades gustativas, olfatorias, visuales, táctiles y kinestésicas (propiedades mecánicas: dureza, adhesividad), que son evaluadas en conjunto ([Mazón y col., 2018](#)). Esta percepción sensorial, asimismo, está dada por la composición y la estructura del producto. Los ensayos sensoriales pueden ser divididos en dos categorías: afectivos (o de aceptabilidad) y analíticos. Los primeros se llevan a cabo con consumidores, importan sus percepciones y preferencias y son muy utilizados para explorar la aceptabilidad que el producto puede tener en el mercado ([Foegeding y col., 2003](#)). Por otra parte, los ensayos analíticos se realizan con un panel de personas entrenadas y sus respuestas son tratadas como datos instrumentales. Dentro de los ensayos de aceptabilidad se encuentran, entre otros, el método de comparación de a pares, el de ordenamiento de preferencia y la escala hedónica. El método de comparación de a pares busca comparar un producto con otro, ya sea para el mejoramiento del alimento o buscando paridad con los atributos ofrecidos por la competencia. En este método se fuerza la elección de un producto sobre el otro sin indicar si fueron aceptables o no. Además, en el método de ordenamiento de preferencia el objetivo es comparar la preferencia de más de dos muestras y se utiliza cuando se quiere ordenar una serie de muestras según un mismo atributo. Por último, la escala hedónica permite saber cuál es el grado de aceptabilidad

sensorial de un producto, ya que el consumidor le asigna un puntaje dentro de la escala que se le presenta, para un atributo en especial del alimento o la preferencia global del mismo ([Cruz y col., 2010](#)).

Muchos productos alimenticios procesados cuentan con un tiempo considerable entre su producción y su consumo, por lo tanto, es importante garantizar una adecuada conservación de las propiedades mecánicas y organolépticas de éstos. Como se explicó anteriormente, durante el almacenamiento pueden producirse cambios en el contenido de humedad de los productos, dando lugar a indeseables reacciones como la oxidación de lípidos, el pardeamiento enzimático y no enzimático, etc. Por ello, es importante elegir un envase adecuado y evaluar los parámetros de deterioro más significativos durante el período de almacenamiento de los alimentos compuestos y, particularmente, de las galletitas rellenas.

Algunas características fisicoquímicas como la textura, el color, la humedad, etc., pueden variar durante el almacenamiento de las galletitas rellenas disminuyendo, así, su calidad. El agregado de fibra dietaria puede ayudar en la conservación de los alimentos de mediana humedad, ya que es un excelente agente texturizante y minimiza la sinéresis ([Iop y col., 1999](#); [Manley, 2001](#); [Tiefenbacher, 2019](#)). Por lo tanto, sería interesante evaluar las características fisicoquímicas del alimento almacenado en envases comúnmente empleados en la industria, con el fin de lograr mantener casi inalteradas, durante un tiempo prolongado, las características originales de alimentos procesados. Una de las metodologías de conservación radica en la generación de atmósferas controladas dentro del envase, lo cual permite que las reacciones bioquímicas sean más lentas e inhibe la actividad microbiana, generando el estado de latencia en los microorganismos. Otro de los parámetros críticos durante el almacenamiento es la temperatura ambiente, ya que cambios bruscos de la misma puede alterar en gran medida las características fisicoquímicas del producto ([Manley, 2001](#); [Fenemma y col., 2017](#)). Durante la conservación se pueden producir daños mecánicos provocados por el incremento del volumen de las tapas de galletitas por la migración del agua desde el relleno, lo cual puede provocar modificaciones indeseables de pH, acidez, textura, color y aroma, entre otras cosas ([Manley, 2000](#); [Tiefenbacher, 2017](#)). También puede aparecer un ligero sabor rancio debido al deterioro oxidativo en los alimentos con gran contenido de materia grasa ([Fenemma y col., 2017](#)). La pérdida de calidad de los productos se puede evitar o reducir estudiando el método y el material de envasado.

## CAPITULO 2

### Objetivos

Teniendo en cuenta que:

- ✚ La industria de las galletitas en nuestro país es muy importante y se prevé un crecimiento sostenido en los próximos años.
- ✚ Se registra una creciente demanda de alimentos listos para el consumo, que posean buenas propiedades tanto nutricionales como organolépticas y un largo tiempo de vida útil.
- ✚ La industria alimentaria está tendiendo cada vez más al desarrollo de alimentos compuestos, con porciones secas, crujientes y rellenos suaves de diverso origen, composición y textura como, por ejemplo, las galletitas rellenas.
- ✚ En el sector de los alimentos funcionales también se estima un fuerte crecimiento en los próximos años debido que los consumidores valoran cada vez más la incorporación de hábitos de vida saludables, como el cuidado de su alimentación desde el punto de vista de la calidad nutricional.
- ✚ La fibra dietaria es un ingrediente funcional y su consumo en los países occidentales es inferior al consumo mínimo establecido por la OMS.
- ✚ Resulta interesante el desarrollo de productos con valor agregado a partir de ingredientes saludables de producción nacional, como la miel y la leche ovina.

En este Trabajo de Tesis se proponen los siguientes objetivos:

#### 2.1. Objetivo general

Desarrollo y caracterización de rellenos para galletitas dulces y saladas, elaborados con ingredientes naturales y con la incorporación de componentes beneficiosos para la salud, como fibra dietaria. En particular se aborda en este estudio todo lo concerniente a rellenos dulces y salados, que permitan obtener un alimento de agradable sabor, de buena calidad nutricional y que resulte atractivo para el consumidor.

## 2.2. Objetivos específicos

- ✚ Caracterización de rellenos de galletitas dulces y saladas comerciales de diversas marcas mediante técnicas instrumentales. Determinación de la actividad acuosa y atributos de textura relevantes para este tipo de alimento, tales como la adhesividad, cohesividad, firmeza, elasticidad y tiempo de relajación, a fin de determinar los rangos de valores aceptables y funcionales para dichos productos.
- ✚ Desarrollo, caracterización y optimización de la formulación de un relleno dulce elaborado a partir de ingredientes naturales como almidón de maíz, azúcar impalpable, manteca de cacao, gelatina sin sabor y agua. Estudio del efecto de dichos ingredientes sobre la actividad acuosa y la textura de los rellenos obtenidos, mediante el Método de Superficie de Respuesta (RSM). Optimización de la formulación empleando la función Deseabilidad a fin de obtener un relleno dulce con propiedades fisicoquímicas similares a las de un relleno comercial. Validación de la formulación optimizada mediante la comparación de los valores de los parámetros de calidad entre el producto obtenido y los predichos por los modelos matemáticos.
- ✚ Desarrollo y optimización de un relleno reducido en grasa y sacarosa empleando el Método de Diseño de Mezcla para tres componentes (manteca de cacao, miel y azúcar impalpable). Adición de fibra de avena y miel a la formulación con el objetivo de incorporar ingredientes beneficiosos para la salud. Determinación de la capacidad antioxidante (técnicas de FRAP y DPPH), actividad acuosa y textura de los rellenos. Validación de la formulación reducida en grasa y sacarosa optimizada por comparación con los valores predichos por los modelos matemáticos.
- ✚ Análisis sensorial y determinación de la intención de compra de la galletita con relleno reducido en grasa y sacarosa. Realización de un ensayo de aceptabilidad por atributos, empleando una escala hedónica semiestructurada de nueve puntos, y análisis de intención de compra del producto, con un panel no entrenado de consumidores.

- ✚ Conservación y almacenamiento del relleno reducido en grasa y sacarosa envasado en película de polipropileno. Determinación de la vida útil a través de ensayos de humedad relativa, actividad acuosa, desarrollo microbiano, textura y oxidación lipídica.
- ✚ Desarrollo y caracterización de rellenos de galletitas saladas empleando queso fresco de leche ovina, almidón de maíz y fibras dietarias: carragenina, alginato de sodio, goma xántica y goma garrofin. Estudio y caracterización del proceso de secado en bandejas por flujo de aire caliente de velocidad controlada determinando humedad relativa, actividad acuosa y atributos de textura. Modelado del proceso de secado empleando el Modelo de Henderson y Pabis. Estudio de la microestructura de los rellenos durante el procesamiento utilizando Microscopía Láser Confocal de barrido.

## CAPÍTULO 3

### **Efecto de la combinación de ingredientes básicos naturales sobre las propiedades fisicoquímicas de rellenos de galletitas**

#### **3.1. Introducción**

Los rellenos son un componente importante en los alimentos compuestos ya que proveen sabor, textura y adhesión entre las partes. Generalmente, los rellenos contienen grasa, azúcar, diversos sólidos y los más suaves, agua. Las características de los rellenos dependen de sus especificaciones de elaboración. Generalmente se describen de acuerdo a su textura, dulzura, adhesividad y dureza. El relleno aporta estabilidad mecánica a la galletita rellena al sostener las tapas unidas entre sí. [Manley \(2005\)](#) advierte que la adhesividad es un parámetro que resulta de gran importancia dado que es la propiedad que favorece la unión entre el relleno de galletitas y las tapas. En este sentido, si el contenido de grasa en el relleno es demasiado bajo, pueden surgir problemas de separación del relleno de las tapas, debido a que no se generarían suficientes cristales de grasa en la interfase relleno/tapa para sellar la galletita cuando la grasa se haya solidificado.

#### **3.2. Materias primas utilizadas**

##### **3.2.1. Manteca de cacao**

Con el nombre de cacao se designa a la especie arbórea *Theobroma cacao*, perteneciente a la familia de las esterculiáceas, cuyas especies son todas originarias de América del Sur y países cálidos de América ([Beckett y col., 1998](#)). El fruto del árbol del cacao es una cápsula de forma ovoide y sección pentagonal, tradicionalmente llamada mazorca. La cápsula mide aproximadamente 20 cm de longitud y 10 cm de

ancho, encerrando entre 20 y 40 semillas de 2 cm de longitud, envueltas en una pulpa rosada blanquecina ligeramente acidulada (Fig. 3.1). Las semillas de cacao son ovoides, planas, de color rosa blanquecino-marrón y están dispuestas en series longitudinales.



**Fig. 3.1:** Fruto del cacao: (a) corte transversal del fruto maduro; (b) corte longitudinal y (c) fruto abierto

El CAA (Art. 35, Capítulo 5) define a la manteca de cacao o grasa de cacao como la materia grasa extraída por prensado del cacao descascarillado o de la pasta de cacao. Presenta un color blanco o amarillento y un punto de fusión de 30 - 35 °C.

En la Fig. 3.2 se detalla el proceso de obtención de la manteca de cacao a partir de las semillas de cacao. Las semillas frescas se dejan fermentar, con la finalidad de disolver la pulpa que las rodea, matar el germen y endurecerlas para evitar el ataque de mohos ([Kalvatchev y col., 1998](#)). Luego de la fermentación, las semillas aún contienen entre 55 y 60 % de agua, por lo que se las seca al sol hasta una humedad de aproximadamente 7 % ([Mejía y Bolaños, 2007](#)). Posteriormente, las semillas son limpiadas, tostadas y descascarilladas, obteniendo así los granos de cacao. El grano de cacao contiene aproximadamente de 50 a 57 % de manteca de cacao dentro de su estructura celular ([Bernardini, 1983](#)). Los granos son triturados para obtener un tamaño de grano más pequeño, usualmente llamados nibs de cacao. Al moler los nibs de cacao, las paredes celulares de las semillas se destruyen y el calor de fricción generado por la molienda funde la grasa, obteniéndose una pasta fluida conocida como pasta de cacao o licor de cacao (mezcla semiplástica de partículas de cacao suspendidas en la manteca de cacao) ([Potter, 1973](#)). A este licor o pasta se le aplica un procedimiento de extracción mediante prensa horizontal con el fin de extraer la manteca de cacao. Después de la extracción por prensado, queda una masa sólida llamada torta de cacao, que normalmente contiene un 22 % de grasa residual, extrayendo aproximadamente el 42 % de la manteca de cacao. Para producir tortas con diferentes proporciones de grasa, el fabricante controla

la cantidad de la manteca extraída a partir del licor. La manteca de cacao extraída a partir de la prensa es utilizada en la fabricación de chocolate. También, se utiliza en diversas industrias como manteca de cacao natural en estado sólido, en forma purificada y desodorizada.

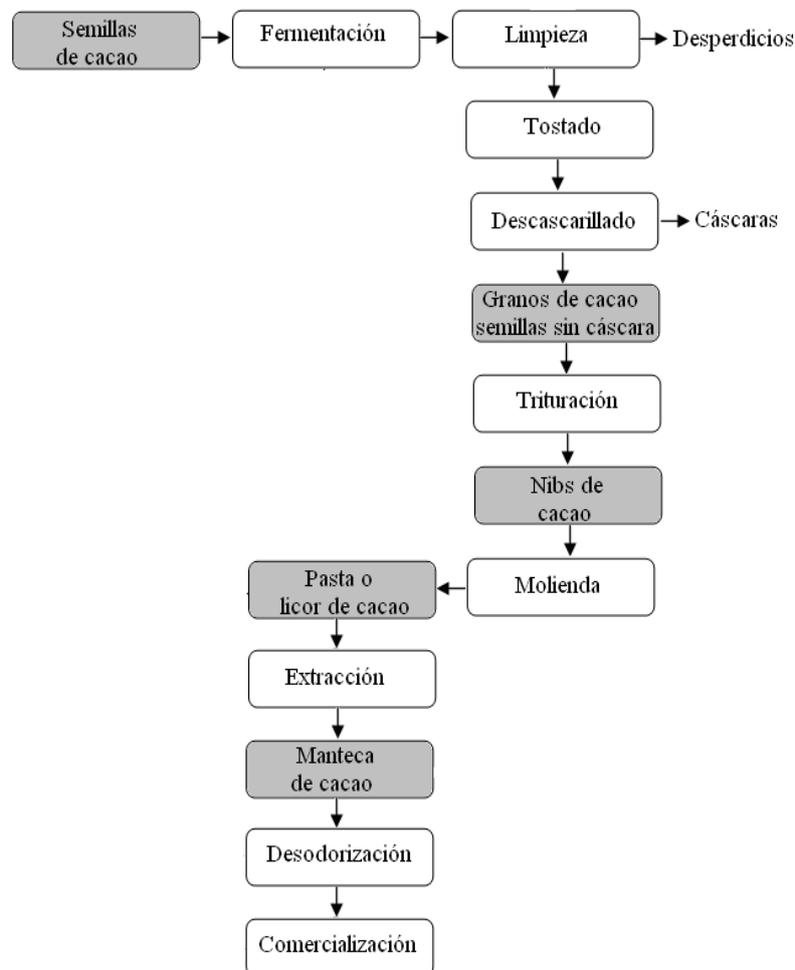
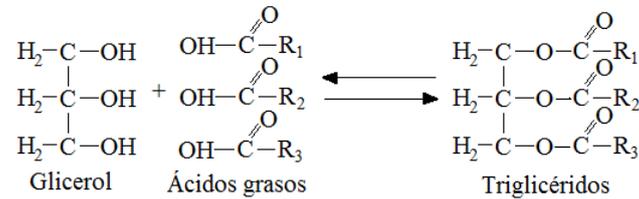


Fig. 3.2: Diagrama de bloques del proceso de obtención de la manteca de cacao

La manteca de cacao es un lípido que pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como ésteres, que se forman por la reacción de un alcohol (glicerol) con ácidos orgánicos (ácidos grasos), dando como resultado la formación de glicéridos (Bernardini, 1983). Si tres ácidos grasos esterifican los tres grupos hidroxilos de la molécula de glicerol, se forman los triglicéridos (Fig. 3.3). Las grasas no procesadas están compuestas mayoritariamente por una mezcla de triglicéridos (Susliok, 1998). Los triglicéridos se pueden clasificar en simples y mixtos, cuando tienen en su estructura

tres radicales de ácidos grasos idénticos; y cuando tienen en su estructura tres radicales de ácidos grasos diferentes, respectivamente ([Liendo y col., 1997](#)).



**Fig. 3.3:** Estructura básica de un triglicérido

Donde los radicales R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son cadenas hidrocarbonadas de longitud y saturación variables. Las combinaciones de los ácidos grasos determinan las propiedades de los triglicéridos, y hacen muy compleja la estructura química de las grasas. En la manteca de cacao, los radicales suelen tener predominantemente la estructura del ácido palmítico (saturado), oléico (insaturado) o esteárico (saturado) ([Beckett y col., 1998](#)). La concentración de los ácidos grasos presentes en la manteca de cacao se resume en la Tabla 3.1 ([Liendo y col., 1997](#))

**Tabla 3.1:** Caracterización de los ácidos grasos presentes en la manteca de cacao

Ácidos grasos	Nº átomo de Carbono	Nº insaturaciones	Porcentaje (% p/p)
Láurico	12	0	0,0-0,1
Mirístico	14	0	0,1-0,2
Palmítico	16	0	23,0-30,0
Esteárico	18	0	32,0-37,0
Oléico	18	1	30,0-37,0
Linoleico	18	2	2,0-4,0
Linolénico	18	3	0,1-0,3

La manteca de cacao está constituida fundamentalmente por triglicéridos (94 %), pequeñas cantidades de diglicéridos (aproximadamente 4 %) y el resto de monoglicéridos ([Moreno y col., 2013](#)). Dentro de los triglicéridos, sólo el 2 % están totalmente saturados, es decir, tienen configuración SSS (S = Saturado, I = Insaturado). La mayor parte de los triglicéridos (77 %) son disaturados y particularmente de configuración SIS, donde el oleico (insaturado) suele ocupar la posición central en la molécula de triglicérido, mientras que los ácidos palmítico y esteárico (saturados) suelen estar en los extremos ([Beckett y col., 1998](#)). Esto último, resulta crucial al

momento de definir el rango de fusión de la manteca de cacao, vinculado a la principal razón de su uso en la industria alimentaria. Además, el uso de la manteca de cacao en los productos alimenticios se debe a su rango de plasticidad, el cual, le confiere características particulares a los productos donde es añadida como: textura suave, sabor y aroma característicos, dureza de la grasa a la temperatura ambiente y punto de fusión ligeramente mayor a la temperatura ambiente.

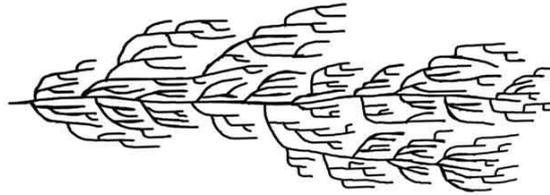
### 3.2.2. Almidón de maíz

El almidón de maíz es uno de los componentes más utilizados por la industria para fabricar galletitas rellenas. Es la sustancia de reserva predominante en las plantas y proporciona el 70 - 80 % de las calorías consumidas por los humanos de todo el mundo. Los almidones comerciales se obtienen de las semillas de cereales, particularmente de maíz, maíz céreo (rico en amilopectina), maíz rico en amilosa, trigo, varios tipos de arroz, y de algunas raíces y tubérculos. Tanto los almidones nativos como los modificados tienen un número enorme de posibles aplicaciones como: adhesivo, ligante, enturbiante, formador de películas, estabilizante de espumas, gelificante, glaseante, humectante, estabilizante, texturizante y espesante ([Fennema y col., 2007](#)).

El almidón se diferencia de todos los demás carbohidratos en que se presenta como complejas partículas discretas, llamadas gránulos. Si se observan los gránulos con luz polarizada se ve la característica cruz de malta, que rota al rotar los lentes polarizadores. Los gránulos de almidón son relativamente densos e insolubles, y no se hidratan en agua fría.

Una segunda propiedad única es que la mayoría de los gránulos de almidón están compuestos de una mezcla de dos polímeros: un polisacárido esencialmente lineal denominado amilosa y otro muy ramificado llamado amilopectina ([Fennema y col., 2007](#)). La amilosa formada por residuos de  $\alpha$ -D-glucosa unidos por uniones  $\alpha(1\rightarrow4)$  con un bajo número de ramificaciones, presenta una estructura helicoidal, con átomos de hidrógeno hacia el interior de la hélice y grupos hidróxido hacia el exterior ([López y Suárez, 2005](#)). El interior de la hélice es, por tanto, lipofílico y capaz de incluir otras moléculas como ácidos grasos y/o hidrocarburos. El contenido de amilosa en almidones de distintos orígenes, varía entre 13 y 38 %. En la Fig. 3.4 se observa la representación

esquemática de la molécula de amilopectina. Este es un polímero altamente ramificado formado por residuos de  $\alpha$ -D-glucosa unidos por uniones  $\alpha(1\rightarrow4)$ , con ramificaciones en  $\alpha(1\rightarrow6)$ .

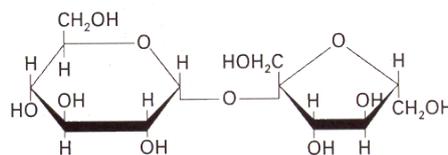


**Fig. 3.4:** Representación esquemática de la molécula de amilopectina

Aproximadamente el 5 % del total de los enlaces son enlaces de ramificación. Las ramas de las moléculas de amilopectina toman la forma de racimo. La amilopectina está presente en todos los almidones, constituyendo entre 62 - 87 % de los almidones más utilizados por el hombre.

### 3.2.3. Azúcar impalpable

El azúcar es el nombre convencional para la sacarosa (Fig. 3.5), que es un disacárido compuesto por una molécula de glucosa y una molécula de fructosa.



**Fig. 3.5:** Molécula de sacarosa

El azúcar se extrae a partir de la caña de azúcar o la remolacha y el diámetro de las partículas es de 450 - 650  $\mu\text{m}$  (Tiefenbacher, 2019). La sacarosa blanca está disponible en varios tamaños y es usada como materia prima en diversos procesos en la industria alimentaria. Cuanto menor sea el tamaño del cristal, más rápido se disolverá el azúcar

en la boca y no generará sensación de arenosidad durante la masticación, tal como se explicó en el Capítulo 1. El azúcar impalpable o azúcar en polvo, es el azúcar blanco, finamente pulverizado, con o sin adición de antiaglutinantes de uso permitido ([CAA, Capítulo X, Alimentos azucarados](#)), y el diámetro de sus partículas es inferior a 120  $\mu\text{m}$  ([Tiefenbacher, 2019](#)).

#### 3.2.4. Gelatina

La gelatina es un polímero proteico que se obtiene de tejidos ricos en colágeno como los huesos, cartílagos, tendones, piel de ganado porcino y vacuno. Este ingrediente se encuentra en la lista positiva de aditivos informada por el Código Alimentario Argentino, como espesante - estabilizante ([CAA, capítulo XVIII, aditivos alimentarios](#)). Como se indicó anteriormente en el capítulo 1, en las formulaciones comerciales de rellenos es frecuente el agregado de agentes gelificantes ([Manley, 1998](#)), a fin de obtener la textura deseada.

### 3.3. Objetivos específicos del Capítulo

Los objetivos de este capítulo fueron: formular un relleno de galletitas a partir de ingredientes básicos naturales, y estudiar el efecto de la variación de dichos ingredientes sobre los atributos de textura y sobre la actividad acuosa. Comprender la influencia de los distintos ingredientes en los atributos relevantes en este tipo de productos, a fin de desarrollar un relleno de galletita más saludable, con mejores cualidades nutricionales que los comercializados actualmente.

Para esto se propuso:

- ✚ Analizar muestras de cinco rellenos comerciales para establecer valores de referencia para los distintos parámetros analizados. Estos valores de referencia se utilizaron para establecer un posible "valor objetivo" en cada variable, con el fin de obtener un relleno con características similares a las comerciales, ampliamente aceptados por los consumidores.

- ✚ Relacionar el efecto de la concentración de los ingredientes básicos naturales (almidón de maíz, azúcar impalpable, manteca de cacao y gelatina sin sabor), sobre la adhesividad, cohesividad, elasticidad, dureza, tiempo de relajación y actividad acuosa de rellenos de galletitas.
- ✚ Modelar matemáticamente las respuestas obtenidas para las distintas formulaciones siguiendo la Metodología de Superficie de Respuesta.
- ✚ Predecir la composición de la mezcla seca y la mezcla líquida, que forman el relleno, que optimicen los parámetros de calidad, logrando asemejarse a los productos comerciales tradicionales utilizando la Metodología de la Función Objetivo.
- ✚ Validar la formulación optimizada elaborando el producto, determinando experimentalmente sus parámetros de calidad y comparando los resultados obtenidos con los valores predichos por los modelos matemáticos.

### 3.4. Materiales y Métodos

#### 3.4.1. Materiales

Para la preparación de los rellenos se empleó azúcar impalpable (Dos Anclas®, Argentina). Este producto tiene 96,5 % de azúcar y 3,5 % de almidón de maíz como antiaglutinante (azúcar impalpable 10x). También se utilizó gelatina sin sabor (Royal®, Kraft Foods Inc., Brasil), almidón de maíz (Maizena Duryea®, Unilever de Argentina S.A.), manteca de cacao (Parafarm®, Saporiti S.A.C.I.F.I.A., Argentina) y agua destilada. Los rellenos de diversas galletitas comerciales fueron analizados a fin de establecer valores de referencia para los parámetros de textura y actividad acuosa. La composición de los rellenos comerciales se basa principalmente en azúcar, almidones, gelificantes y grasas. Se adquirieron paquetes de cinco marcas comerciales reconocidas de galletitas rellenas: *Oreo* (Mendelez Argentina S.A., Kraft Foods), *Maná* (Arcor, Bagley Argentina, S.A.), *Panchitas* (Bagley Argentina, S.A.), *Melba* (Terrabusi, Mondekez Argentina, S.A.), y *Duquesa* (Terrabusi, Mondekez Argentina S.A.). En cada caso se separó la pasta de relleno de las tapas.

### 3.4.2. Elaboración de los rellenos

Para la elaboración de los rellenos se pesaron todos los ingredientes por separado. La manteca de cacao se fundió a 37 °C en un recipiente de acero inoxidable en baño termostático (Haake L, Haake Buchler instruments, Karlsruhe, Germany). Se preparó una solución de gelatina 8,33 %, según [Borneo y col. \(2007\)](#). La manteca de cacao fundida y la solución de gelatina fueron mezcladas conformando la “mezcla líquida” de ingredientes. En otro recipiente se mezcló azúcar impalpable y almidón de maíz, constituyéndose así la “mezcla seca” de ingredientes. Se adicionó la mezcla líquida a la mezcla seca y se mezcló manualmente con espátula hasta la formación de la crema de relleno.

A partir de ensayos preliminares se estableció que, para todas las formulaciones, debía mantenerse una relación entre ingredientes secos (azúcar impalpable y almidón de maíz) y líquidos (solución de gelatina y manteca de cacao) de 7:3. Esto se determinó mediante las observaciones realizadas durante la elaboración de los rellenos, dado que si el contenido de grasa era demasiado bajo, disminuía la capacidad del relleno de permanecer unido a las tapas de la galletita. Los rellenos en los cuales la mezcla seca constituía un porcentaje mayor al 30 % resultaron de aspecto seco, arenoso y no homogéneo. También se observó que una mayor cantidad de manteca de cacao podría aumentar demasiado la firmeza del relleno. Entonces, no todas las posibles combinaciones de mezclas seca y líquida eran viables.

De acuerdo con [Manley \(2005\)](#), el nivel medio de materia grasa en los rellenos, donde la grasa es el único contribuyente a la fase líquida, es aproximadamente del 30 %. En los ensayos preliminares de este trabajo, para aquellas formulaciones en las cuales la mezcla líquida contenía menos de dicho porcentaje de materia grasa, la incorporación de los ingredientes secos resultó ser muy difícil o imposible. Por lo tanto, los niveles de variación del contenido de materia grasa en la mezcla líquida fueron elegidos para estar dentro de la gama de formulaciones de rellenos capaces de adherirse a las tapas de las galletitas. Es decir que, para este Trabajo de Tesis, se estudiaron formulaciones con una concentración máxima de materia grasa en la fase líquida del 30 %, quedando con un 70 % de mezcla seca.

Durante toda la elaboración, la temperatura de la mezcla se mantuvo 5 °C por encima de la temperatura de fusión de la manteca de cacao (32 °C; [Fennema y col., 2017](#)), a fin de evitar la solidificación o cristalización de las grasas ([Ghotra y col., 2002](#)). Las muestras elaboradas fueron almacenadas en recipientes de vidrio de 150 ml a temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C).

### 3.4.3. Análisis del perfil de textura (TPA)

Para realizar este ensayo descrito por [Brennan y Bourne \(1994\)](#) y [Bourne \(2002\)](#) se empleó un texturómetro TAX T2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems, UK) que consta de un brazo móvil al cual se le pueden adaptar distintas sondas según el tipo de ensayo a realizar (Fig. 3.6).



**Fig.3.6.** Texturómetro

El análisis de perfil de textura (TPA, por su sigla en inglés) se determinó sobre muestras cilíndricas de 20 mm de altura y 22 mm de diámetro, moldeadas en el momento a partir de muestras recién elaboradas. Se ensayaron diez replicados por formulación. El ensayo consistió en dos ciclos de compresión axial separados por un tiempo de espera, con una deformación del 20 % de la altura original de la muestra. Se utilizó una sonda de

aluminio SMSP/75 de 75 mm de diámetro (Fig. 3.6). La celda de carga empleada fue de 25 Kg y la velocidad del ensayo de 2 mm/seg. Los resultados fueron obtenidos mediante el software provisto por el equipo (Texture Technologies Corp) que permite determinar los parámetros del TPA. Se trabajó en un cuarto a temperatura controlada (20 °C).

Se determinaron los parámetros asociados a un perfil de textura típico (Fig. 3.7) (Szczesniak, 1963; Brennan y Bourne, 1994; Bourne, 2002), considerados relevantes a fin de caracterizar un relleno para galletitas.

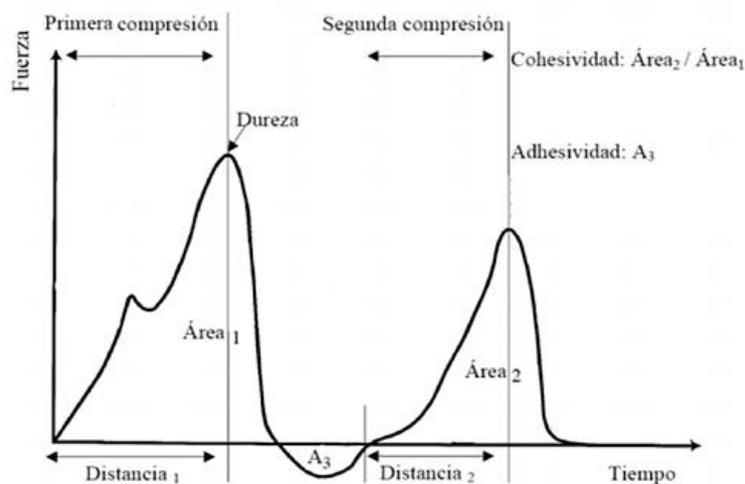


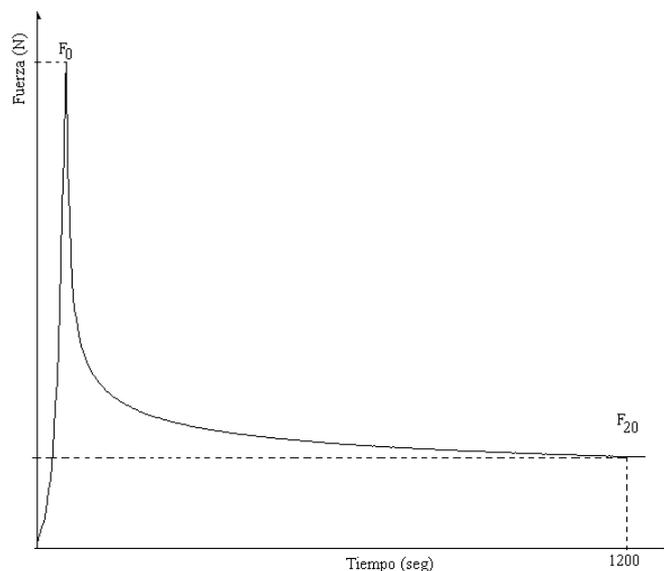
Fig. 3.7. Perfil de textura genérico obtenido para un alimento

Los parámetros determinados fueron:

- ✚ *Dureza*: se calcula como la fuerza máxima (N) en el primer pico y está relacionada con la resistencia a la compresión.
- ✚ *Adhesividad*: es el trabajo (J) necesario para levantar la sonda de la muestra, es decir, para vencer las fuerzas atractivas entre las superficies de la muestra y la sonda. Se calcula como el área del pico negativo (Área 3 en Fig. 3.7).
- ✚ *Cohesividad*: este parámetro refleja lo bien que un producto resiste una segunda deformación respecto a cómo se comporta en una primera. Se calcula como el cociente del área del segundo pico sobre el área del primer pico ( $J/J$ ) ( $\text{Área}_2/\text{Área}_1$ ).

### 3.4.4. Ensayo de compresión - relajación

Para la ejecución de este ensayo, se programó el Texturómetro en modo “fuerza en compresión”, con una compresión de la muestra respecto a su altura inicial del 20 %. En el ensayo de relajación la deformación experimentada por el material es constante. En este ensayo, las muestras se comprimieron y la fuerza se mantuvo constante durante 20 minutos. Este es un tiempo suficientemente largo para observar la tendencia a la disminución de la fuerza/estrés como una función del tiempo y la tensión de equilibrio después de un tiempo infinito. En otras palabras, la fuerza se mantuvo hasta que la deformación podría ser considerada como una función independiente del tiempo. Se determinaron la fuerza máxima de compresión ( $F_0$ , N) y la fuerza ejercida sobre la sonda luego de 20 minutos ( $F_{20}$ , N), tal como se representa en la Fig. 3.8.



**Fig. 3.8:** Curva de relajación de un alimento sometido a compresión constante

Los parámetros determinados fueron ([Lupano y col., 1992](#); [Peleg, 1979](#)):

- ✚ *Elasticidad*: se calcula como el cociente entre las fuerzas  $F_{20}/F_0$ .
- ✚ *Tiempo de relajación*: se consideró como el tiempo (s) al cual la fuerza resultó de  $F = (F_0 + F_{20})/2$ . Para este tipo de productos, el tiempo de relajación es un parámetro asociado al comportamiento viscoso y en consecuencia, a la untabilidad del relleno.

### 3.4.5. Determinación de actividad acuosa

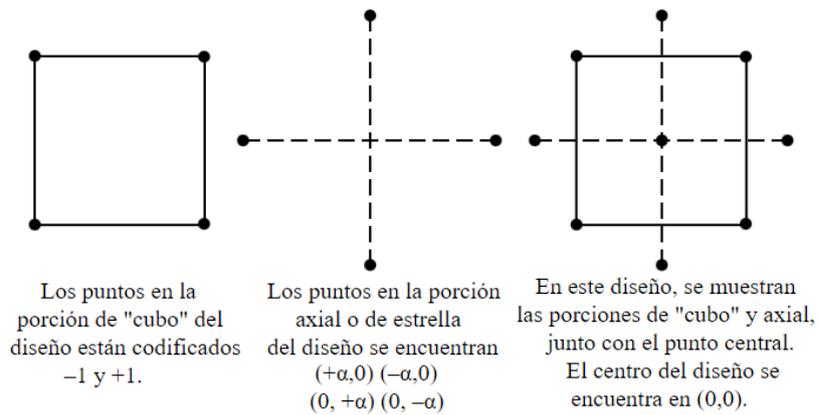
La actividad acuosa ( $a_w$ ) de las muestras fue determinada a 25 °C, por duplicado, en un equipo AquaLab Serie 3 (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA). Se utilizó como referencia una solución saturada de  $Mg(NO_3)_2$  cuya actividad acuosa es de  $0,544 \pm 0,003$ , cercana a la esperada en este tipo de productos. De acuerdo a [Manley \(1998\)](#), se requiere que los rellenos posean valores de  $a_w$  cercanos a 0,6 a fin que el proceso de migración de agua no afecte de manera adversa las características de las tapas durante el almacenamiento.

### 3.4.6. Optimización de la formulación de relleno de galletitas dulces utilizando Metodología de Superficie de Respuesta

Se procedió a realizar la optimización de las concentraciones de almidón y manteca de cacao de la “mezcla seca” y las concentraciones de solución de gelatina y manteca de cacao de la “mezcla húmeda” en la preparación de los rellenos dulces.

#### 3.4.6.1. Diseño de experimento empleado

Se empleó un diseño Box-Wilson comúnmente llamado diseño central compuesto rotatable o DCCR ([Box y Draper, 1987](#); [Myers, 1971](#); [Khuri, 1990](#)). Este diseño es en realidad una combinación de un diseño factorial con puntos centrales y axiales, tal como se muestra en la Fig. 3.9. Si la distancia desde el centro del espacio de diseño a un punto factorial es de  $\pm 1$  unidad de cada factor, la distancia desde el centro del espacio de diseño a un punto axial es de  $\pm \alpha$ , con  $\alpha > 1$ . El valor preciso de  $\alpha$  depende de las propiedades deseadas para el diseño y del número de factores implicados. El diseño central compuesto se puede hacer rotatable estableciendo los valores de los puntos axiales como  $\alpha = (2^k)^{1/4}$ . Luego, el valor de  $\alpha$  para un diseño de dos factores es de 1,414. El diseño central compuesto rotatable requiere una cantidad de puntos experimentales ( $N$ ) establecida por  $N = k^2 + 2k + cp$ , donde  $k$  indica la cantidad de factores y  $cp$  es el número de replicados del punto central.



**Fig. 3.9:** Combinación de un diseño factorial de dos factores con puntos centrales y axiales

Las 11 formulaciones diferentes incluidas en el diseño se constituyeron a partir del agregado de tres puntos centrales y cuatro puntos axiales a un diseño factorial completo del tipo  $2^2$ . Las medidas de los puntos centrales permiten la estimación del error experimental y la falta de ajuste del modelo propuesto para explicar el comportamiento observado, para la variable dependiente medida. Los puntos axiales se añaden al diseño factorial para realizar la estimación de la curvatura del modelo. La formulación de cada uno de los rellenos elaborados y los niveles codificados que se emplearon en este diseño, se muestran en la Tabla 3.2. Los factores empleados fueron dos, el nivel de almidón y el de manteca de cacao.

**Tabla 3.2.** Contenidos porcentuales (g/100g) codificados de mezcla seca y mezcla líquida en las diferentes formulaciones (1 a 9) de rellenos de galletitas dulces

Formulación	Mezcla seca			Mezcla líquida		
	Código	Almidón de maíz	Azúcar impalpable	Código	Solución de gelatina	Manteca de cacao
1	-1,0000	4,40	65,60	-1,0000	1,76	28,24
2	-1,0000	4,40	65,60	1,0000	10,24	19,76
3	1,0000	25,60	44,40	-1,0000	1,76	28,24
4	1,0000	25,60	44,40	1,0000	10,24	19,76
5	-1,4142	0,00	70,00	0,0000	6,00	24,00
6	1,4142	30,00	40,00	0,0000	6,00	24,00
7	0,0000	15,00	55,00	-1,4142	0,00	30,00
8	0,0000	15,00	55,00	1,4142	12,00	18,00
9	0,0000	15,00	55,00	0,0000	6,00	24,00
10	0,0000	15,00	55,00	0,0000	6,00	24,00
11	0,0000	15,00	55,00	0,0000	6,00	24,00

En este estudio, se varió la cantidad de almidón de maíz entre 0 y 30 % en la mezcla seca y la cantidad de manteca de cacao entre 18 y 30 % de la mezcla de ingredientes líquidos. Para todas las formulaciones se mantuvo una relación entre ingredientes líquidos (solución de gelatina y manteca de cacao) y secos (azúcar impalpable y almidón de maíz) de 7:3. En consecuencia, al variar el nivel de almidón ( $x_1$ ), el nivel del otro ingrediente seco que conforma la mezcla seca queda establecido a partir de la relación de proporción existente entre ellos. Esto es, la cantidad de azúcar impalpable quedará definida como la diferencia ( $70 - x_1$ ). De manera similar, al variar la cantidad de manteca de cacao en la formulación en la mezcla de ingredientes líquidos ( $x_2$ ), el contenido de solución de gelatina quedará establecido a partir de la relación ( $30 - x_2$ ). La formulación 9 corresponde al centro del diseño (0,0) y se evaluó por triplicado (9, 10 y 11), por lo que en total se prepararon 11 muestras del producto.

#### 3.4.6.2. Estimación de las superficies de respuesta

La Metodología de Superficies de Respuesta (MRS) es una estrategia de experimentación secuencial y modelado matemático que permite estimar las condiciones óptimas de operación de un proceso. Además, contribuye a mejorar significativamente el diseño de un producto en cuanto a costos, tiempos, eficiencia, productividad, cumplimiento de especificaciones y calidad. Permite que el investigador inspeccione de manera visual la respuesta promedio para cierta zona de los niveles de los factores de interés y evaluar su sensibilidad a dichos factores ([Harrington, 1965](#); [Gutierrez-Pulido y De la Vara, 2003](#)).

Tradicionalmente, la optimización en los productos alimenticios se ha realizado mediante el estudio de la influencia de uno de los ingredientes a la vez en una respuesta experimental. La principal desventaja de esta técnica es que no incluye los efectos interactivos entre las variables estudiadas, y como consecuencia, no representa los efectos completos del parámetro en la respuesta. Otra desventaja de la optimización de un factor es el aumento en el número de experimentos necesarios para llevar a cabo la investigación, lo que conduce a un incremento de tiempo y gastos, así como un aumento en el consumo de recursos y materiales ([Harrington, 1965](#)). La MRS puede ayudar en la investigación del efecto de la interacción de varias variables en la construcción de un

modelo matemático que describa con precisión el proceso global ([Myers y Montgomery, 2002](#); [Velioglu y col., 2010](#); [Malekjani y col., 2020](#)). La optimización de los niveles de ingredientes y la formulación de productos alimenticios que requieren varios ingredientes, han sido documentados para tortas de yuca ([Gan y col., 2007](#)), snaks ([Thakur y Saxena, 2000](#)), masa para galletitas ([Gallagher y col., 2003](#)), postres lácteos ([Dello Staffolo y col., 2017](#)), pan de harina de trijo y frijoles ([Manyatsi y col., 2020](#)). Es una poderosa técnica matemática y estadística para probar múltiples variables de un proceso y sus interacciones, que genera gran cantidad de información a partir de un pequeño número de experimentos, y brinda la posibilidad de proporcionar un método de regresión múltiple para lograr la optimización.

Dado que los factores estudiados presentan niveles cuantitativos, se puede determinar la respuesta ( $y_n$ ) con respecto al factor ( $x_i$ ) mediante la *Ec.3.1*, siendo los polinomios de segundo grado ampliamente usados en este tipo de diseño ([Cornell, 1981](#); [Floros y Chinnan, 1988](#)). Por lo tanto, el modelo polinomial usado como aproximación práctica a la función de respuesta verdadera o real, correspondió a un polinomio de segundo orden completo, cuyos coeficientes se evaluaron utilizando el software SYSTAT 12 (SYSTAT, Inc., Evanston, IL)

$$y_n = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{12} x_1 x_2 \quad \text{Ec.3.1}$$

Dónde  $y_n$  es la respuesta predicha de la variable correspondiente ( $y_1$  = adhesividad;  $y_2$  = cohesividad;  $y_3$  = dureza;  $y_4$  = elasticidad;  $y_5$  = tiempo de relajación;  $y_6$  = actividad acuosa);  $\beta_0$  es el coeficiente correspondiente al término independiente;  $\beta_1$  y  $\beta_2$  son los coeficientes lineales;  $\beta_{11}$  y  $\beta_{22}$  son los coeficientes cuadráticos;  $\beta_{12}$  es el coeficiente de interacción del modelo. Los contenidos codificados de las variables independientes corresponden a  $x_1$  (concentración de almidón en la mezcla seca) y  $x_2$  (concentración de manteca de cacao en la mezcla líquida).

Para cada respuesta se utilizó una metodología de eliminación tipo “paso hacia atrás” para determinar los términos significativos de la *Ec.3.1*. Los parámetros calculados fueron considerados significativos cuando las probabilidades calculadas resultaron menores que 0,05. Luego de realizar la regresión de cada modelo predictivo, se llevó a cabo un análisis de residuos para validar las suposiciones usadas en los analisis

estadísticos de la varianza (ANAVA). La adecuación del modelo fue verificada utilizando un test de falta de ajuste o “lack of fit”.

Por otra parte, el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y el  $R^2$  ajustado fueron calculados para estimar cuan adecuado resulta el modelo. El  $R^2$  (%) es la proporción de variación en la respuesta atribuida al modelo en lugar de al error aleatorio y se sugiere que, para un buen ajuste del modelo, su valor debe ser mayor que 80 %. Un alto valor de  $R^2$  no siempre implica que el modelo de regresión es bueno. Al agregar una variable al modelo se incrementa el valor de  $R^2$ , independientemente de si la variable adicionada resulta estadísticamente significativa o no. Luego, es aconsejable el uso del parámetro  $R^2$  ajustado (%) a fin de evaluar la adecuación del modelo, el cual debe ser superior al 90 % ([Gan y col., 2007](#)).

### 3.4.6.3. Metodología de optimización

Durante un proceso de optimización, por lo general, varias variables de respuesta deben ser optimizadas. Algunas de estas variables han de ser maximizadas, algunas han de reducirse y otras deben alcanzar un determinado valor. En muchos casos, estas variables de respuesta están compitiendo entre ellas, y la mejora de una respuesta puede tener un efecto opuesto en otra. Si los valores óptimos por cada respuesta se localizan en diferentes regiones, será más difícil encontrar las condiciones que satisfagan todas las variables de respuesta a la vez. Este problema podrá resolverse a través del uso de una función de deseabilidad ([Murphy y col., 2005](#)). Ésta es una metodología multirespuesta que se aplica cuando varias respuestas tienen que ser consideradas al mismo tiempo y es necesario llegar a un compromiso óptimo entre el total de respuestas tomadas en cuenta. Así, para predecir la formulación óptima, se empleó una metodología de “función objetivo o conveniencia”, simbolizada con la letra  $d$ . Esta metodología se basa en el concepto de que la calidad de un producto o proceso tiene múltiples características, manteniéndose todas ellas dentro de los límites “deseados”. Con éste método se determinan las condiciones operativas que proveen los valores de respuesta “más deseables” ([Myers y Montgomery, 2002](#)). Para cada respuesta  $y_n(x_i)$ , la función de conveniencia  $d_n(y_n)$ , asigna números entre 0 y 1 a los posibles valores de  $y_n(x_i)$ , con

$d_n(y_n) = 0$  que representa un valor completamente indeseable y  $d_n(y_n) = 1$  un valor de respuesta completamente deseable o ideal.

En general, la conveniencia de cada respuesta debe ser mayor que cero como condición necesaria para establecer la conveniencia total del sistema. En el intervalo  $[0,1]$  la conveniencia puede tener, según el caso, una variación lineal o no lineal, dependiendo de las condiciones propias del producto o del proceso, que deberá ser previamente definida. Dependiendo de si la respuesta particular predicha  $y_n(x)$  va a ser minimizada, maximizada o asignado un valor objetivo en un rango determinado, se pueden emplear diferentes funciones objetivo  $d_n(y_n)$  (Derringer y Suich, 1980). La Ec.3.2 se empleó para definir el valor óptimo como el máximo de una respuesta. Además, se utilizó la Ec.3.3 para encontrar un mínimo de una respuesta y la Ec.3.4 para encontrar un valor objetivo dentro de un rango deseado para una respuesta.

$$d_n \begin{cases} 0 & ; y_{n,\min} \geq y_n \\ \frac{(y_n - y_{n,\min})}{(y_{n,\max} - y_{n,\min})} & ; y_{n,\min} < y_n < y_{n,\max} \\ 1 & ; y_n = y_{n,\max} \end{cases} \quad \text{Ec. 3.2}$$

$$d_n \begin{cases} 1 & ; y_{n,\min} = y_n \\ \frac{(y_n - y_{n,\max})}{(y_{n,\min} - y_{n,\max})} & ; y_{n,\min} < y_n < y_{n,\max} \\ 0 & ; y_n \geq y_{n,\max} \end{cases} \quad \text{Ec. 3.3}$$

$$d_n \begin{cases} 0 & ; y_{n,\min} > y_n \\ \frac{(y_n - y_{n,\min})}{(y_{n,obj} - y_{n,\min})} & ; y_{n,\min} \leq y_n \leq y_{n,obj} \\ \frac{(y_n - y_{n,\max})}{(y_{n,obj} - y_{n,\max})} & ; y_{n,obj} \leq y_n \leq y_{n,\max} \\ 0 & ; y_n > y_{n,\max} \end{cases} \quad \text{Ec. 3.4}$$

Donde  $y_n$  es una respuesta particular predicha por el modelo;  $y_{n,\max}$  es el valor máximo aceptado para la respuesta  $y_n$ ;  $y_{n,\min}$  es el valor mínimo aceptado para la respuesta  $y_n$ ;  $y_{n,obj}$  es el valor deseado para la respuesta  $y_n$ .

Hay varias formas en las que se pueden combinar las conveniencias individuales  $d_n$ . Una de ellas podría ser la media aritmética. Para el modelo matemático empleado en

este Trabajo de Tesis, se calculó la media geométrica de los valores de conveniencia individuales ([Harrington, 1965](#); [Derriger y Suich, 1980](#), [Ribado y Allen, 2003](#)) para obtener un valor de conveniencia global  $D$  (Ec.3.5):

$$D = \left( \prod_{m=1}^k d_m \right)^{1/k} \quad \text{Ec.3.5}$$

La reacción del consumidor a un producto está basada, en gran medida, en las características menos deseables de dicho producto debido a que son un foco de potenciales problemas y motivo de rechazo ([Harrington, 1965](#)). El valor de  $D$  es el más alto en condiciones donde la combinación de los diferentes criterios a nivel global es óptima y será nulo si al menos uno de los atributos resulta completamente indeseable.

En el presente trabajo, una vez que se calcularon las ecuaciones predictivas de aquellas variables de respuesta que fueron afectadas significativamente por las concentraciones de las mezclas sólida y líquida, se calcularon las funciones objetivo individuales y la función de conveniencia global. Al aplicar esta metodología, se buscó minimizar la actividad acuosa y la firmeza, maximizar la adhesividad, así como alcanzar valores de cohesividad, elasticidad y tiempo de relajación similares a los obtenidos para los rellenos comerciales.

#### 3.4.7. Análisis estadístico

El ANAVA fue realizado por separado sobre las variables dependientes estudiadas, considerando cada formulación como un nivel en un diseño factorial de una vía. Para la comparación de medias simultáneas por pares, se optó por el test de las diferencias mínimas significativas o prueba de Fisher. La significancia se determinó para que un nivel de probabilidad del estadístico F, calculado a partir de los datos, sea inferior al 5 %. Todos los procedimientos estadísticos fueron realizados utilizando el software SYSTAT 12 (SYSTAT, Inc., Evanston, IL). Los datos experimentales fueron informados como valores medios  $\pm$  desvío standard.

### 3.5. Resultados y Discusión

#### 3.5.1. Parámetros de textura de los rellenos comerciales

Con el objetivo de obtener el valor de conveniencia global  $D$  (Ec.3.5), se evaluaron diferentes rellenos comerciales para conocer los valores de los parámetros de textura aceptables. Este análisis permitió definir cuáles de las respuestas obtenidas deberían ser maximizadas, minimizadas o si se debería fijar un valor deseado al momento de encontrar la formulación óptima para los rellenos a desarrollar en este Trabajo de Tesis. Los valores medios de la adhesividad, cohesividad, dureza, elasticidad y tiempo de relajación, y sus correspondientes errores estándar, se muestran en la Tabla 3.3.

**Tabla 3.3:** Valores de adhesividad (J), cohesividad, dureza (N), elasticidad y tiempo de relajación (s) de muestras de rellenos comerciales

Relleno comercial	Adhesividad	Cohesividad	Dureza	Elasticidad	Tiempo de relajación
<i>Oreo</i> <sup>®</sup>	0,369±0,009 <sup>a</sup>	1,035±0,019 <sup>d</sup>	11,604±0,407 <sup>a</sup>	0,187±0,001 <sup>c</sup>	1,220±0,047 <sup>c</sup>
<i>Maná</i> <sup>®</sup>	0,061±0,002 <sup>c</sup>	1,440±0,023 <sup>b</sup>	9,653±0,509 <sup>b</sup>	0,178±0,005 <sup>d</sup>	1,260±0,050 <sup>c</sup>
<i>Panchitas</i> <sup>®</sup>	0,211±0,010 <sup>b</sup>	1,283±0,008 <sup>c</sup>	11,961±0,321 <sup>a</sup>	0,184±0,003 <sup>c</sup>	1,460±0,094 <sup>b</sup>
<i>Melba</i> <sup>®</sup>	0,009±0,003 <sup>d</sup>	1,544±0,034 <sup>a</sup>	7,321±0,335 <sup>d</sup>	0,309±0,009 <sup>a</sup>	1,720±0,036 <sup>a</sup>
<i>Duquesa</i> <sup>®</sup>	0,050±0,006 <sup>c</sup>	1,237±0,014 <sup>c</sup>	9,085±0,029 <sup>c</sup>	0,273±0,013 <sup>b</sup>	1,864±0,057 <sup>a</sup>

Medidas con distintos supraíndices en una misma columna presentan diferencias significativas ( $P < 0,05$ )

Se observó que los parámetros de textura analizados variaban significativamente según la marca de relleno comercial estudiado ( $P < 0,05$ ). Los rellenos tipo *Oreo* y *Panchitas* resultaron ser los más adhesivos y los de mayor dureza. Los rellenos con menor adhesividad, como *Melba* y *Duquesa*, fueron los que también presentaron los mayores valores de elasticidad y de tiempo de relajación.

La cohesividad también fue un parámetro importante a determinar, ya que según [Manley \(2005\)](#), un producto se considera cohesivo cuando su estructura permanece unida bajo la aplicación de una fuerza externa. Un producto con una cohesividad adecuada será más tolerante al proceso de manufactura, envasado y transporte, permaneciendo en su forma esperada al momento de arribar al consumidor.

### 3.5.2. Parámetros de textura de las formulaciones desarrolladas

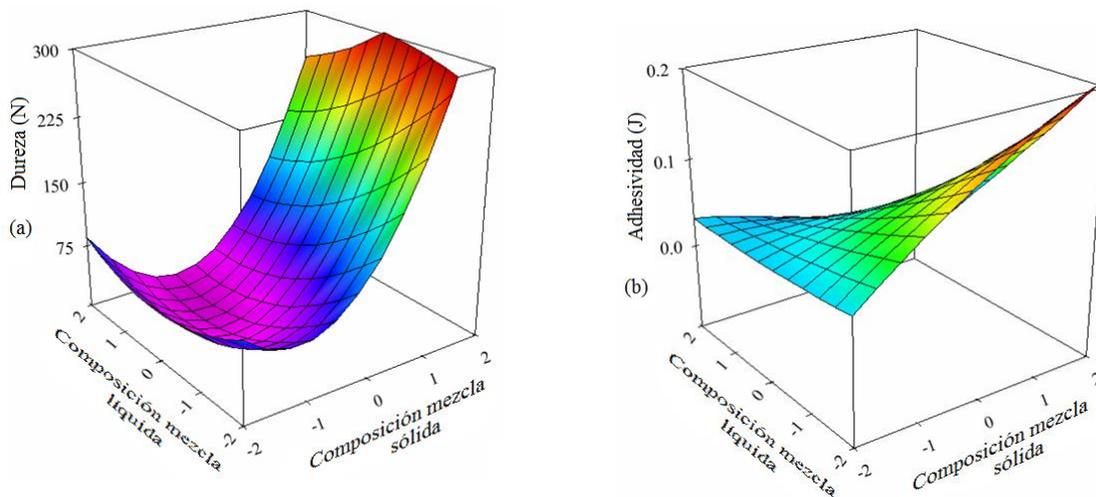
Los valores medios de los parámetros de textura analizados y sus correspondientes errores estándar para las 9 formulaciones ensayadas y replicados, se muestran en la Tabla I.1 del Anexo I. Se observó que los parámetros obtenidos a partir del análisis del perfil de textura (TPA) y del ensayo de compresión-relajación para las formulaciones propuestas, variaron significativamente con los niveles de concentraciones de las mezclas seca y líquida empleados ( $P < 0,05$ ). Las concentraciones de las mezclas seca y líquida estudiadas permitieron obtener un amplio rango de dureza en las muestras (0,919 - 20,020 N). Esto es sumamente importante en esta etapa, ya que un posible escalado en la producción de rellenos de galletitas puede traer aparejado cambios en diversas propiedades fisicoquímicas, como la dureza, que deben ser corregidos modificando la formulación. En este caso, un pequeño cambio en los niveles de la composición de la mezcla de ingredientes secos o en la composición de la mezcla de ingredientes líquidos puede servir para corregir una modificación importante en la dureza del producto obtenido. Se ajustaron las variables dependientes e independientes a un modelo polinómico de segundo orden (Ec.3.1) y se examinó la calidad del ajuste del modelo a los datos experimentales.

A partir del análisis de varianza se analizó la falta de ajuste y se determinó la significancia de los efectos lineales, cuadráticos y de interacción de las variables independientes para cada una de las variables de respuesta. El ANAVA mostró que el estudio de falta de ajuste resultó no significativo para todos los modelos de superficies de respuesta con un nivel de confianza del 95 %. En la Tabla 3.4 se muestran los coeficientes de regresión que resultaron significativos mediante el procedimiento “paso hacia atrás” para los parámetros de textura. Los resultados del ensayo de falta de ajuste, que es una medida de las fallas de un modelo para representar datos en el dominio experimental ([Varnalis y col., 2004](#)), fueron satisfactorios. Los modelos matemáticos propuestos para todas las variables de respuesta presentaron una muy buena adecuación según puede observarse en la Tabla 3.4, obteniendo una alta proporción de variabilidad ( $R^2 > 0,96$ ). Los valores de  $R^2$  y  $R^2$  ajustado no difieren dramáticamente, lo cual indica que no han sido incluidos términos no significativos en los modelos.

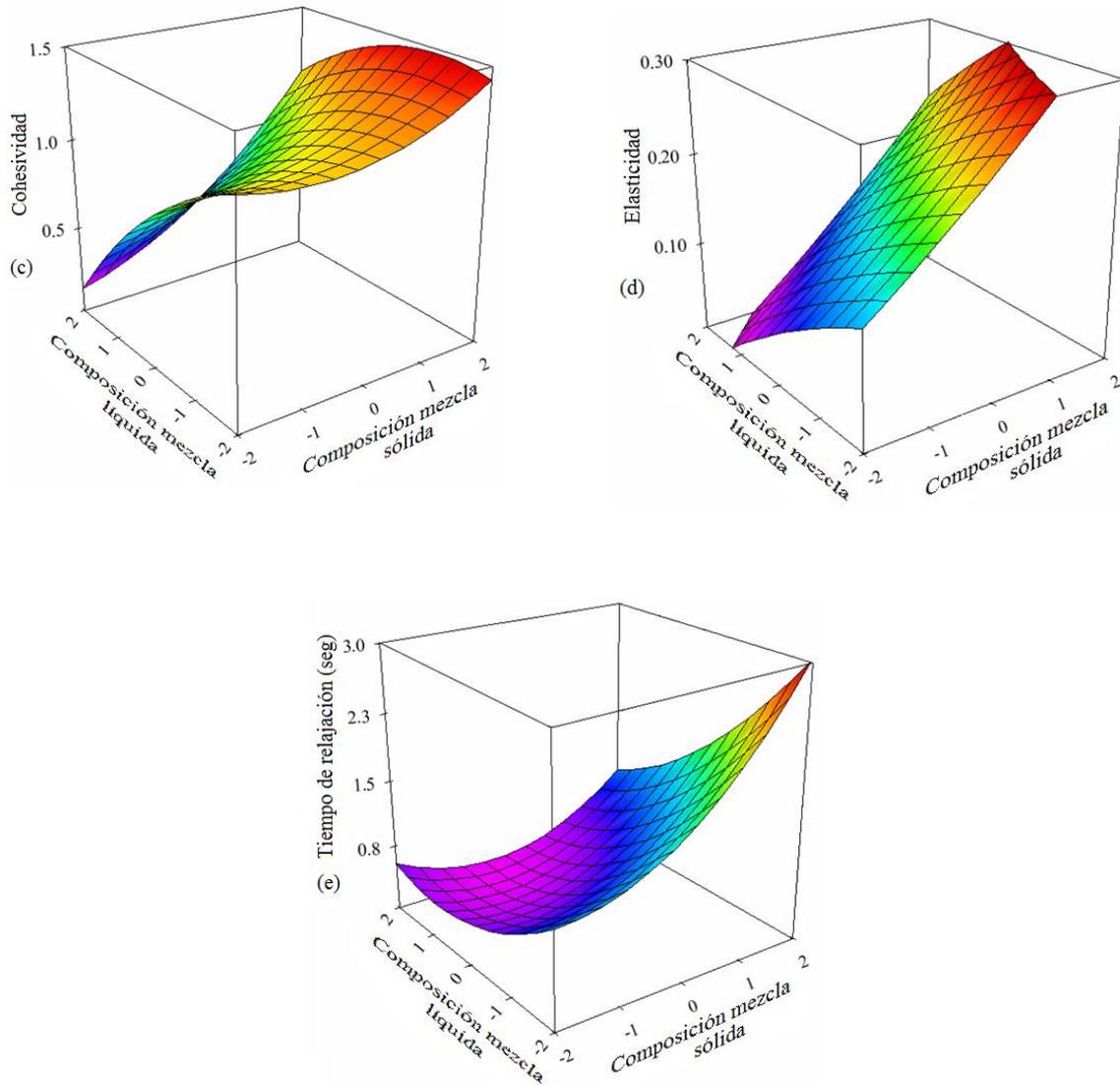
**Tabla 3.4:** Coeficientes de regresión significativos de los modelos propuestos para los parámetros de textura (adhesividad (J), cohesividad, dureza (N), elasticidad y tiempo de relajación (s)), estimados en función de las concentraciones codificadas, y sus correspondientes desviaciones estándar

Coefficientes	Adhesividad	Cohesividad	Dureza	Elasticidad	Tiempo de relajación
$\beta_0$	0,062	0,975	34,666	0,174	0,594
$\beta_1$	0,008	0,152	62,564	0,063	0,296
$\beta_2$	-0,036	-0,173	-24,633	-0,042	-0,328
$\beta_{11}$	-	-	37,254	-	0,122
$\beta_{22}$	-	-	-	-	-
$\beta_{12}$	-0,017	-	-11,470	-	-
Falta de ajuste	0,42	0,45	0,26	0,39	0,21
$R^2$ (%)	98,0	96,8	99,4	99,3	97,2
$R^2$ ajustado (%)	96,0	93,7	98,8	98,9	94,5

La variación de las distintas propiedades texturales informadas en la Tabla 3.4 pueden observarse en las superficies de respuesta presentadas en las Fig. 3.10. Los parámetros de textura se vieron afectados por la composición de la mezcla seca y la mezcla líquida. La combinación de ingredientes en la mezcla seca tuvo mayor influencia sobre los parámetros de dureza y elasticidad ( $\beta_1$ ), mientras que la combinación de ingredientes en la mezcla líquida la tuvo sobre la adhesividad, cohesividad y tiempo de relajación ( $\beta_2$ ).



**Fig. 3.10:** Superficies de respuesta correspondientes a: (a) dureza (N), (b) adhesividad (J), (c) cohesividad, (d) elasticidad y (e) tiempo de relajación (s) en función del contenido codificado de mezcla seca y líquida



**Fig. 3.10:** Superficies de respuesta correspondientes a: **(a)** dureza (N), **(b)** adhesividad (J), **(c)** cohesividad, **(d)** elasticidad y **(e)** tiempo de relajación (s) en función del contenido codificado de mezcla seca y líquida

La composición de la mezcla líquida en la formulación ejerció un efecto lineal negativo sobre la adhesividad, mientras que el efecto lineal de la mezcla seca fue positivo. Esta variable de respuesta tiene un patrón curvilíneo, asociado al coeficiente de interacción negativo significativo ( $\beta_{12}$ ). Así, la adhesividad varía principalmente con la mezcla líquida y con las interacciones producidas entre los ingredientes secos y líquidos. La adhesividad es un parámetro que resulta de gran importancia ya que es la propiedad que favorece la unión entre el relleno de galletitas y las tapas (Manley, 2005). La mezcla de ingredientes líquidos no influyó sobre la adhesividad de los rellenos sin almidón, con un gran contenido de azúcar (Fig. 3.10b). Por otro lado, la adhesividad se incrementó con

el contenido de almidón en las muestras ricas en manteca de cacao, pero disminuyó con el contenido de almidón en las muestras ricas en solución de gelatina. Este comportamiento puede ser atribuido a la habilidad de la gelatina de formar estructuras tipo gel, atrapando en su interior las moléculas de almidón y sacarosa y evitando que éstas se adhieran a la superficie de la sonda.

Es importante recordar que un valor de código elevado para la variable  $x_1$  corresponde a una composición de mezcla seca rica en almidón de maíz, mientras que un valor de código elevado para la variable  $x_2$  corresponde a una composición de mezcla líquida rica en solución de gelatina (Tabla 3.2). La variación en las composiciones de las mezclas seca y líquida mostraron un efecto similar en los coeficientes de regresión (Tabla 3.4) sobre la cohesividad (Fig. 3.10c) y la elasticidad (Fig. 3.10d). Ambas variables de respuesta mostraron una dependencia lineal con las variables independientes (Tabla 3.4) e incrementaron sus valores con el incremento del contenido de almidón en la mezcla seca y disminuyeron sus valores con el aumento del contenido de solución de gelatina en la mezcla líquida de la formulación. Dado que la cohesividad es una función directa del trabajo requerido para vencer los enlaces internos del material ([Steffe, 1996](#)), de acuerdo a estos resultados, el almidón y la manteca de cacao serían los principales ingredientes encargados de mantener la estructura de los rellenos. Los menores valores de cohesividad y elasticidad fueron obtenidos a altas concentraciones de azúcar en la mezcla seca, lo cual sugiere que las moléculas de azúcar podrían interferir con la formación de la estructura de los rellenos.

Los coeficientes de regresión de los modelos propuestos para la dureza y el tiempo de relajación indican que la composición de la mezcla seca tuvo un efecto positivo tanto en el coeficiente lineal como en el coeficiente cuadrático (Tabla 3.4). En las figuras 3.10a y 3.10e puede observarse que ambas variables de respuesta incrementaron sus valores a mayores valores codificados de nivel de mezcla seca, lo cual equivale a una mayor concentración de almidón de maíz (Tabla 3.2). La superficie de la Fig. 3.10e, muestra que el tiempo de relajación de las muestras crece rápidamente a medida que aumenta el contenido de manteca de cacao empleado en la mezcla líquida (prevaleciendo la característica viscosa del relleno). Por otra parte, un efecto lineal negativo de la composición de la mezcla de ingredientes líquidos se observa sobre la dureza, según el cual, mayores cantidades de solución de gelatina y menores cantidades de manteca de cacao dan lugar a una disminución de la dureza. Los resultados también

indican que el coeficiente de interacción resultó negativo, de modo que la dureza depende de ambos factores. Las mezclas secas ricas en almidón, y en menor medida, las mezclas líquidas ricas en manteca de cacao, incrementan la dureza y el tiempo de relajación de los rellenos.

### 3.5.3. Actividad acuosa

Los valores medios de actividad acuosa ( $a_w$ ) y sus correspondientes errores estándar obtenidos para los rellenos comerciales y para las formulaciones analizadas se presentan en las Tablas 3.5 y 3.6, respectivamente.

**Tabla 3.5:** Valores de actividad acuosa ( $a_w$ ) de rellenos comerciales

Propiedad	<i>Oreo</i> ®	<i>Maná</i> ®	<i>Panchitas</i> ®	<i>Melba</i> ®	<i>Duquesa</i> ®
$a_w$ (25 °C)	0,390±0,003 <sup>c</sup>	0,407±0,007 <sup>d</sup>	0,451±0,003 <sup>b</sup>	0,415±0,003 <sup>c</sup>	0,476±0,003 <sup>a</sup>

En cuanto a los valores experimentales de  $a_w$  para las formulaciones ensayadas, se ajustaron los datos de  $a_w$  obtenidos empleando un modelo polinómico de segundo orden y se examinó la calidad del ajuste de dicho modelo.

**Tabla 3.6:** Valores de actividad acuosa ( $a_w$ ) de las formulaciones ensayadas con diferentes niveles de composición de mezcla seca y mezcla líquida

Formulación	$a_w$ (25 °C)
1	0,740±0,031 <sup>c</sup>
2	0,903±0,027 <sup>a</sup>
3	0,686±0,040 <sup>d</sup>
4	0,835±0,022 <sup>b</sup>
5	0,834±0,006 <sup>b</sup>
6	0,748±0,006 <sup>c</sup>
7	0,600±0,004 <sup>c</sup>
8	0,902±0,007 <sup>a</sup>
9	0,841±0,003 <sup>b</sup>
10	0,820±0,014 <sup>b</sup>
11	0,850±0,011 <sup>b</sup>

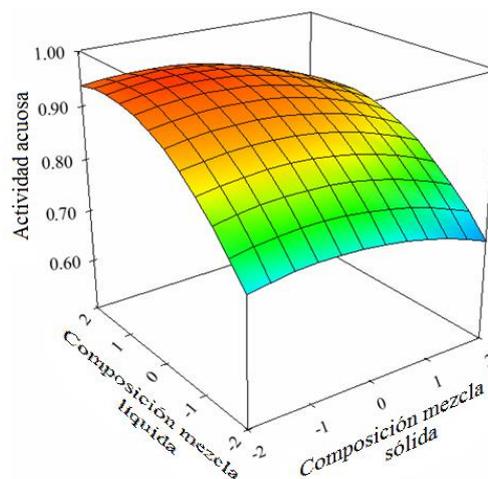
Los valores de actividad acuosa de los rellenos comerciales variaron en un rango entre 0,390 - 0,476. Al igual que para los parámetros de textura, se ajustaron los datos experimentales de actividad acuosa a un modelo polinómico de segundo orden y se

examinó la calidad del ajuste del modelo. A partir del análisis de varianza se analizó la falta de ajuste y se determinó la significancia de los efectos lineales, cuadráticos y de interacción de las variables independientes para la variable de respuesta. Nuevamente, la falta de ajuste resultó no significativa para el modelo obtenido, con un nivel de confianza del 95 %. En la Tabla 3.7 se muestran los coeficientes de regresión que resultaron significativos mediante el procedimiento “paso hacia atrás” para la actividad acuosa. La proporción de variabilidad resultó  $R^2 > 80 \%$  y el  $R^2$  ajustado fue de 93,3 %, lo cual indica que el modelo es adecuado para representar el comportamiento observado experimentalmente.

**Tabla 3.7:** Coeficientes de regresión del modelo propuesto para la actividad acuosa ( $a_w$ ), estimados en función de las concentraciones codificadas, y sus correspondientes desviaciones estándar

Coeficientes	$a_w(25\text{ °C})$
$\beta_0$	0.837
$\beta_1$	-0.030
$\beta_2$	0.092
$\beta_{11}$	-
$\beta_{22}$	-0.038
$\beta_{12}$	-
Falta de ajuste	0,23
$R^2$ (%)	96,7
$R^2$ ajustado (%)	93,3

La variación de la actividad acuosa con las variables consideradas puede observarse en la superficie presentada en la Fig. 3.11.



**Fig. 3.11:** Superficie de respuesta correspondiente a la actividad acuosa en función del contenido codificado de mezclas seca y líquida

Puede verse que la composición de la mezcla líquida empleada en la formulación de los rellenos tuvo una mayor influencia sobre este parámetro respecto a la composición de la mezcla seca, lo cual corresponde a un mayor valor del coeficiente presentado en la Tabla 3.7. De acuerdo a este criterio, el parámetro  $a_w$  fue afectado por la composición de la mezcla líquida, con un efecto lineal positivo y un efecto cuadrático negativo. Los resultados indican que la actividad acuosa aumenta continuamente a medida que se incrementa la proporción de solución de gelatina en la mezcla líquida. Es decir, la actividad acuosa aumenta cuando el contenido acuoso es mayor. Por otra parte, se observa un efecto lineal negativo sobre los valores de  $a_w$  al incrementar la concentración de almidón de maíz en la muestra seca. Para una dada concentración de mezcla líquida, los rellenos ricos en azúcar siempre presentaron mayores valores de  $a_w$  que los rellenos ricos en almidón.

#### **3.5.4. Optimización de la formulación**

A partir de los valores obtenidos con las muestras de rellenos comerciales analizadas anteriormente en la Sección 3.5.1 (Tabla 3.3), se establecieron valores de referencia para los distintos parámetros analizados. Estos valores de referencia se utilizaron para establecer un posible "valor objetivo" para los diferentes parámetros, con el fin de obtener un relleno experimental con características similares a las comerciales. Los parámetros de los rellenos seleccionados fueron considerados como base de los valores objetivo, ya que los rellenos comerciales se venden con éxito en Argentina y son ampliamente aceptados por los consumidores.

Una vez establecidas las ecuaciones predictivas individuales mediante el hallazgo de los coeficientes adecuados (ver Tablas 3.4 y 3.7), se definieron seis funciones objetivo para las variables analizadas: dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad, tiempo de relajación y actividad acuosa. La Tabla 3.8 muestra los criterios de optimización empleados para cada respuesta. La actividad acuosa y la dureza fueron minimizadas, la adhesividad fue maximizada, y los rangos de los parámetros texturales de cohesividad, elasticidad y tiempo de relajación fueron establecidos para lograr valores similares a los de los rellenos comerciales previamente analizados.

**Tabla 3.8:** Criterios empleados para obtener las funciones de conveniencia individual ( $d_n$ )

VARIABLES DE RESPUESTA	CRITERIO DE OPTIMIZACIÓN
Adhesividad (J)	Máximo
Cohesividad	1,035-1,544
Dureza (N)	Mínimo
Elasticidad	0,178-0,309
Tiempo de relajación (s)	1,220-1,864
$a_w$ (25 °C)	Mínimo

Cabe notar que el criterio de minimizar la actividad acuosa pareciera, en principio, contradecir al criterio de maximizar la adhesividad del relleno, dado que el contenido de agua contribuye a aumentar la adhesividad a expensas de incrementar el valor de la actividad acuosa. Sin embargo, los criterios de optimización establecidos para las demás variables oficiaron de mecanismo de regulación entre estos dos objetivos aparentemente contrapuestos.

Para obtener las composiciones de las mezclas seca y líquida que resulten óptimas, es decir, que permitan obtener un producto que satisfaga de manera simultánea los seis criterios establecidos en la Tabla 3.8, se realizó el siguiente procedimiento: primero se obtuvieron los modelos polinómicos de cada variable. Luego, mediante la optimización en base a estos criterios, se encontró que la combinación óptima de ingredientes básicos a incorporar a los rellenos correspondió a:

- ✚ Composición de la mezcla de ingredientes secos: 23,16 % almidón de maíz y 46,84 % azúcar impalpable.
- ✚ Composición de la mezcla de ingredientes líquidos: 0,87 % solución de gelatina y 29,13 % manteca de cacao.

Esta optimización presentó un valor de conveniencia global  $D = 0,702$ . Este valor se encuentra cercano a la unidad y es un indicador de cuán próxima se halla la formulación optimizada de cumplir de manera simultánea con todos los criterios establecidos.

### 3.5.5. Validación del modelo

Una vez determinada la formulación óptima, se la empleó para elaborar rellenos de galletitas y se analizaron todas las variables de respuesta de este producto. Los valores experimentales promedio de cada respuesta y los predichos por los modelos se

diferenciaron estadísticamente ( $P > 0,05$ ). Ambos conjuntos de valores se presentan en la Tabla 3.9, junto con los valores de conveniencia individual ( $d_n$ ) obtenidos. Al observar estos resultados, se puede concluir que el procedimiento matemático elegido predijo adecuadamente los atributos de calidad estudiados. A excepción de la dureza y la actividad acuosa, los restantes parámetros de textura obtenidos a partir de un producto elaborado con un 23,16 % de almidón de maíz, 46,84 % de azúcar impalpable, 0,87 % de solución de gelatina (8,33 %) y 29,13 % de manteca de cacao, resultaron similares a los obtenidos para los productos industriales. Esto se debe al uso de solución de gelatina como gelificante entre los ingredientes empleados en la formulación a optimizar.

**Tabla 3.9:** Valores predichos y experimentales de adhesividad (J), cohesividad, dureza (N), elasticidad, tiempo de relajación (s) y actividad acuosa ( $a_w$ ) obtenidos para la formulación optimizada. Se incluyen las funciones de conveniencia individual ( $d_n$ ) de cada factor

Parámetros	Valor predicho	$d_n$	Valor experimental medio	Intervalo de confianza ( $\alpha = 0,05$ )
Adhesividad	0,127	0,687	0,120	0,111-0,128
Cohesividad	1,224	0,622	1,220	1,215-1,225
Dureza	15,6	0,707	15,465	15,001-15,929
Elasticidad	0,278	0,630	0,266	0,253-0,279
Tiempo de relajación	1,497	0,991	1,486	1,470-1,502
$a_w$ (25 °C)	0,630	0,632	0,640	0,630-0,650

Productos con valores de  $a_w < 0,75$  se pueden considerar estables frente al deterioro microbiano y serán productos estables a temperatura ambiente ([Subramaniam y Henderson, 2000](#)). En este sentido, [González Remedi, \(2010\)](#) observó que las pastas untables elaboradas a partir de semillas de zapallo con valores de actividad acuosa cercanos a 0,78 resultaron ser estables tanto desde el punto de vista microbiológico, como de la activación de las reacciones de deterioro por un período de 2,5 meses de almacenamiento.

### 3.6. Conclusiones del Capítulo

- ✚ La metodología de superficie de respuesta permitió el modelado matemático de los principales parámetros de calidad de rellenos de galletitas elaborados a partir de ingredientes básicos naturales.

- Las respuestas determinadas fueron la adhesividad, cohesividad, dureza, elasticidad, tiempo de relajación y actividad acuosa. Estos atributos fueron afectados tanto por los cambios en la combinación de ingredientes secos como por los cambios en el contenido de la mezcla de ingredientes líquidos.
- Se aplicó la metodología de función objetivo para encontrar la combinación óptima entre las mezclas seca y líquida a ser incorporadas a la formulación del producto y las respuestas predichas fueron validadas experimentalmente.
- Utilizando la formulación que contenía la relación óptima de almidón, azúcar impalpable, manteca de cacao y solución de gelatina, se obtuvo un producto con características similares a los productos tradicionales, a partir de la combinación de cuatro ingredientes básicos naturales.
- La formulación óptima obtenida contiene un 23,16 % de almidón de maíz, 46,84 % de azúcar impalpable, 0,87 % de solución de gelatina y 29,13 % de manteca de cacao.

## CAPÍTULO 4

### **Desarrollo de rellenos de galletitas dulces con incorporación de fibras dietarias y contenido reducido de grasa y sacarosa**

#### **4.1. Introducción**

En términos generales se reconoce que, en las industrias agroalimentarias, la innovación tecnológica (ya sea de producto, proceso u organizacional), está sujeta a restricciones específicas, asociadas a la base natural de su producción, al carácter químico y biológico de los procesos productivos agropecuarios y a las características del consumo de alimentos. A diferencia de lo que ocurre con otros productos, los consumidores demandan nuevos alimentos. Esto es, productos saludables y de conveniencia, pero que no sean demasiado diferentes a los tradicionales, fenómeno conocido como “inercia del consumo alimentario” ([Alem Fonseca y col., 2024](#)).

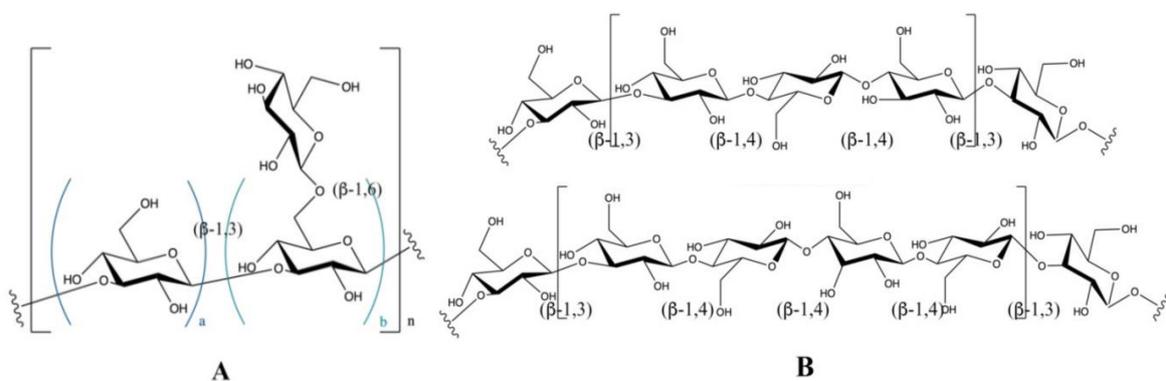
Como se explicó durante la introducción general, las galletitas rellenas son productos de consumo masivo y cuentan con una amplia variedad de opciones. Dicha versatilidad le confiere al producto una excelente capacidad de constituir una matriz sobre la cual proponer alternativas para incrementar la calidad nutricional del producto para los consumidores habituales, mediante la adecuada selección de los ingredientes a utilizar en las formulaciones. Es por eso que, a fin de desarrollar un relleno reducido en grasa y azúcar pero con alto contenido de fibra dietaria, se eligieron los siguientes ingredientes: fibra de avena, goma xántica y miel.

#### **4.1.1. Propiedades y características de la fibra de avena**

La *Avena sativa L.* es una especie de planta fanerógama que se cultiva principalmente por su semilla, la cual se denomina comúnmente avena ([Ferranti y Velotto, 2023](#)). Se consume arrollada, triturada o molida. La avena es un cereal saludable y nutritivo que se

caracteriza por un alto contenido en vitaminas, minerales y fibra soluble. Estas propiedades nutricionales hacen de la avena una parte importante de una dieta equilibrada y determinan una demanda en constante crecimiento de diversos productos derivados de la avena. Los subproductos de la avena se pueden procesar químicamente para obtener productos químicos renovables y sostenibles para la industria, como la fibra de avena ([Ferranti y Velotto, 2023](#)).

Desde el punto de vista químico, la avena es una fibra fermentable y soluble ya que contiene  $\beta$ -glucano ([Figueroa y Dello Staffolo, 2019](#)). Además, presenta avenantramidas (AVNS) que son fitoalexinas que generalmente se sintetizan en la avena y otras plantas en respuesta a patógenos. Estos metabolitos secundarios están asociados a propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias y antiangiogénicas ([Chenfei y col., 2015](#); [Marmouzi y Ezzat, 2018](#); [Sumayya y col., 2021](#)). El  $\beta$ -glucano es un polisacárido que se encuentra en la subaleurona y en las paredes celulares del endospermo de las semillas de cereales, como la avena, la cebada, el centeno y el trigo. Los  $\beta$ -glucanos de los cereales son homopolímeros lineales de glucosa unidos por enlaces glucosídicos  $\beta(1\rightarrow4)$  y  $\beta(1\rightarrow3)$ . Alrededor del 90 % de las unidades de glucosa están dispuestas en bloques de dos o tres unidades enlazadas consecutivas ( $1\rightarrow4$ ) separadas por un solo enlace ( $1\rightarrow3$ ), que forma los dos componentes básicos de los  $\beta$ -glucanos de cereales: un celotriosilo (DP3) y una unidad de celotetraosilo (DP4), como se muestra en la Fig. 4.1 ([Nie y col., 2018](#)). El resto de la cadena polimérica, menos del 10 %, se compone principalmente de secuencias celulósicas más largas que van desde 5 hasta 14 residuos de  $\beta$ -D-Glucopiranosido.



**Fig. 4.1:** Estructuras químicas de los  $\beta$ -glucanos: **(A)** Cadena principal del  $\beta$ -glucano con enlaces  $\beta(1\rightarrow3)$  con diferente grado de ramificación de la glucosa con enlaces  $\beta(1\rightarrow6)$ . **(B)** Cadena principal del  $\beta$ -glucano con enlaces  $\beta(1\rightarrow3)$  y  $\beta(1\rightarrow4)$

La relación DP3/DP4, conocida como “la huella dactilar de cada grano”, en el  $\beta$ -glucano de avena suele ser de 2:1; mientras que en cebada y trigo son 3:1 y 4:1, respectivamente ([Cui y Roberts, 2009](#)). El  $\beta$ -glucano posee propiedades tanto nutricionales como funcionales. Produce soluciones de alta viscosidad utilizando concentraciones relativamente bajas (1 %) y es empleado en la industria alimentaria como agente espesante ([Wood, 1984](#); [Nie y col., 2018](#)). Una relación alta (DP3/DP4) provoca reducciones en la solubilidad, promoviendo las propiedades de formación de gel ([Brennan y Cleary, 2005](#)). Las soluciones de  $\beta$ -glucano de avena de alto peso molecular exhiben un comportamiento de flujo viscoelástico típico y no forman un gel dentro de un período de tiempo razonable ([Cui y Roberts, 2009](#)).

El consumo de avena introduce una alternativa hipocalórica en dietas para bajar de peso ([Greenway y col., 2007](#); [Saltzman y col., 2001](#)), aumenta la saciedad, reduce los niveles de las lipoproteínas transportadoras de colesterol de baja densidad (LDL) ([Davy y col., 2002](#)), reduce la grasa corporal ([Weickert y col., 2006](#)), disminuye los factores de riesgo de enfermedad coronaria ([Chang y col., 2013](#); [Zhang y col., 2012](#)) y aumenta la sensibilidad a la insulina ([Chen y col. 2021](#); [Huang y col., 2011](#); [Gao y col., 2009](#)).

#### 4.1.2. Propiedades y características de la goma xantano

La goma xántica o xantano es un hidrocólido exopolisacárido producido por fermentación aeróbica por la bacteria *Xanthomonas campestris*, la cual se encuentra comúnmente en las hojas de plantas de la familia de las coles ([Frankel, 1998](#)). En la naturaleza, este polímero es producido para mantener a la bacteria adherida a diferentes vegetales.

Desde el punto de vista químico puede considerarse un polielectrolito aniónico, cuya estructura se muestra esquemáticamente en la Fig. 4.2. El xantano está formado por unidades de D-glucosa, D-manosa y ácido D-glucurónico ([Lupano, 2013](#)). En la molécula de xantano, cada dos unidades de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal, se une en la posición O-3 la unidad de trisacárido  $\beta$ -D-manopiranosil-(1,4)- $\beta$ -D-glucopiranosil-(1,2)-6-O-acetil- $\beta$ -D-mano-piranosilo. Alrededor de la mitad de las unidades  $\beta$ -D-manopiranosilo terminales tienen una molécula de ácido pirúvico unida como acetal 4,6-cíclico ([BeMiller y Whistler, 1996](#)).

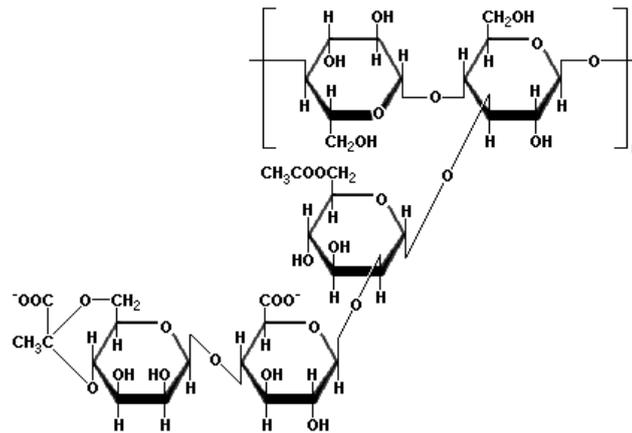


Fig. 4.2: Estructura molecular de la goma xántica

La goma xántica se vende como un polvo blanquecino con un contenido de humedad de aproximadamente 11 % y un contenido de cenizas que puede variar entre un 6 y 9 %. Las soluciones de xantano tienen propiedades viscoelásticas similares a las de un gel débil y pueden desarrollar viscosidades extremadamente altas incluso a bajas concentraciones. También presentan una estabilidad excepcional durante el calentamiento, incluso en presencia de sales y/o ácidos. A medida que aumenta la temperatura, la viscosidad de la solución disminuye pero se recupera casi por completo al enfriarse ([Wüstenberg, 2015](#)). El xantano es muy utilizado en la industria alimentaria por ser: compatible con la mayoría de los ácidos orgánicos y otros hidrocoloides de uso alimentario; resistente a las enzimas (por ejemplo, amilasas, proteasas, pectinasas y celulasas) y más estable que otros espesantes ([Wüstenberg, 2015](#)). Entre sus principales características de importancia tecnológica podemos mencionar su solubilidad en agua fría o caliente, alta viscosidad a bajas concentraciones, solubilidad y estabilidad en sistemas ácidos, excelente compatibilidad con la sal, interacción con otras gomas, capacidad de estabilizar suspensiones y emulsiones y buena estabilidad de las soluciones frente a la congelación/descongelación ([Kwon y col., 1987](#)).

Como se mencionó anteriormente en los Capítulos 1 y 3, es común el uso de gomas en las formulaciones de los rellenos a fin de reducir la migración de agua entre los componentes de los alimentos compuestos cuando éstos tienen distintos contenidos de humedad ([Subramaniam y Henderson, 2000](#)).

### 4.1.3. Propiedades y características de la miel

En el artículo 782 del Capítulo X del Código Alimentario Argentino, se define a la miel como un producto alimenticio elaborado por las abejas melíferas a partir del néctar de las flores o de las secreciones procedentes de partes vivas de las plantas, que las abejas recogen, transforman, combinan con sustancias específicas propias, almacenan y dejan madurar en los panales de la colmena.

Como alimento, la miel es mundialmente consumida por ser sumamente apetitosa, agradable al paladar, aromática y dulce. Bajo condiciones apropiadas, es uno de los alimentos más estables y puede almacenarse durante años ([Singh y Singh, 2018](#)). Este alimento natural está compuesto principalmente de azúcares y otros constituyentes tales como enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos (predominantemente ácido glucónico y ácido cítrico), carotenoides, vitaminas, minerales y sustancias aromáticas. La composición, el color, aroma y sabor de la miel dependen principalmente del tipo de flor utilizado por las abejas, la región geográfica, el clima y las especies de abejas involucrados en su producción ([da Silva y col., 2016](#)). Asimismo, estos atributos también dependen de las condiciones de procesamiento, manipulación, envasado y del tiempo de almacenamiento. En casi todos los tipos de miel, la fructosa es el hidrato de carbono preponderante ([Escuredo y col., 2014](#)). El sabor de la miel es producido por mezclas complejas de compuestos volátiles. Además, es rica en flavonoides y ácidos fenólicos que exhiben una amplia gama de propiedades biológicas y actúan como antioxidantes naturales ([Azman y Zakaria, 2019](#); [Patrignani y col., 2022](#); [Nikhat y Fazil, 2022](#)). Todas las mieles tienen una ligera acidez como resultado de una composición de ácidos orgánicos aproximada de 0,57 %. Estos ácidos orgánicos derivan de los azúcares provenientes del néctar, transformados por las enzimas secretadas por las abejas durante la elaboración de la miel. La miel contiene pequeñas cantidades de vitaminas que se conservan bien debido al bajo pH del medio ([Bonté y Desmoulière, 2013](#)), especialmente las vitaminas del complejo B provenientes de los granos de polen en suspensión. Las vitaminas que se encuentran en la miel son: tiamina (B1), riboflavina (B2), ácido nicotínico (B3), ácido pantoténico (B5), piridoxina (B6), biotina (B8) y el ácido fólico (B9). La vitamina C también está presente en casi todos los tipos de miel y ha sido evaluada principalmente debido a su efecto antioxidante ([Majtan y col., 2020](#)).

Varios minerales se han detectado en diferentes tipos de mieles y su contenido varía entre 0,04 y 0,20 % ([Ajibola y col., 2012](#)). Estos valores reflejan los contenidos de oligoelementos presentes en el suelo del cual provienen las plantas de las que las abejas recolectan su comida y puede indicar el origen geográfico y botánico de una miel específica ([Kek y col., 2017](#); [Escuredo y col., 2014](#); [Madejczyk y Barankiewicz, 2008](#)). El potasio es el elemento más abundante, que corresponde en general a un tercio del contenido mineral total encontrado en la miel. En cantidades más pequeñas, también se encuentra sodio, hierro, cobre, silicio, manganeso, calcio y magnesio, todos ellos asociados a diversas reacciones bioquímicas en los sistemas biológicos ([Ajibola y col., 2012](#)).

Diversos estudios han sugerido una serie de efectos beneficiosos para la salud humana asociadas al consumo de miel, tales como propiedades antitumorales ([Puścion-Jakubik y col., 2022](#); [Jaganathan y col., 2015](#)), antiinflamatorias ([Van Den Berg y col., 2012](#)), antivirales ([Watanabe y col., 2014](#)), antibacterianas, hipoglucemiantes, antihipertensivas ([Ilia y col., 2021](#)) y aumento del potencial antioxidante del suero sanguíneo ([Oršolić, 2009](#); [Kus y Ruiz., 2020](#)). Por lo tanto, la importancia de la ingesta de miel ha renovado últimamente el interés en su investigación ([Seraglio y col., 2021](#)).

La calidad de las mieles argentinas es mundialmente reconocida. Argentina es el segundo principal exportador de mieles después de China ([Soto Muciño y col., 2015](#)). Así, la miel es un insumo regional de fácil adquisición ([Patrignani, 2016](#)). En la industria alimentaria, la miel es un alimento ampliamente difundido y aceptado por los consumidores. Su gusto dulce, sabor suave y atractivo color hacen de este alimento un sustituto del azúcar generalmente bien recibido. Sus características físicas como alta viscosidad, pegajosidad, poder edulcorante y poder antibacteriano, se deben a las elevadas concentraciones de azúcares simples disueltos ([White, 1974](#)). También contribuye a humectar los alimentos, elimina la sequedad y mejora la textura de los preparados de confitería. La miel tiene generalmente una actividad acuosa entre 0,50 y 0,65 ([Subbiah y col., 2020](#)).

Todas estas características, sumadas a los efectos beneficiosos para la salud y a sus propiedades antimicrobianas ([Escuredo y col., 2014](#); [Subbiah y col., 2020](#)), convierten a la miel en un ingrediente óptimo para ser empleado en formulaciones de rellenos de galletitas. Debido a su sabor, la miel se encuentra a menudo en productos dulces como reemplazo del azúcar. Aunque esto puede tener cierto impacto en el precio final de los

alimentos, se ha señalado que una gran parte de los consumidores pueden estar dispuestos a pagar un precio adicional por productos que contengan miel de buena calidad, probablemente porque la miel tiene una sólida reputación como beneficiosa para la salud ([Di Vita y col., 2021](#)). No obstante, en muchos productos el tratamiento de cocción puede destruir los compuestos bioactivos de la miel. Por tanto, su adición a matrices alimentarias no tratadas térmicamente, como los rellenos de galletitas, podría ser una posible solución para superar este problema.

Para el desarrollo de rellenos de galletitas dulces con incorporación de fibra dietaria y miel, se modificó levemente la formulación obtenida en el Capítulo 3, a la cual se le adicionó fibra de avena y se reemplazó la gelatina por goma xántica como agente gelificante, a fin de minimizar la incorporación de agua al relleno.

#### 4.2. Objetivos específicos del Capítulo

- ✚ Se pretende elaborar rellenos de galletitas a partir de una mezcla de almidón de maíz, fibra de avena y goma xántica mediante la implementación de un diseño de mezclas. Se considerarán como las variables de estudio a las concentraciones de manteca de cacao, azúcar impalpable y miel adicionadas.
- ✚ Determinar el efecto que los cambios en la proporción de los constituyentes del relleno ejercen sobre los atributos de textura (dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad y tiempo de relajación) y sobre la actividad acuosa.
- ✚ Establecer los modelos matemáticos que vinculan la composición de los rellenos con cada una de las variables de respuesta estudiadas.
- ✚ Obtener una formulación óptima reducida en lípidos y sacarosa, con atributos de textura y actividad acuosa similares a los actualmente comercializados.
- ✚ Validar la formulación optimizada elaborando el producto, determinando sus parámetros de calidad y comparando los resultados obtenidos con los valores predichos por los modelos matemáticos.

### 4.3. Materiales y Métodos

La manteca de cacao, el almidón de maíz y el azúcar impalpable fueron descriptos previamente en el Capítulo 3 y también fueron utilizados en el desarrollo del relleno estudiado en el presente Capítulo. Además, se usó goma xántica (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU), fibra de avena (Saporiti, Argentina) y miel obtenida directamente de productores de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

#### 4.3.1. Diseño experimental

Con el objetivo de disminuir el contenido de sacarosa y grasa del producto optimizado en el Capítulo 3, se empleó un diseño de mezclas de tres componentes para manteca de cacao, miel y sacarosa. En la formulación optimizada en el Capítulo 3 el contenido de almidón resultó del 23,16 %. Ese valor se tomó como referencia y para el presente Capítulo se fijó un contenido de 20 g/100g de almidón, adicionando 3 g/100g de fibra de avena y 1 g/100g de goma xántica, a fin de lograr un relleno enriquecido en fibra dietaria, tal como lo establece el [CAA \(2022\)](#). Luego, se definieron los límites de los ingredientes restantes de manera tal que la sumatoria de las cantidades complete el 100 % de la formulación.

##### 4.3.1.1. Diseño de mezclas

Cuando los factores experimentales a ser estudiados son ingredientes o componentes de una mezcla, la función de la respuesta depende de las proporciones relativas de cada componente, no de la cantidad absoluta. Puesto que las proporciones deben sumar una cantidad fija, los factores no se pueden variar independientemente uno del otro ([Myers y col., 2016](#)). Los factores del diseño son los componentes de la mezcla y las respuestas observadas son función de la proporción de dichos componentes. Los niveles de los factores son las proporciones de los ingredientes. Si se designa  $x_i$ , con  $1 \leq i \leq k$ , a la variable que representa las proporciones de los  $k$  componentes de la mezcla. Los valores de  $x_i$  estarán restringidos de acuerdo a la *Ec.4.1*, según:

$$\sum_{i=1}^k x_i = x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_k = 1; \quad 0 \leq x_i \leq 1, \quad i = 1, 2, \dots, k \quad \text{Ec.4.1}$$

Dado que la descripción geométrica del espacio de los factores para  $k$  componentes es la de un sistema Simplex en  $(k - 1)$  dimensiones, entonces las coordenadas para un diseño de mezcla con tres componentes son los valores encontrados en el plano definido por la ecuación  $x_1 + x_2 + x_3 = 1$ . En la Fig. 4.3 se muestra el sistema Simplex de dos dimensiones para una mezcla de tres componentes como un triángulo equilátero.

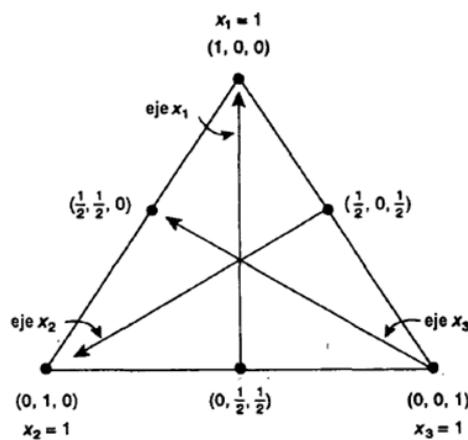


Fig. 4.3: Ejes de coordenadas para una mezcla de tres componentes para una malla de retícula Simplex

Los vértices del triángulo representan ternas de composiciones dónde solo uno de los componentes se encuentra puro (con  $x_i = 1$ ). A su vez, en los lados del triángulo se representan ternas de composiciones en las cuales uno de los componentes es nulo ( $x_i = 0$ ). Las coordenadas del diseño en el interior del triángulo representan mezclas de tres componentes con  $x_i > 0$ . Cualquier combinación de proporciones de componentes para un experimento de mezcla se debe encontrar en la región de operatividad o en la frontera que la delimita.

Para  $k$  componentes, el eje para la componente  $i$  corresponde a la recta que une el punto base, de coordenadas  $x_i = 0$  y  $x_j = (k-1)^{-1}$  para las componentes  $j \neq i$ , hasta el vértice, donde las coordenadas del punto son  $x_i = 1$  y  $x_j = 0$ , para  $j \neq i$ . Por ejemplo, en el diseño con tres componentes de la Fig. 4.3 el eje  $x_1$  va de la base de coordenadas

(0,1/2,1/2) al vértice (1,0,0). Muchas mezclas requieren que todos los componentes estén presentes al menos en una proporción mínima (Acosta y col., 2021). Esta cota de concentración mínima ( $L_i$ ) es tomada en cuenta al momento de construir las coordenadas del diseño ( $x_i^*$ ) según la Ec.4.2.

$$x_i^* = \frac{x_i - L_i}{\sum_{i=1}^k x_i} \quad \text{Ec.4.2}$$

El arreglo formado por una distribución uniforme de coordenadas de diseño en un sistema Simplex se conoce como retícula. Los diseños de retícula Simplex se componen de una malla de coordenadas de diseño construidas de manera que permiten estimar las ecuaciones polinómicas que representan la superficie de respuesta.

#### 4.3.1.2. Región de operatividad y restricciones aplicadas

Se definió la zona de operatividad de manera que la suma de los contenidos de los tres ingredientes a variar (manteca de cacao, miel y sacarosa) fuera igual a 76 g/100g de relleno. En todos los casos, la formulación se completó empleando una mezcla de ingredientes secos constituida por 3 g/100g de fibra de avena, 1 g/100g de goma xántica y 20 g/100g de almidón de maíz. También se impusieron al diseño otras restricciones, las cuales se muestran en la Tabla 4.1.

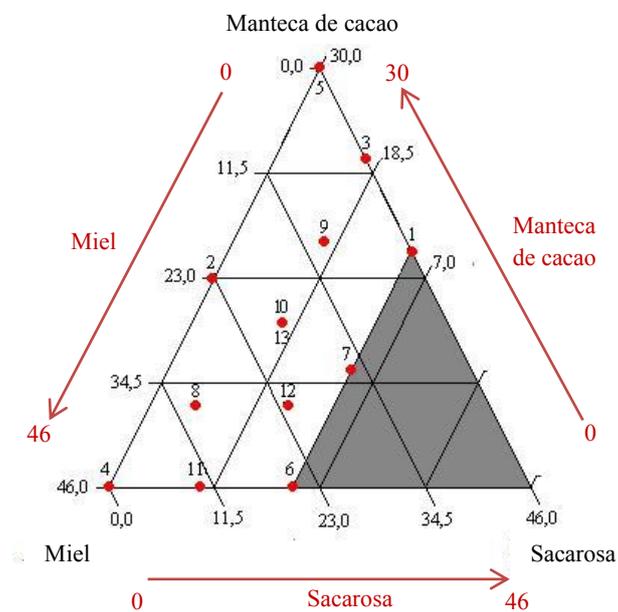
**Tabla 4.1:** Cota superior e inferior (g/100g) de las restricciones aplicadas a las variables del diseño experimental

Componentes	Valor mínimo	Valor máximo
Manteca de cacao	10	30
Azúcar impalpable	0	46
Miel	0	46

Los valores máximos de azúcar impalpable y manteca de cacao a emplear se fijaron a partir del contenido de éstos ingredientes en la formulación básica optimizada en el Capítulo 3. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el Capítulo 3, se consideró

que el contenido mínimo de manteca de cacao no puede resultar menor al 10 %, ya que al fundirse aporta el medio líquido para homogeneizar los demás ingredientes. Se estableció que el contenido de manteca de cacao podría variar entre 10 y 30 %, y en consecuencia, el contenido de miel y azúcar se varió entre 0 a 46 %.

Con el software estadístico Expert Design (trial version 7.1.6, Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.), se obtuvo un diseño con 13 puntos que corresponden a 12 formulaciones distintas, con las restricciones mencionadas anteriormente. Dicho diseño se muestra en la Fig. 4.4, donde puede apreciarse la distribución espacial de los puntos en la zona de operatividad.



**Fig. 4.4:** Distribución espacial de las combinaciones de los ingredientes analizados según el diseño de mezclas de tres componentes

Asimismo, en la Tabla 4.2 se informan los valores de los distintos niveles de los ingredientes variados de manera porcentual y codificada. Los parámetros fueron codificados según la relación establecida en la Ec.4.2.

Las formulaciones 10 y 13 (Tabla 4.2) corresponden al centro del diseño. Su composición es 28 g/100g de sacarosa, 20 g/100g de manteca de cacao y 28 g/100g de miel y fue realizada por duplicado. En la misma Tabla, la formulación 5 (cuya composición consta de 46 g/100g de sacarosa, 30 g/100g de manteca de cacao y 0 g/100g de miel) contiene la misma proporción sacarosa/manteca de cacao que la

empleada en la formulación optimizada en el Capítulo 3, motivo por lo cual se usó como control del diseño.

**Tabla 4.2:** Valores porcentuales (g/100g) y codificados de miel, azúcar y manteca de cacao, según el diseño de mezcla

Formulación	Valores porcentuales			Valores codificados		
	Miel	Sacarosa	Manteca de cacao	Miel	Sacarosa	Manteca de cacao
1	20	46	10	0,26	0,61	0,13
2	23	23	30	0,30	0,30	0,40
3	10	46	20	0,13	0,61	0,26
4	46	0	30	0,61	0,00	0,39
5	0	46	30	0,00	0,61	0,39
6	46	20	10	0,61	0,26	0,13
7	33	33	10	0,43	0,43	0,14
8	37	14	25	0,49	0,18	0,33
9	19	37	20	0,25	0,49	0,26
10	28	28	20	0,37	0,37	0,26
11	46	10	20	0,61	0,13	0,26
12	37	24	15	0,49	0,32	0,19
13	28	28	20	0,37	0,37	0,26

#### 4.3.2. Elaboración de los rellenos

Para la elaboración de las formulaciones se siguió el protocolo descrito en la Sección 3.4.2. La mezcla líquida conformada por miel y manteca de cacao fundida (en un baño termostático a  $40 \pm 10$  °C) fue incorporada a la mezcla seca constituida por fibra de avena, azúcar impalpable, goma xántica y almidón de maíz previamente pesados. Se mezcló manualmente hasta obtener un relleno homogéneo.

#### 4.3.3. Caracterización y determinación de los parámetros de calidad de los rellenos elaborados

Sobre las formulaciones de los rellenos preparadas según el diseño (ver Tabla 4.2), se realizaron ensayos para determinar parámetros de textura, capacidad antioxidante y actividad acuosa.

#### **4.3.3.1. Análisis de perfil de textura**

El análisis de perfil de textura (TPA) de los productos obtenidos se efectuó según el procedimiento descrito en la Sección 3.4.3, utilizando rellenos moldeados en discos con geometría de 22 mm de diámetro y 20 mm de espesor.

#### **4.3.3.2. Ensayo de compresión-relajación**

Para los productos elaborados este ensayo se realizó según lo detallado en la Sección 3.4.4. Todas las medidas de textura se realizaron al menos por cuadruplicado.

#### **4.3.3.3. Evaluación de la capacidad antioxidante de las formulaciones**

Varios autores han probado la actividad antioxidante que poseen compuestos presentes naturalmente en los alimentos, como los compuestos fenólicos, el ácido ascórbico, los carotenoides, la vitamina E y compuestos generados durante el procesado de los alimentos ([Yi y col., 2020](#)). Estos compuestos han demostrado poseer la capacidad de prevenir ciertas enfermedades y para cuantificarlos, al no haber un sólo método capaz de determinar las diferentes estructuras químicas de todos los antioxidantes conocidos, es necesario emplear distintas metodologías. Es por ello que en el presente Capítulo se utilizaron dos técnicas para medir la capacidad antioxidante: DPPH y FRAP. Para ambas determinaciones las muestras de relleno fueron previamente liofilizadas en un equipo Heto Lab Equipment (Allerod, Dinamarca).

##### **4.3.3.3.1. Actividad antioxidante por DPPH**

El 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH<sup>·</sup>) es un radical libre; sus soluciones presentan un color violeta con un máximo de absorbancia a 515 nm ([Brand-Williams y col., 1995](#)). En la Fig. 4.5 se ilustra el mecanismo a través del cual en presencia de un compuesto

antioxidante el DPPH<sup>•</sup> es reducido, disminuyendo así su absorbancia y presentando una solución de color amarillo (Teixeira y col., 2013).

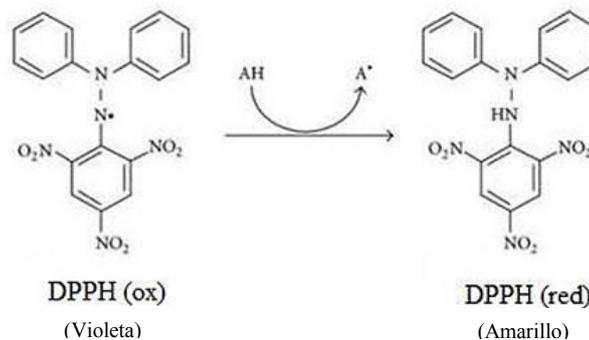


Fig. 4.5: Reacción involucrada en la determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH

Se colocaron 0,04 g de liofilizado en un tubo con tapa a rosca y para iniciar la reacción se incorporaron 1,5 mL del reactivo DPPH (30 ppm en etanol). Luego de 60 minutos de mezclado con agitador magnético a temperatura ambiente, las muestras fueron centrifugadas durante 10 minutos a 10.000 x g en microcentrífuga Giumelli Z-127-D (Buenos Aires, Argentina). La absorbancia del sobrenadante obtenido se determinó a 515 nm en espectrofotómetro Shimadzu UV-mini (Kyoto, Japón), utilizando el blanco del reactivo. Además, se realizó una curva de calibración con Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7-tetrametilcroman-2-carboxílico, un análogo de la vitamina E) y los resultados se expresaron como  $\mu$ moles de Trolox/g de relleno. Todas las medidas se realizaron al menos por duplicado.

#### 4.3.3.3.2. Actividad antioxidante por FRAP

El ensayo de FRAP permite medir la capacidad reductora de la muestra sobre el catión férrico (Benzie y Strain, 1996). En la Fig. 4.6, se observa que, una vez reducido, el catión ferroso (color pardo) se compleja con el reactivo de FRAP a través del ligando tripiridil-triazina (TPTZ), dando lugar a la formación de un complejo de color azul intenso que presenta un máximo de absorción a 593 nm (Prior y col., 2005).

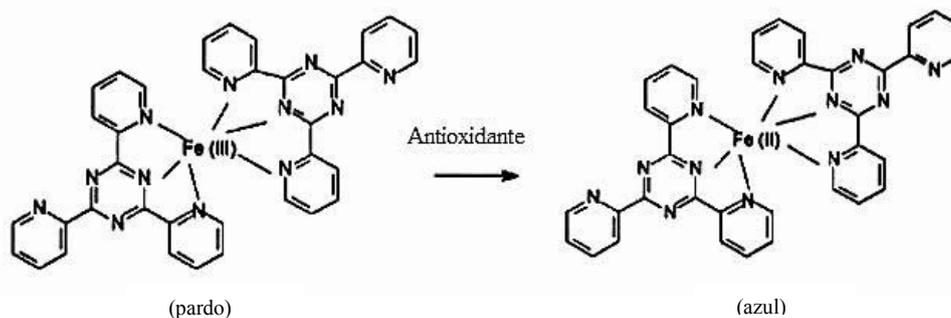


Fig. 4.6: Reacción para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de FRAP

El reactivo de FRAP se preparó al momento de realizar las determinaciones a partir de 2,5 mL de reactivo de TPTZ (10 mmol TPTZ en 40 mmol de HCl); 2,5 mL de  $\text{FeCl}_3$  (20 mM) y 25 mL de buffer (300 mM de NaAc y 6 mM de HAc, pH 3,6). Para iniciar la reacción se agregaron 1,8 mL del reactivo de trabajo de FRAP en 0,04 g de relleno previamente liofilizado y tamizado. Se mezcló durante 1 min en un vortex VEPL Científica (Italia, Europa) y se centrifugó durante 10 min a 10.000 x g. Luego, se determinó la absorbancia del sobrenadante a temperatura ambiente a 593 nm, empleando el blanco del reactivo. Simultáneamente, se realizó una curva patrón de Trolox. Los resultados fueron expresados como  $\mu\text{moles}$  de equivalentes de Trolox/g de relleno. Todas las medidas se realizaron al menos por duplicado.

#### 4.3.3.4. Determinación de la actividad acuosa de los rellenos elaborados

La actividad acuosa de las muestras se determinó por duplicado según el procedimiento descrito en la Sección 3.4.5.

#### 4.3.4. Obtención de las superficies de respuesta

Se modelaron las respuestas de los ensayos de textura, actividad acuosa y capacidad antioxidante obtenidas según el procedimiento descrito en el Capítulo 3. En todos los casos el modelo polinómico propuesto es el que se detalla en la Ec.4.3

$$y_n = \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{\substack{i=1 \\ i \neq j}}^k \beta_{ij} x_i x_j + \beta_{ijk} x_i x_j x_k \quad Ec.4.3$$

Dónde  $y_n$  es la variable de respuesta;  $\beta_i$ ,  $\beta_{ij}$  y  $\beta_{ijk}$  son los coeficientes de la regresión obtenida en cada caso; y  $x$  corresponde al contenido de cada uno de los componentes  $i$ ,  $j$  y  $k$  (en este caso manteca de cacao, azúcar impalpable y miel), expresado como variable codificada.

Nótese que en la ecuación polinómica (Ec.4.3) no existe un coeficiente  $\beta_0$  asociado a una constante. Esto se debe a la restricción de este diseño de forzar que la sumatoria de todas las proporciones sean igual a 1. Al analizar las variables codificadas, la magnitud de los coeficientes del modelo indican la importancia de cada factor y los signos de los coeficientes indican si el nivel del factor correspondiente se debe incrementar o disminuir para aumentar el valor de la respuesta ([Myers y col., 2016](#)).

Para obtener los modelos matemáticos de cada respuesta se empleó una metodología de eliminación tipo “paso hacia atrás”, estableciendo los términos significativos de los polinomios en cada caso (Ec.4.3). La adecuación de cada uno de los modelos fue verificada utilizando un test de falta de ajuste y determinando el coeficiente de precisión. El primero indica la variación de los datos experimentales obtenidos alrededor del modelo ajustado. El coeficiente de precisión mide la relación entre la señal y el ruido y es deseable que su valor sea mayor a 4. Luego de ajustar los modelos, se llevó a cabo un análisis de los residuos para validar las hipótesis en los ANAVA, es decir, se evaluó que los errores estuvieran normalmente distribuidos y con varianzas homogéneas.

#### 4.3.5. Metodología para la optimización y la validación del modelo

El objetivo de la optimización es definir los niveles de los factores (en este caso: contenido de manteca de cacao, miel y azúcar) que generan la respuesta deseada ([Myers y col., 2016](#)). A partir de las ecuaciones predictivas se realizó una optimización multirespuesta, incluyendo las variables relacionadas con aspectos de calidad para las que se obtuvieron regresiones significativas, según lo explicado en la sección anterior.

Se determinó la función deseabilidad ( $D$ ) y los valores óptimos de cada factor se obtuvieron a partir de la maximización de  $D$ , de forma similar a la descrita en la Sección 3.4.6.3. Para la optimización de estos rellenos dulces se consideraron las variables relacionadas con las características texturales del producto, incorporando miel para minimizar, en consecuencia, el contenido de manteca de cacao y de azúcar. Se buscó que el producto final presente el máximo valor posible en parámetros tales como adhesividad, cohesividad, tiempo de relajación y dureza. La elasticidad se fijó en un valor objetivo de 0,227, tomado como referencia los resultados obtenidos en el Capítulo 3.

Una vez obtenida la formulación optimizada se preparó un relleno con dichas proporciones y se analizaron todas las variables de respuestas obtenidas sobre el producto recién elaborado. Los valores obtenidos fueron comparados con los valores predichos por el modelo a fin de comprobar si existían o no diferencias significativas entre la variable predicha y la respuesta obtenida, con un nivel de confianza del 95 % ([Acosta y col., 2021](#)).

#### **4.3.6. Metodología y herramientas estadísticas empleadas**

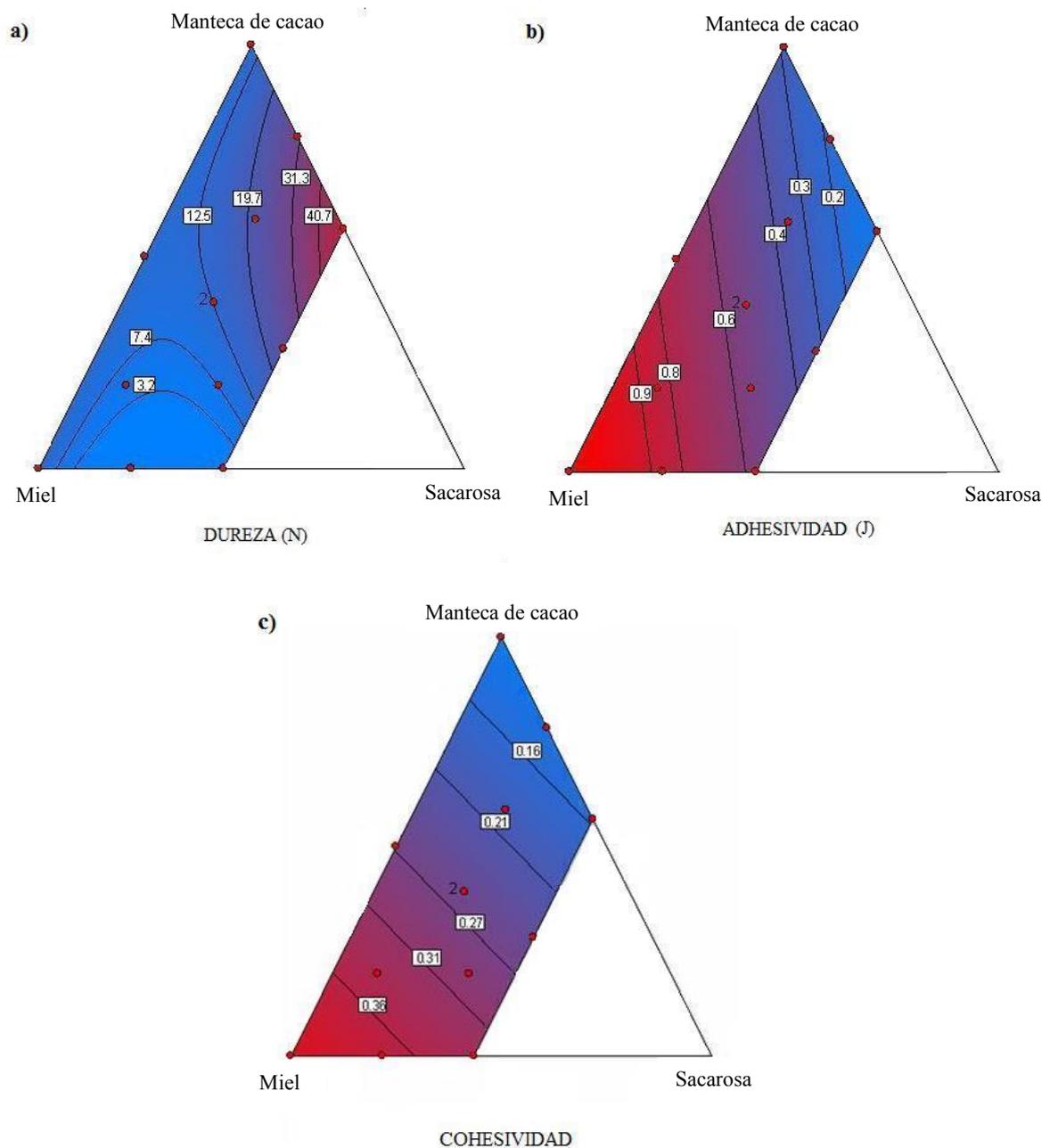
Procedimientos estadísticos tales como análisis de varianza y comparaciones pareadas de medias se llevaron a cabo mediante el software SYSTAT 12 (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, EE.UU.). Para comparar entre medias se utilizó el test LSD y en todos los casos el nivel de significación elegido fue del 95 %. La generación de superficies de respuestas, optimización y gráficos de contorno fueron realizados con el software estadístico Expert Design (trial version 7.1.6, Stat-Ease Inc., Mineapolis, EE.UU.). Las diferencias entre parámetros calculados se consideraron significativas cuando las probabilidades estimadas fueron inferiores a 0,05 ( $P < 0,05$ ).

### **4.4. Resultados y Discusión**

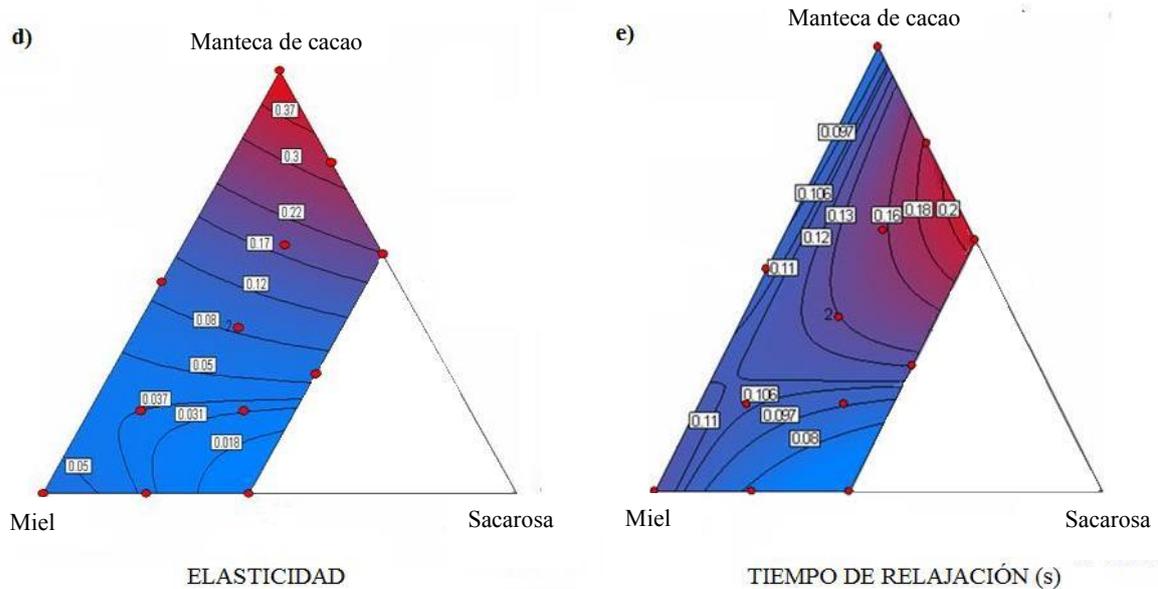
#### **4.4.1. Efecto del agregado de miel sobre las propiedades fisicoquímicas de los rellenos**

### 4.4.1.1. Atributos de textura

En la Fig. 4.7 se puede observar la variación de los parámetros texturales con la proporción de los ingredientes estudiados.



**Fig. 4.7:** Mapas de contorno en la región de operabilidad correspondientes a la variación de: **(a)** dureza (N), **(b)** adhesividad (J), **(c)** cohesividad, **(d)** elasticidad y **(e)** tiempo de relajación (s), con el contenido de miel, azúcar impalpable y manteca de cacao, en las formulaciones de rellenos con fibra dietaria. Zonas de color rojo corresponden a los valores más elevados de los parámetros



**Fig. 4.7:** Mapas de contorno en la región de operabilidad correspondientes a la variación de: (a) dureza (N), (b) adhesividad (J), (c) cohesividad, (d) elasticidad y (e) tiempo de relajación (s), con el contenido de miel, azúcar impalpable y manteca de cacao, en las formulaciones de rellenos con fibra dietaria. Zonas de color rojo corresponden a los valores más elevados de los parámetros

En cuanto a los parámetros instrumentales obtenidos en el análisis de perfil de textura (TPA) y en el ensayo de compresión-relajación realizados sobre las formulaciones conteniendo distintas proporciones de miel, azúcar impalpable y manteca de cacao, se pudo observar que la dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad y tiempo de relajación variaron significativamente con la formulación ( $P < 0,05$ ) y pudieron ser modelados matemáticamente (Tabla II.1 en Anexo II).

En la Tabla 4.3 se muestran los distintos coeficientes obtenidos para el modelado matemático de todos los parámetros de textura analizados. Los valores del coeficiente de precisión y la falta de ajuste resultaron apropiados, mostrando un buen ajuste del modelo matemático propuesto. Todos los parámetros de textura analizados se vieron afectados significativamente ( $P < 0,05$ ) con la modificación de la proporción de los ingredientes en las formulaciones de los productos (Tabla II.1 en Anexo II). Estas variaciones pudieron ajustarse satisfactoriamente al modelo matemático propuesto ya que, en todos los casos, se obtuvieron valores no significativos de falta de ajuste ( $P > 0,05$ ). Para el desarrollo de los modelos se consideraron únicamente los términos con coeficientes significativos ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 4.3:** Coeficientes de regresión significativos de los modelos predictivos correspondientes a la dureza (N), adhesividad (J), cohesividad, elasticidad y tiempo de relajación (s), expresados en función de las concentraciones codificadas de las variables

Coeficientes de regresión	Dureza	Adhesividad	Cohesividad	Elasticidad	Tiempo de relajación
Miel	-167,74	0,84	0,48	-0,29	-0,33
Azúcar	195,10	-0,60	- 0,02	0,34	0,48
Manteca de cacao	-275,63	1,66	0,32	0,44	-0,53
Miel – Manteca de cacao	910,99	-	-	-	2,22
Falta de ajuste	0,52	0,99	0,80	0,27	0,67
Coeficiente de precisión	12,15	7,62	8,26	18,16	7,80

[Tanti y col. \(2016\)](#) explican que en los rellenos es deseable una textura lo suficientemente firme como para mantener estable la estructura de la galletita rellena durante procesos secundarios, como el embalaje o el transporte. La mayor dureza ( $63,65 \pm 9,01$  N) correspondió a la formulación 1 (Tabla II.1 en Anexo II). En la Tabla 4.2 se observa que esta formulación presenta la máxima concentración de azúcar y la mínima de manteca de cacao. En cambio, la dureza mínima fue de  $0,83 \pm 0,07$  N (Tabla II.1 en Anexo II) y se obtuvo para la formulación 6, la cual presenta la mayor concentración de miel y la menor de manteca de cacao (Tabla 4.2).

El efecto más interesante sobre la dureza resultó ser la interacción entre la manteca de cacao y la miel. Si bien ambos ingredientes, individualmente, tienen un efecto negativo sobre la dureza la combinación de ambos resultó en un importante efecto positivo (Tabla 4.3). Este comportamiento podría deberse a que si bien la miel está compuesta mayoritariamente por hidratos de carbono (hasta 85 %, según el origen floral de la miel), también contiene agua (hasta 20 %) y otros componentes en menores proporciones como: proteínas y aminoácidos (0,50 - 1 %), minerales (0,02 - 1 %), ácidos orgánicos (hasta 0,50 %), vitaminas, ácidos grasos, ceras, flavonoides, alcoholes, ésteres, pigmentos y granos de polen. Además, los aminoácidos pueden presentar diversas polaridades y cargas iónicas ([Oroian y col., 2013](#); [Chua y col., 2014](#); [Del Campo y col., 2016](#); [Insuasty-Santacruz y col., 2016](#); [Mureşan y col., 2022](#)). Esta composición tan heterogénea podría generar diferentes interacciones entre los componentes del relleno como, por ejemplo, la formación de una emulsión agua en aceite, entre la manteca de cacao y el agua de la miel, debido al efecto emulsificante de las proteínas ([Lam y Nickerson, 2013](#)), que podrían dar lugar a este comportamiento particular en la dureza de los rellenos.

La adhesividad es un parámetro que indica el trabajo requerido para vencer las fuerzas atractivas entre el alimento y la sonda de medición del texturómetro y depende de las propiedades de superficie o interfaciales ([Szczesniak, 2002](#); [Chandra y Shamasundar, 2015](#)). Para el caso de los rellenos de galletitas, la adhesividad permite que las tapas permanezcan unidas ([Manley, 2000](#)). La menor adhesividad ( $0,05 \pm 0,04$  J) se obtuvo para la formulación 1 (Tabla II.1 en Anexo II), correspondiente a una concentración máxima de sacarosa y mínima de manteca de cacao; mientras que el mayor valor de adhesividad ( $0,99 \pm 0,06$  J) correspondió a la formulación 4, la cual no tiene azúcar impalpable y las cantidades de manteca de cacao y miel son máximas. Es decir, que este parámetro presentó una relación positiva con el contenido de miel y de manteca de cacao, siendo este último el más importante (coeficientes de regresión lineal de 0,84 y 1,66, respectivamente, en Tabla 4.3). Este efecto estaría asociado al mayor contenido cristales de grasa ([Manley, 2000](#), [Keijbets y col., 2009](#), [Ozturk-Kerimoglu y col., 2022](#)) y a la naturaleza adhesiva de la miel ([Tong y col., 2010](#); [Oroian y col., 2013](#)), la cual está vinculada a la presencia de cristales de azúcar de gran tamaño. Por otro lado, para el caso del azúcar impalpable se observa un efecto negativo sobre la adhesividad, lo cual podría deberse a que contiene almidón de maíz como agente aglutinante. La presencia del almidón de maíz parecería limitar la formación de un producto adhesivo, lo cual resulta ser poco deseable para los rellenos de galletitas ya que puede generar la separación de las tapas.

La cohesividad indica el grado en que un material puede deformarse antes de romperse y está asociado a las fuerzas internas que mantienen un producto como un todo ([Szczesniak, 2002](#); [Glibowski y col., 2008](#)). En la Tabla 4.3 puede observarse que, de acuerdo con el modelo propuesto, la cohesividad presentó una dependencia lineal significativa con los tres factores analizados ( $P < 0,05$ ).

El contenido de miel y el de manteca de cacao influyen positivamente en la cohesión de la estructura de los rellenos analizados, como lo indican sus coeficientes de regresión lineal en la Tabla 4.3, con valores de 0,48 y 0,32, respectivamente. En cambio, el coeficiente de regresión lineal negativo asociado al azúcar impalpable indica que la cohesividad de los rellenos disminuyó con el contenido de azúcar. Comparando los valores obtenidos para este parámetro, se encontró que la cohesividad resultó máxima para la formulación 8 (0,45 en Tabla II.1, Anexo II), la cual contiene alta proporción tanto de miel como de manteca de cacao (Tabla 4.2), mientras que el menor valor

correspondió a la formulación 5 (0,10 en Tabla II.1, Anexo II) que no contiene miel (Tabla 4.2). Esto parecería indicar que la miel es el principal ingrediente que mantiene la cohesión de la estructura del relleno, probablemente por su capacidad de formar puentes de hidrógeno entre los distintos componentes químicos presentes en la miel, principalmente los hidratos de carbono, y los restantes componentes empleados en la formulación del relleno ([Orian y col., 2013](#); [Patrignani y col., 2022](#)).

La elasticidad indica la capacidad que tiene la muestra de volver a su forma original luego de ser sometida a una deformación ([Gunasekaran y Ak, 2003](#)). Los valores hallados fueron, en general, más bajos que los obtenidos en rellenos dulces comerciales (analizados en el Capítulo 3). La máxima elasticidad está asociada a la formulación 5, que corresponde a un relleno sin miel, con máxima cantidad de azúcar y de manteca de cacao. En la Fig. 4.7d puede apreciarse que a medida que aumenta la cantidad de manteca de cacao en la formulación, la elasticidad aumenta para los rellenos enriquecidos en azúcar y disminuye para los rellenos con mayor cantidad de miel. En la Tabla 4.3 puede observarse que, si bien el coeficiente de regresión obtenido para la miel es negativo, la elasticidad presentó una relación lineal positiva con la presencia de azúcar refinada y de manteca de cacao.

El tiempo de relajación es el parámetro que se asocia al comportamiento viscoelástico de la muestra: tiempos de relajación prolongados indican un comportamiento más sólido-elástico, mientras que tiempos de relajación cortos indican un comportamiento más viscoso ([Lupano y col., 1992](#)). Al estudiar este parámetro para las formulaciones diseñadas se obtuvieron valores mucho menores que los informados para los rellenos comerciales en el Capítulo 3 (Tabla 3.3). Es decir, que los rellenos elaborados en el presente Capítulo resultaron más viscosos que los rellenos actualmente comercializados ([Battaiotto y col., 2013b](#)), probablemente debido a la utilización de miel como uno de los ingredientes que no está presente en los rellenos comerciales. En los rangos de concentraciones de ingredientes estudiados, el tiempo de relajación aumentó para las formulaciones ricas en azúcar impalpable y disminuyó con la presencia de miel y de manteca de cacao. Este efecto de la miel ya había sido comprobado por [Conforti y Lupano \(2004\)](#) en masas de galletitas semidulces. La forma hiperbólica de las curvas de nivel obtenidas (Fig. 4.7e) estaría asociada al término de interacción entre la miel y la manteca de cacao, el cual aumenta significativamente el tiempo de relajación de las muestras. Esto indicaría que la interacción entre estos dos ingredientes genera no sólo

un producto más duro, sino también con características más elásticas. No se observó interacción entre la manteca de cacao y el azúcar, lo cual sugiere que las interacciones que se establecen con la manteca de cacao dependen del tipo de azúcar utilizado, ya que la miel es rica en fructosa. [Belščak-Cvitanović y col. \(2015\)](#) también encontraron un comportamiento similar al analizar chocolates, los chocolates ricos en fructosa presentaban una dureza mayor y un comportamiento más elástico que los preparados con sacarosa.

#### 4.4.1.2. Evaluación de la capacidad antioxidante de las formulaciones

Mediante los ensayos de FRAP y DPPH se encontró que la concentración de miel generó un aumento significativo en el contenido de antioxidantes presentes en los rellenos ( $P < 0,05$ ). Esto se debe a la alta capacidad antioxidante de la miel empleada para elaborar los rellenos en este trabajo de tesis, con valores mayores a  $1,3 \mu\text{mol TROLOX/g}$  de acuerdo a su caracterización por [Patrignani y col., 2018](#). Los rellenos sin miel (formulación 5, Tabla 4.2) presentaron la menor capacidad antioxidante ( $P < 0,05$ ) de acuerdo al ensayo de FRAP ( $0,21 \pm 0,06 \mu\text{mol Trolox/g}$ , Tabla II.2 en Anexo II). Por otro lado, la formulación con máxima cantidad de miel (formulación 11, Tabla 4.2) presentó la mayor capacidad antioxidante de acuerdo al ensayo de DPPH ( $0,44 \pm 0,06 \mu\text{mol Trolox/g}$ , Tabla II.2 en Anexo II). Los valores de  $\mu\text{mol Trolox/g}$  obtenidos mediante la metodología de DPPH resultaron mayores a los obtenidos por la técnica de FRAP. Esto puede deberse a que la primera se lleva a cabo en un medio etanólico, detectando antioxidantes de tipo fenólicos y polifenólicos aportados por la miel y la manteca de cacao; mientras que la técnica de FRAP utiliza un medio acuoso ácido, detectando antioxidantes más solubles en agua. El análisis estadístico indicó que la capacidad antioxidante de los rellenos se vio afectada significativamente con la formulación de los mismos ( $P < 0,05$ ).

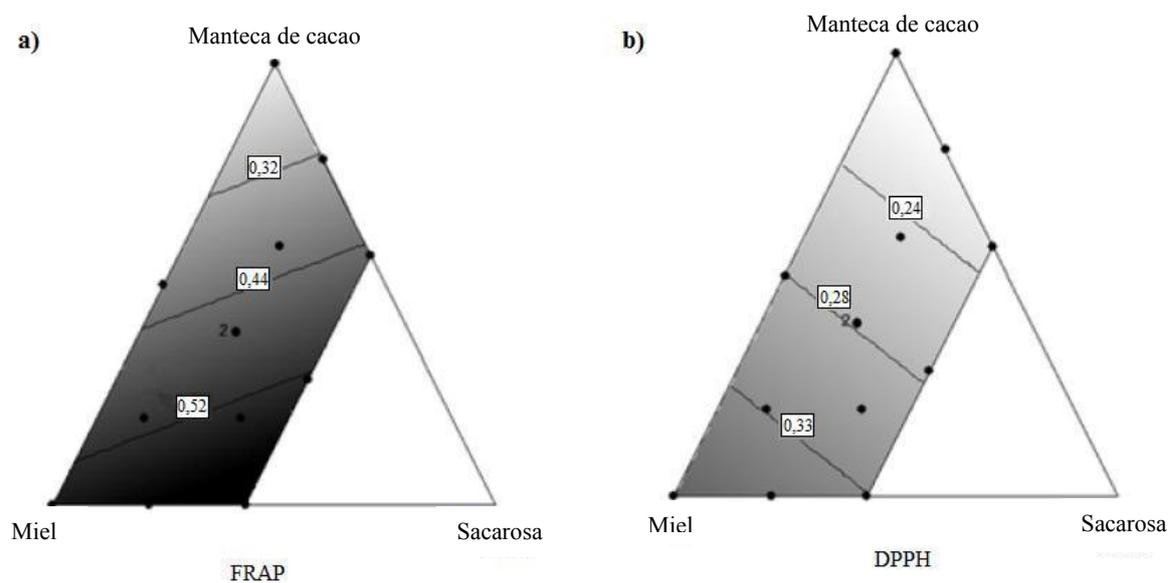
Los resultados obtenidos fueron modelados matemáticamente y los coeficientes hallados se presentan en la Tabla 4.4. Los dos modelos propuestos presentaron un valor de falta de ajuste no significativo ( $P > 0,05$ ). Asimismo, los coeficientes de precisión resultaron superiores a 4, lo cual permite decir que hubo un buen ajuste del modelo. En ambos casos se consideraron únicamente los términos significativos ( $P < 0,05$ ) para el

desarrollo de los modelos. Los coeficientes de regresión obtenidos (Tabla 4.4) indican que la capacidad antioxidante de los rellenos presenta una dependencia lineal con la concentración de miel, manteca de cacao y azúcar impalpable.

**Tabla 4.4:** Coeficientes de regresión significativos de los modelos predictivos correspondientes a la capacidad antioxidante mediante los métodos de FRAP y DPPH expresados en función de las concentraciones codificadas de las variables

Coeficientes de regresión	FRAP	DPPH
Miel	0,60	2,36
Azúcar	0,24	0,68
Manteca de cacao	0,08	1,64
Miel - Manteca de cacao	-	-
Falta de ajuste	0,48	0,55
Coefficiente de precisión	28,45	6,12

El mayor coeficiente de regresión se obtuvo para la concentración de miel en los rellenos (2,36 en Tabla 4.4) en el modelado de los resultados encontrados mediante la técnica de DPPH. Esto está asociado a la capacidad antioxidante de la miel ([Larsen y Ahmed, 2022](#)) y por este motivo, es considerada como una alternativa saludable para ser usada como sustituto del azúcar en diversos productos ([Gheldof y col., 2003](#)).



**Fig. 4.8:** Mapas de contorno en la zona de operabilidad correspondientes a la capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol Trolox/g}$ ) de las formulaciones de rellenos mediante el método de: (a) FRAP y (b) DPPH

En la Fig. 4.8 se puede observar la variación de la capacidad antioxidante con la proporción de los ingredientes estudiados. En el ensayo de FRAP, el Fe(III) es reducido a Fe(II) por acción de los compuestos dadores de electrones en un medio ácido. [Beretta y col. \(2005\)](#), que trabajaron con mieles de diverso origen floral y geográfico, concluyeron que el poder reductor del reactivo de FRAP se debe a presencia de sustancias fenólicas y polifenólicas en la miel, y no es debido al contenido de azúcar, el cual también es un ingrediente en los rellenos. Los coeficientes de regresión obtenidos para el modelado del ensayo de DPPH sugieren que la manteca de cacao también genera una importante capacidad antioxidante (1,64 en Tabla 4.4). Esto puede estar asociado con que la misma, presenta compuestos fenólicos, fitoesteroles y tocoferoles ([Roianini y col., 2016](#)).

#### 4.4.1.3. Actividad acuosa

En todos los casos la actividad acuosa fue menor que 0,60, lo cual indica una buena estabilidad microbiológica para todos los rellenos analizados, independientemente de su formulación (valor promedio de los rellenos:  $0,539 \pm 0,007$ ). Dado que ninguno de los tres factores analizados (contenido de miel, azúcar y manteca de cacao) ejerció un efecto significativo sobre la actividad acuosa ( $P > 0,05$ ), este parámetro no pudo ser ajustado a ningún modelo matemático. Además, se puede decir que desde el punto de vista de la prevención del deterioro por microorganismos, los rellenos con la incorporación de miel y la consecuente disminución del contenido de sacarosa y manteca de cacao, resultaron mejores que los rellenos desarrollados en el Capítulo 3, los cuales no contienen miel en su formulación.

#### 4.4.2. Optimización de la formulación de un relleno con fibras dietarias y reducido en grasa y sacarosa. Validación del modelo

El propósito de la optimización fue minimizar la cantidad de azúcar y de manteca de cacao en la formulación del relleno obtenido en el Capítulo 3; asegurando parámetros de calidad adecuados.

En la Tabla 4.5 se presenta el criterio empleado para la optimización de la formulación, así como los valores predichos y experimentales de las respuestas consideradas. Para validar los modelos se elaboraron rellenos a partir de la formulación óptima obtenida y sobre este producto se evaluó la dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad y el tiempo de relajación. Estos valores fueron comparados con los predichos por los modelos. En la Tabla 4.5, un valor de probabilidad mayor a 0,05 indica que no hay diferencias significativas entre los valores predichos y experimentales obtenidos para cada variable respuesta.

**Tabla 4.5:** Criterios de optimización, valores predichos y valores experimentales obtenidos para la dureza (N), adhesividad (J), cohesividad, elasticidad y tiempo de relajación de los rellenos

Parámetros	Criterio de optimización	Valor predicho	Valor experimental medio	Valor de probabilidad
<b>Dureza</b>	Máximo	27,31	21,13	0,06
<b>Adhesividad</b>	Máximo	0,46	0,54	0,19
<b>Cohesividad</b>	Máximo	0,21	0,22	0,66
<b>Elasticidad</b>	0,227	0,23	0,15	0,13
<b>Tiempo de relajación</b>	Máximo	0,13	0,13	0,99

Los valores experimentales promedio de cada respuesta y los predichos por los modelos no difirieron estadísticamente ( $P > 0,05$ ). El valor obtenido de la función deseabilidad fue  $D = 0,6$ , lo cual indica una optimización satisfactoria, tal como se describió en la Sección 3.4.6.3. La formulación óptima correspondió a un relleno elaborado con un 17,7 % de miel, 33,8 % de azúcar impalpable y 24,5 % de manteca de cacao. Esto implicó una reducción del 12,8 % en el contenido de sacarosa y del 4,6 % en el contenido de manteca de cacao, respecto a la formulación desarrollada en el Capítulo anterior, la cual contenía 46,8 % de azúcar, 29,1 % de manteca de cacao y no tenía miel. Además, la actividad acuosa de esta formulación fue  $0,599 \pm 0,003$ .

La formulación optimizada permitió obtener un relleno con miel, adicionada con fibra dietaria y con un contenido de azúcar y grasa reducidos, garantizando valores de actividad acuosa y parámetros de textura adecuados para este tipo de producto. La reducción de azúcar se ha logrado a expensas de la incorporación de miel que, además, aporta antioxidantes ([Larsen y Ahmed, 2022](#)), gusto y textura. Esta disminución es muy importante ya que el consumo de azúcar representa un gran problema de salud pública, que ha ganado popularidad en los últimos años entre personas de todas las edades ([Arshad y col., 2022](#)). En este sentido, [Alkhaldi y col., \(2021\)](#) informaron sobre el

aumento del riesgo de padecer afecciones metabólicas como la obesidad y la diabetes, así como trastornos cardiovasculares debido al exceso de azúcar en la dieta.

#### 4.4.3. Conclusiones del Capítulo

- ✚ Las interacciones entre la miel y la manteca de cacao dan lugar a un producto más duro y más elástico, mientras que estos ingredientes de forma individual presentaron un efecto negativo sobre la firmeza y el tiempo de relajación.
- ✚ La presencia de azúcar impalpable disminuye la cohesividad de los rellenos. El contenido de miel y el de manteca de cacao tienen el efecto opuesto sobre dicho parámetro.
- ✚ La incorporación de miel en los rellenos incrementó significativamente la capacidad antioxidante de los mismos, sin variar su actividad acuosa.
- ✚ Se aplicó la metodología de función objetivo para encontrar la combinación óptima de miel, azúcar impalpable y manteca de cacao a ser incorporadas en la formulación del producto y las respuestas predichas fueron validadas experimentalmente.
- ✚ La formulación óptima obtenida contiene 17,7 % de miel, 33,8 % de azúcar impalpable, 24,5 % de manteca de cacao y 20 % de almidón de maíz. Se adicionó 3 % fibra de avena y 1 % de goma xántica a fin de lograr un relleno enriquecido en fibra dietaria.
- ✚ Con el objetivo de disminuir el contenido de sacarosa y grasa del producto optimizado en el Capítulo 3, se empleó un diseño de mezclas de tres componentes para manteca de cacao, miel y sacarosa. Asimismo, se fijó el contenido de almidón (20 g/100g), tal como se había obtenido en la formulación optimizada en el Capítulo 3. Utilizando la formulación que contenía la relación adecuada de miel, azúcar impalpable y manteca de cacao, se obtuvo un producto con características similares a los productos tradicionales.
- ✚ La formulación optimizada permitió obtener un relleno enriquecido en fibra dietaria, reducido en grasa y sacarosa a partir de la incorporación de miel. Este es un aspecto de suma importancia, dada la alta capacidad antioxidante que

aporta la miel y los múltiples beneficios para la salud asociados a las fibras y a la reducción del consumo de azúcar refinado.

- ✚ El producto obtenido fue diseñado a partir de ingredientes naturales y no contiene ningún tipo de saborizante, aromatizante ni aditivo artificial. Asimismo, se adicionaron compuestos beneficiosos para la salud, como miel y fibra dietaria.

## CAPÍTULO 5

### **Atributos de calidad, evaluación sensorial y estudio del almacenamiento de relleno de galletitas adicionado con fibras dietarias y reducido en grasa y sacarosa**

#### **5.1. Introducción**

El análisis sensorial permite establecer un nexo entre el desarrollo de un nuevo producto y la percepción de los consumidores. Es una herramienta muy útil para evaluar productos y hacerlos competitivos en el mercado de alimentos. La calidad sensorial de un alimento no es una característica propia de éste, sino que es el resultado de la interacción alimento/hombre. Se puede definir como la sensación humana provocada por determinados estímulos procedentes del alimento. Depende no sólo de la clase e intensidad del estímulo sino también de las condiciones evaluativas del ser humano ([Asencios Tarazona, 2021](#)). El análisis sensorial puede ser empleado como una herramienta a fin de determinar si el nuevo producto formulado podría ser utilizado satisfactoriamente en el mercado. Para ello, también se evalúa la intención de compra y consumo y la potencial competencia en el mercado ([Leyva-Hernández y col., 2023](#)).

En el desarrollo de un producto como los rellenos de galletitas se busca asegurar de manera simultánea, su aceptación por parte de los consumidores y su conservación en el tiempo. Los consumidores exigen una alta calidad en los alimentos y esperan que dicha calidad se mantenga en un nivel adecuado durante un período prolongado entre la compra y el consumo. La calidad de los ingredientes empleados determinará la capacidad de conservación del producto obtenido, influyendo en forma directa sobre su vida útil. Una alta capacidad antioxidante puede inhibir la oxidación de los lípidos presentes, la cual se considera uno de los principales procesos responsables de la disminución de la vida útil de un producto. La evaluación de la estabilidad de los alimentos no sólo supone un reto metodológico sino que es un proceso clave en la industria alimentaria, sobre todo para aquellas empresas que deseen mantener la reputación de su marca en el mercado. Es decir, un estudio de estabilidad de los

alimentos está dirigido a monitorear la calidad, la cual es considerada un estado dinámico que se desplaza continuamente hacia niveles menores a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento ([Manzocco y col., 2016](#)).

Los ingredientes de las formulaciones estudiadas en el presente Capítulo son: azúcar impalpable, manteca de cacao, almidón de maíz, miel, fibra de avena y goma xántica. Al momento de estudiar la conservación de los rellenos se debe determinar qué componentes podrían resultar más susceptibles a sufrir degradación y cuál sería el mecanismo asociado a dicho proceso. En este caso, el ingrediente que podría resultar crítico durante el almacenamiento sería la manteca de cacao. El deterioro oxidativo en la manteca de cacao tiene que ver con el tipo de ácidos grasos presentes, que se relaciona con el grado de insaturaciones que éstos posean. La manteca de cacao puede contener hasta un 42 % de ácidos grasos insaturados (Tabla 3.1, Capítulo 3). El tipo principal de descomposición que se produce en las grasas almacenadas es la rancidez, resultado de la oxidación de ácidos grasos insaturados debido a su contacto con cantidades de oxígeno, incluso minúsculas. La rancidez puede favorecerse por la disponibilidad de oxígeno del aire, la luz (particularmente, la ultravioleta), el calor, ciertos microorganismos, la humedad y la presencia de catalizadores tales como el cobre. El olor y el sabor rancio son ocasionados por aldehídos y cetonas de cadena corta ([Kendall y Dimond, 2007](#); [Frankel, 2005](#)). Por lo tanto, en el caso de los rellenos almacenados, el mecanismo de oxidación que podría ocurrir en la manteca de cacao, sería principalmente de naturaleza química, y no enzimática, por tratarse de un ingrediente purificado con presencia de enzimas despreciable. A su vez, dentro del tipo de oxidación química, se vería más favorecida la autooxidación. Este proceso involucra tres etapas: iniciación, propagación y terminación, tal como se observa en la Fig. 5.1. La primera etapa es la reacción del ácido graso insaturado (libre o formando parte del lípido) con el oxígeno, en presencia de un iniciador, como por ejemplo trazas de metales o peróxidos que pueden encontrarse de forma ubicua como impurezas en los alimentos. Se generan radicales libres como peroxi ( $RO_2^{\cdot}$ ), alcoxi ( $RO^{\cdot}$ ) o alquilo ( $R^{\cdot}$ ), que pasan a las siguientes dos etapas. En la autooxidación se pueden formar tanto productos de oxidación primarios (hidroperóxidos) como secundarios. Los productos primarios de oxidación se pueden formar por reacciones de propagación y/o de terminación. Los hidroperóxidos son compuestos inestables que se descomponen fácilmente para formar productos secundarios de oxidación ([Choe y Min, 2006](#)).

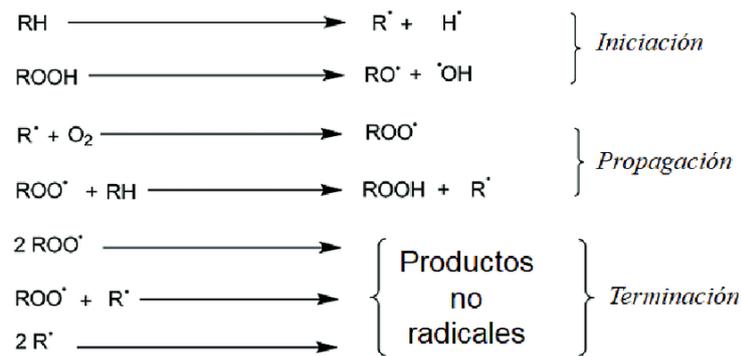


Fig. 5.1. Etapas del proceso de autooxidación lipídica

Los productos secundarios de oxidación se pueden agrupar en tres categorías: compuestos volátiles, monómeros oxidados y polímeros. Los primeros, se originan por la descomposición de los hidroperóxidos que dan lugar a un sabor y olor desagradables, motivo por lo cual tienen importancia desde el punto de vista sensorial. Por otra parte, los monómeros oxidados son productos estables de la oxidación secundaria que se producen a temperatura ambiente o moderada y contienen funciones epoxi, hidroxilo y cetona. Finalmente, los polímeros se originan principalmente mediante reacciones de terminación que dan lugar a dímeros no polares o dímeros puente C-C, y a dímeros oxidados de mayor polaridad, tales como los dímeros puente éter (C-O-C) y los dímeros puente peróxido (C-O-O-C).

Para la conservación de alimentos es importante considerar el tipo de envase a utilizar, para favorecer la estabilidad. En este sentido, uno de los plásticos más utilizados para envasado en la industria es el polipropileno (PP), ya que representa un buen material de barrera contra la humedad y a su vez es uno de los envases más económicos ([Lange y Wyser, 2003](#); [Marsh y Bugusu, 2007](#); [Michiels y col., 2017](#)). El PP (Fig. 5.2), es un termoplástico que es obtenido por la polimerización del propileno, un subproducto gaseoso de la refinación del petróleo, en presencia de catalizadores y bajo un cuidadoso control de temperatura y presión.

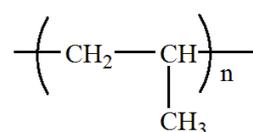


Fig. 5.2. Estructura del polipropileno

Los envases de PP de 30 - 60  $\mu\text{m}$  de grosor son translúcidos, muy resistentes a la punción, a las fuerzas de tensión y resultan seguros para el uso humano. Una película de PP presenta una baja tasa de transmisión de vapor de agua ( $10 \text{ g/m}^2\text{día}^1$  a  $38 \text{ }^\circ\text{C}$  y 90 % de humedad relativa). Sin embargo, la limitación crítica de estas películas es su alta permeabilidad al oxígeno, siendo la velocidad de transferencia de oxígeno a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  de  $3700 \text{ cm}^3/\text{m}^2\text{día}^1\text{atm}^1$ , la cual se considera una alta tasa de transmisión del gas ([Nguyen y col., 2021](#)).

Además, durante el almacenamiento también es importante estudiar la calidad sanitaria y el recuento de microorganismos de deterioro. Los ensayos de calidad sanitaria de un producto, complementan a los ensayos de recuento de microorganismos de deterioro, determinando su aptitud para el consumo ([Wang y col., 2017](#)). De este modo se puede obtener información sobre la calidad del proceso de elaboración y almacenamiento de los productos. El recuento de microorganismos mesófilos totales revela información acerca de las condiciones higiénicas de la materia prima utilizada y de su manipulación. Un recuento bajo de estos microorganismos indica una buena calidad sanitaria, mientras que un recuento alto suele ser indicio de descomposición ([ANMAT, 2014a](#)). Asimismo, la importancia de la cuantificación de mohos y levaduras radica en la capacidad que tienen estos microorganismos de desarrollarse a valores de actividad acuosa menores que las bacterias, generando el deterioro y la descomposición de los alimentos. El recuento de mohos resulta de particular interés dado que éstos son capaces de generar micotoxinas que pueden derivar en la intoxicación de los consumidores ([ANMAT, 2014b](#)).

## 5.2. Objetivos específicos del capítulo

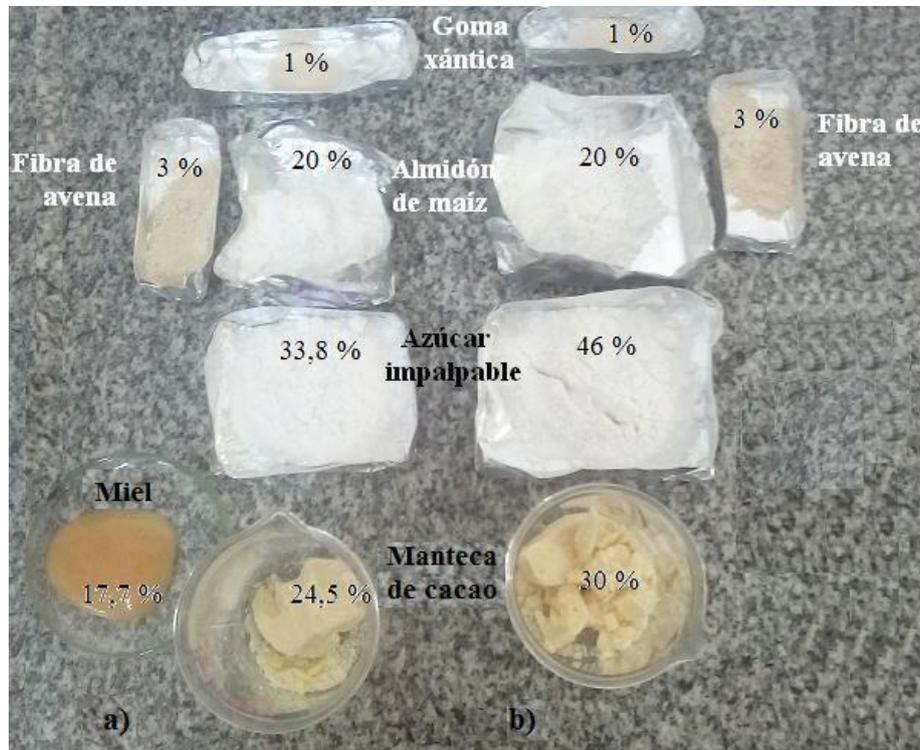
- ✚ Realizar un análisis sensorial de las galletitas elaboradas con el relleno reducido en grasa y sacarosa (cuya formulación fue optimizada en el Capítulo 4) comparando con los rellenos habitualmente encontrados en el mercado (analizados en el Capítulo 3). Se evaluará la aceptación del color, sabor, textura, aceptabilidad general, intención de compra e intención de consumo.
- ✚ Evaluar la conservación de un relleno optimizado adicionado con fibra dietaria y reducido en sacarosa y grasa, analizando su actividad acuosa, humedad, textura,

capacidad antioxidante y oxidación lipídica a distintos tiempos de almacenamiento.

- Realizar ensayos microbiológicos de los rellenos luego de 24 semanas de almacenamiento a fin de determinar la carga microbiana y evaluar la aptitud sanitaria.

### 5.3. Materiales y Métodos

Se elaboraron muestras del relleno adicionado con fibra dietaria y reducido en sacarosa y grasa optimizado en el Capítulo 4. Esta formulación contiene azúcar impalpable (33,8 %), manteca de cacao (24,5 %), almidón de maíz (20 %), miel (17,7 %), fibra de avena (3 %) y goma xántica (1 %). Como control, se utilizó un relleno similar pero sin miel (formulación 5 en Tabla 4.2), con concentraciones de azúcar impalpable y de manteca de cacao del 46 % y 30 %, respectivamente, tal como se indica en la Fig. 5.3.



**Fig. 5.3.** Ingredientes empleados en la preparación de los rellenos adicionados con fibra dietaria **a)** reducido en grasa y sacarosa y **b)** control

Se moldearon los rellenos en forma de cilindro de 30 mm de diámetro y 2 mm de altura y se envasó al vacío en forma individual en bolsas de polipropileno (PP, Dilene, Argentina) de 30  $\mu\text{m}$  de espesor. Las muestras de rellenos se almacenaron durante 24 semanas a 20 °C. Cada 4 semanas se tomaron muestras de cada uno de los rellenos y se determinó la actividad acuosa, la humedad, el color, la textura, el grado de oxidación lipídica y la capacidad antioxidante. Además, antes de comenzar con el estudio de conservación, se realizó un panel sensorial de los productos recién elaborados a fin de evaluar su aceptabilidad por parte de los consumidores. Al finalizar el almacenamiento, se realizó un análisis microbiológico de las muestras.

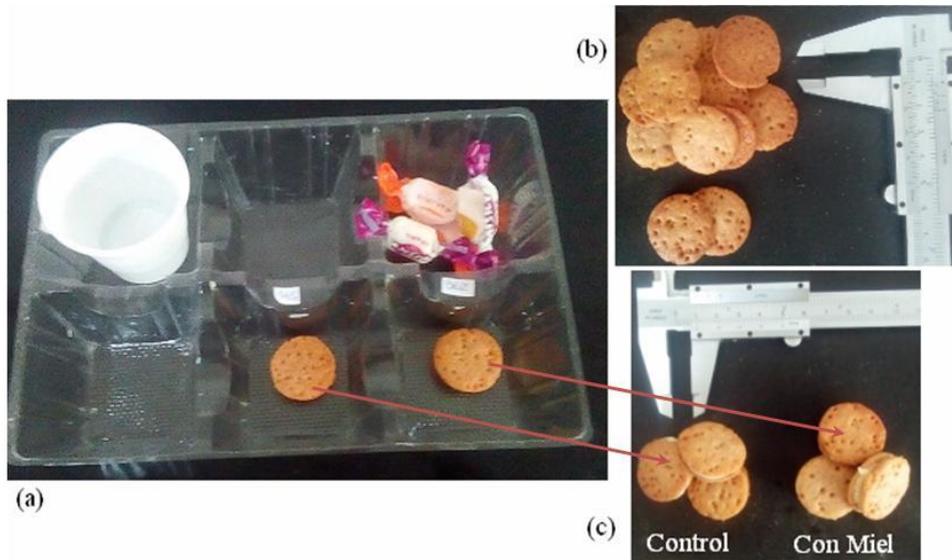
### 5.3.1. Ensayo de aceptabilidad por atributos de las formulaciones optimizadas

Se decidió incorporar los rellenos control y reducido en grasa y sacarosa a tapas de galletitas, de manera de realizar el panel sensorial de galletitas rellenas, imitando el formato comercial de este tipo de producto. Los panelistas recibieron una bandeja transparente, con dos galletitas rellenas identificadas con números de tres dígitos obtenidos al azar (492 para galletitas con relleno control y 581 para galletitas con relleno reducido en grasa y sacarosa), un vaso de agua para enjuagar la boca entre las muestras y caramelos como agradecimiento por la participación (Figura 5.4a y c).

Las tapas de galletitas empleadas fueron desarrolladas según [Patrignani y col. \(2014\)](#), a partir de una mezcla de harina de trigo (Favorita 000; Molinos Río de la Plata, Buenos Aires, Argentina), almidón de maíz (Maizena, Unilever S.A., Buenos Aires, Argentina), leche descremada en polvo (SanCor, Sunchales, Santa Fe, Argentina), azúcar (Ledesma, Jujuy, Argentina), aceite de girasol alto oleico (Propia; Lezama, Buenos Aires, Argentina), polvo para hornear (Royal, Kraft Foods, Buenos Aires, Argentina), canela (Alicante, Argentina) y agua (Fig. 5.4b). Las galletitas rellenas fueron confeccionadas colocando aproximadamente 2 g de relleno entre las tapas.

El orden de presentación de las muestras a valorar también se estableció en forma aleatoria: la mitad de los evaluadores recibió las muestras en el orden 492 - 581 y la otra mitad en el orden 581 - 492. La evaluación por parte de los participantes se realizó en una planilla (Fig. 5.5), entregada junto a la bandeja que contenía las muestras. Este análisis se llevó a cabo a las 11 de la mañana en la Facultad de Ingeniería de la UNLP

mediante un panel no entrenado de 40 personas, con una franja etaria comprendida entre los 17 y 30 años.



**Fig. 5.4.** Análisis sensorial: **(a)** Bandeja utilizada para el panel sensorial, **(b)** Tapas de galletitas empleadas, **(c)** Galletitas rellenas elaboradas con el relleno control y con el relleno adicionado con fibras dietarias y reducido en grasa y sacarosa

El mínimo número de evaluadores requerido para este ensayo se estableció considerando un 5 % de probabilidad de error tipo I y de tipo II, una diferencia de medias de 0,2 y un error cuadrático medio de 0,23, según los valores propuestos por [Hough y col. \(2006\)](#) para el análisis sensorial de galletas y confituras. Considerando esto, el número mínimo de consumidores necesarios para realizar la prueba sería de 35. No obstante, y según [Gacula y Rutenbeck \(2006\)](#), para observar una receptibilidad del nivel de significación en los datos, el número de panelistas debe ser mayor o igual a 40. Como se observa en la Fig. 5.5, se utilizó una escala hedónica estructurada de 9 puntos para evaluar el grado de aceptación de diversos atributos, siendo: 9 = me gusta, 5 = me es indiferente y 1 = me disgusta. Los atributos evaluados fueron: el color del relleno, el sabor, la textura, la apariencia y la aceptabilidad general. También se empleó una escala hedónica no estructurada para consultar a los evaluadores respecto a qué tan saludables consideraban que eran estos productos, extendiendo la escala desde “poco saludable” a “muy saludable”. Finalmente, se incluyeron una serie de preguntas a fin de determinar la intención de compra y consumo de los productos, sin forzar la elección de un

producto sobre el otro, ya que los consumidores podían indicar la preferencia por ninguno o por cualquiera de los rellenos (Montgomery, 2013).

**PANEL SENSORIAL DE GALLETITAS RELLENAS DULCES**

Nombre:..... Evaluador N°.....

Usted ha recibido 2 muestras de galletitas rellenas. Utilizando la escala indicada, por favor evalúe cada atributo marcando con una cruz (x) en el casillero adecuado. Enjuáguese la boca con agua entre muestra y muestra.

Muestra N° 581	<i>Me disgusta</i>										<i>Me gusta</i>
Color del relleno	<input type="checkbox"/>										
Sabor	<input type="checkbox"/>										
Textura	<input type="checkbox"/>										
Aceptabilidad general	<input type="checkbox"/>										

Muestra N° 492	<i>Me disgusta</i>										<i>Me gusta</i>
Color del relleno	<input type="checkbox"/>										
Sabor	<input type="checkbox"/>										
Textura	<input type="checkbox"/>										
Aceptabilidad general	<input type="checkbox"/>										

¿Qué tan saludable cree que son estos productos?

Poco saludable                      Medianamente saludable                      Muy saludable  
 ●───────────────────────────────────|───────────────────────────────────●

Por favor, responda a las siguientes preguntas:

¿Consumiría alguno de estos productos? \_\_\_\_\_

¿Compraría alguno? \_\_\_\_\_

¿Cuál? \_\_\_\_\_

**¡Muchas gracias por su colaboración!**

Fig. 5.5. Planilla presentada a los evaluadores para realizar el análisis sensorial de los productos

En relación con la intención de compra, resulta importante evaluarla ya que [Turney y Littman \(2003\)](#) afirmaron que ésta puede interpretarse como la predicción de la marca del producto que decidirá comprar el consumidor. La intención de compra puede ser considerada como un reflejo del comportamiento de compra real ya que ésta es directamente proporcional al deseo del consumidor por adquirir el producto. De tal manera, [Chi y col. \(2009\)](#) y [Laroche y Zhou \(1996\)](#) advierten que el marketing puede cambiar las preferencias personales y la percepción del consumidor y así influir en la intención de compra de los mismos. En este sentido, [Fournier \(1998\)](#) dice que si una marca ofrece un producto cuyas características satisfacen las necesidades de los

consumidores, éstos últimos formarán un concepto positivo relacionado a la marca, lo cual podría traducirse en un aumento en la venta del producto. Para un mismo nivel de agrado, el interés de compra de un producto puede elevarse si se espera un beneficio para la salud a partir de su consumo ([Tuorila y col., 1998](#)). Numerosos trabajos han revelado que las variables relacionadas con las características personales del individuo (como valores, actitudes, percepción de calidad, personalidad y motivaciones del consumidor), son las que más influyen en el momento de elección del producto alimentario ([Rios Montoro y García Castañeda, 2005](#); [Gil y col., 2000](#)).

### 5.3.2. Parámetros evaluados durante el almacenamiento

#### 5.3.2.1. Actividad acuosa de los rellenos almacenados

La actividad acuosa de las muestras se determinó por duplicado según el procedimiento descrito en la Sección 3.4.5.

#### 5.3.2.2. Humedad relativa de los rellenos almacenados

La humedad se determinó por desecación usando el método oficial ([AOAC 24.002, 1984](#)). Se determinó el peso ( $m_0$ ) de placas de Petri taradas con varilla de vidrio y con arena, la cual había sido previamente lavada con solución diluida de ácido clorhídrico y calcinada. Se pesó  $5,0 \pm 0,5$  g de muestra y se disgregó con la arena para facilitar el secado y se determinó el peso  $m_1$ . El residuo seco (de peso  $m_2$ ) se obtuvo dejando los preparados en estufa a  $100 - 103$  °C hasta peso constante. Los resultados se expresaron como g de agua/100 g de relleno, empleando la *Ec.5.1*. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

$$Humedad(\%) = 100 \frac{(m_1 - m_0) - (m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \quad Ec.5.1$$

### **5.3.2.3. Textura de los rellenos almacenados**

Se analizaron los parámetros de textura de las muestras conservadas (dureza, cohesividad, adhesividad, tiempo de relajación y elasticidad), según el procedimiento descrito en la Sección 3.4.3.

### **5.3.2.4. Evaluación de la capacidad antioxidante de los rellenos almacenados**

Se determinó la capacidad antioxidante tal como se describió en la Sección 4.3.3.3, para los distintos tiempos de almacenamiento.

### **5.3.2.5. Determinación de la oxidación lipídica de los rellenos almacenados**

Para la determinación de los compuestos primarios de oxidación lipídica se realizó previamente una extracción de los lípidos del relleno.

#### **5.3.2.5.1. Extracción de los lípidos**

Se extrajeron los lípidos de los rellenos introduciendo modificaciones al método de Schmid - Bondzynski - Ratzlaff, descrito por la Federación Internacional de Lácteos ([IDF 5 - ISO 1735, 2004](#)), eliminando la etapa de tratamiento térmico de la muestra para evitar la oxidación de los lípidos durante el procedimiento de extracción, por efecto del aumento de la temperatura ([Decker y McClements, 2008](#)).

En vaso de precipitado de 100 mL se colocaron aproximadamente 2,5 g de muestra de relleno y se agregaron 10 mL de HCl 6,95 N, agitando durante 30 min con agitador magnético. Se transfirió el contenido a una probeta graduada de 100 mL con tapa esmerilada y se lavó dos veces el vaso de precipitado con 10 mL de alcohol etílico. Se agregaron 50 mL de éter de petróleo (punto de ebullición 30 - 65 °C) y ambas fases entraron en contacto por inversión. Luego de un reposo de 24 horas se midió el volumen

de la capa etérea y se tomó una alícuota de la misma empleando pipeta de doble aforo. Se evaporó el éter a temperatura ambiente en un vaso de precipitado previamente tarado. Una vez evaporado el éter, se determinó el contenido de lípidos por diferencia de peso y se expresó el contenido total de lípidos considerando el volumen de la alícuota, el volumen total de la capa etérea y el peso de la muestra.

### 5.3.2.5.2. Determinación del índice de peróxidos

Se determinó el índice de peróxidos sobre la fracción de lípidos extraídos de los rellenos elaborados, introduciendo algunas modificaciones al método descrito por la Federación Internacional de Lácteos ([IDF 74 - ISO 3976, 2006](#); [Patrignani y col., 2015](#)). Este método de cuantificación se basa en la capacidad de los peróxidos para oxidar el ion ferroso (Fe (II)) a ion férrico (Fe (III)), con la posterior formación de un complejo coloreado entre el Fe (III) y el tiocianato (Fig. 5.6).



**Fig. 5.6:** Reacción de formación del complejo rojo entre el ion férrico y el tiocianato

Se añadió alcohol isopropílico (4,95 mL) a 0,1 g de lípidos extraídos y se homogeneizó con un agitador durante 15 segundos. Se adicionaron 0,025 mL de  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (sal de Mohr) 0,72 % p/v recién preparada. Esta sal es muy conocida por su alta solubilidad en agua y su estabilidad a la oxidación ([Díaz, 2002](#)). Luego se agregaron 0,025 mL de solución de tiocianato de amonio ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ , 30 % p/v). El blanco de reactivo se preparó de la misma manera, sin la muestra. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 500 nm en un espectrofotómetro (UV-mini 1240 Spectrophotometers Shimadzu, Kyoto, Japón). La curva de calibración se realizó a partir de una solución de  $\text{FeCl}_3$  (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). El índice de peróxidos (*IP*) se expresó en mmol de oxígeno/Kg de lípidos, según la *Ec.5.2*. Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado.

$$IP = \frac{0,5m_c}{55,8m} \quad Ec.5.2$$

Donde  $m_c$  representa la masa de Fe (III) calculada a partir de la curva de calibración,  $m$  es la masa de lípidos y 55,8 corresponde al peso atómico del hierro. La medición se realizó en las dos formulaciones de rellenos cada 4 semanas durante un tiempo de conservación total de 24 semanas.

### 5.3.2.6. Ensayos microbiológicos

Se realizaron ensayos microbiológicos de los rellenos al comienzo y al final del período de almacenamiento, a fin de determinar su carga microbiana y evaluar la aptitud sanitaria de los productos.

#### 5.3.2.6.1. Recuento microbiano

Para el recuento microbiano se empleó la técnica de recuento en placa, trabajando en condiciones de esterilidad utilizando la cabina de flujo laminar. La dilución inicial se realizó mediante homogeneización en condiciones estériles de 10 g de muestra con 90 mL de agua peptonada estéril (0,1 % p/v) empleando un homogeneizador Stomacher (Seward Laboratory Blender 400, West Sussex, Reino Unido) operando a una velocidad de 100 rpm durante 60 segundos. Luego se realizaron tres diluciones seriadas (1:10; 1:100 y 1:1.000) en tubos de vidrio de 15 mL con agua peptonada estéril. Con estas diluciones se realizó, por duplicado, el recuento de microorganismos totales mesófilos aerobios y el de mohos y levaduras.

- ✚ Para el recuento de microorganismos totales mesófilos aerobios se extendió una alícuota de 1 mL de cada dilución en placas de Petri, que contenían el medio de cultivo “Plate Count Agar” (PCA, Oxoid, Hampshire, Reino Unido), con perlas de vidrio estériles. Se incubaron las placas a 37 °C durante 48 horas ([ANMAT, 2014a](#)). El PCA es un medio no selectivo que contiene extracto de levadura (2,5 g/L), tripteína (5 g/L), glucosa (1 g/L) y agar (15 g/L). Finalizado el tiempo de

incubación, el recuento de colonias se realizó en las placas que presentaron entre 30 y 300 unidades formadoras de colonias (UFC).

- ✚ El recuento de mohos y levaduras se realizó por siembra en superficie con alícuotas de 100  $\mu$ L de cada dilución. Nuevamente, se utilizaron perlas de vidrio estériles para extender la alícuota en placas de Petri con medio “Extracto de levadura, Glucosa, Cloranfenicol” (YGC, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). Se incubaron las placas a 25 °C durante 5 días ([ANMAT, 2014b](#)). El YGC es un medio selectivo que contiene levadura en polvo (5 g/L), glucosa (20 g/L), agar-agar (15 g/L) y cloranfenicol (0,1 g/L). Este último inhibe el crecimiento de las bacterias presentes en la muestra. Finalizado el tiempo de incubación, el recuento de colonias se realizó en las placas que presentaron entre 15 y 150 UFC.

Los recuentos obtenidos en los diferentes medios de cultivo fueron expresados como  $\log(\text{UFC})/\text{g}$  de relleno para los diferentes grupos de microorganismos analizados.

#### 5.3.2.6.2. Calidad sanitaria

Para asegurar la calidad sanitaria de los productos se determinó la presencia de coliformes totales utilizando el método del Número Más Probable (NMP) ([AOAC 46.016, 1984](#)). Esta técnica aprovecha la capacidad de los coliformes para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas en presencia de sales biliares. Las determinaciones se realizaron por triplicado, inoculando 1 mL de cada dilución en tubos con 10 mL de caldo MacConkey, con campanas de Durham y se incubaron a 37 °C. Se tomaron lecturas a las 24 y 48 horas, considerando una reacción positiva al observarse la generación de gas en la campana de Durham y cambio de color del indicador (de violeta a amarillo) por disminución del pH debido a la formación de compuestos ácidos. El caldo MacConkey contiene peptona (20 g/L), lactosa (20 g/L), bilis de buey (5 g/L) y púrpura de bromocresol (0,01 g/L) (Laboratorio Britania, Buenos Aires, Argentina). La peptona se utiliza como factor de crecimiento y la lactosa como hidrato de carbono fermentable. La bilis de buey se emplea para estimular el crecimiento de las bacterias coliformes e inhibir la mayor parte de la flora Gram positiva. Por último, el púrpura de bromocresol se utiliza como indicador de pH. Finalizado el tiempo de incubación, se

inferió el NMP cada 100 g de relleno empleando tablas de probabilidad y estadística basadas en la distribución de Poisson ([Anderson y Calderón, 1999](#)).

### 5.3.3. Metodología y herramientas estadísticas empleadas

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo para los parámetros estudiados mediante un análisis de varianza (ANOVA) para tres factores (contenido de miel, de manteca de cacao y de sacarosa). Para cada uno de los factores se estudiaron dos niveles. Se utilizó el test de mínimas diferencias significativas (LSD) para estudiar las comparaciones pareadas de medias. En todos los casos el nivel de significación considerado fue del 95 % ( $P < 0,05$ ). Todos los procedimientos estadísticos se llevaron a cabo mediante el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evaston, IL, EE.UU.). Los resultados experimentales se informaron como valor medio  $\pm$  el desvío estándar.

## 5.4. Resultados y Discusión

### 5.4.1. Evaluación de la aceptabilidad por parte de los consumidores

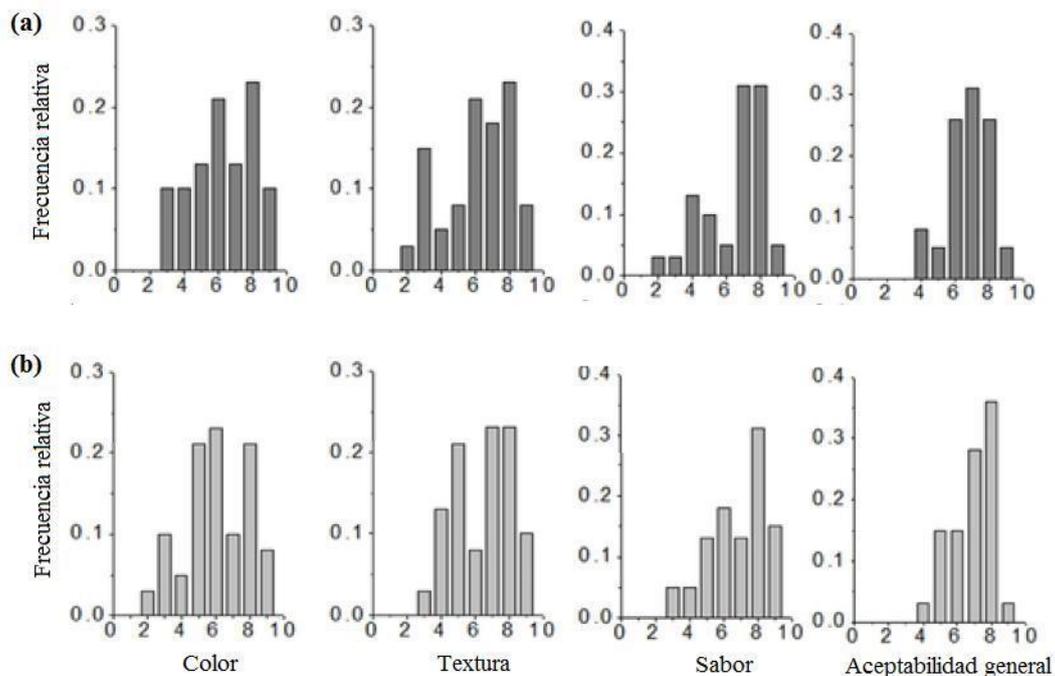
En la Tabla 5.1 se muestran los resultados obtenidos para las dos formulaciones estudiadas (valor medio  $\pm$  desviación estándar). Se consideró que al consumidor le gustó el atributo evaluado para valores mayores a 5 en la escala hedónica. Se analizó el puntaje medio obtenido para cada atributo sensorial y se determinó el porcentaje de los consumidores que indicó valores mayores a 5 en la escala hedónica. Las respuestas dadas por los evaluadores en lo referente a la aceptabilidad por atributos de los rellenos analizados se presentan en la Tabla III.1 del Anexo III.

**Tabla 5.1:** Puntajes sensoriales obtenidos para los rellenos analizados

Producto	Color	Sabor	Textura	Aceptabilidad general
<b>Relleno reducido en grasa y sacarosa</b>	6,2 $\pm$ 0,3 (80,0 %)	6,4 $\pm$ 0,3 (80,0 %)	6,1 $\pm$ 0,3 (75,0 %)	6,6 $\pm$ 0,2 (90,0 %)
<b>Relleno control</b>	6,0 $\pm$ 0,3 (82,5 %)	6,8 $\pm$ 0,3 (90,0 %)	6,4 $\pm$ 0,3 (82,5 %)	6,8 $\pm$ 0,2 (95,0 %)

Entre paréntesis se indica el % de evaluadores que informó un valor superior a 5

El análisis de los resultados obtenidos indicó que, para las dos formulaciones estudiadas, todos los atributos evaluados fueron aceptados por los panelistas (Tabla 5.1). En la Fig. 5.6 se presentan los valores de frecuencia relativa de los puntajes obtenidos para los distintos atributos evaluados.

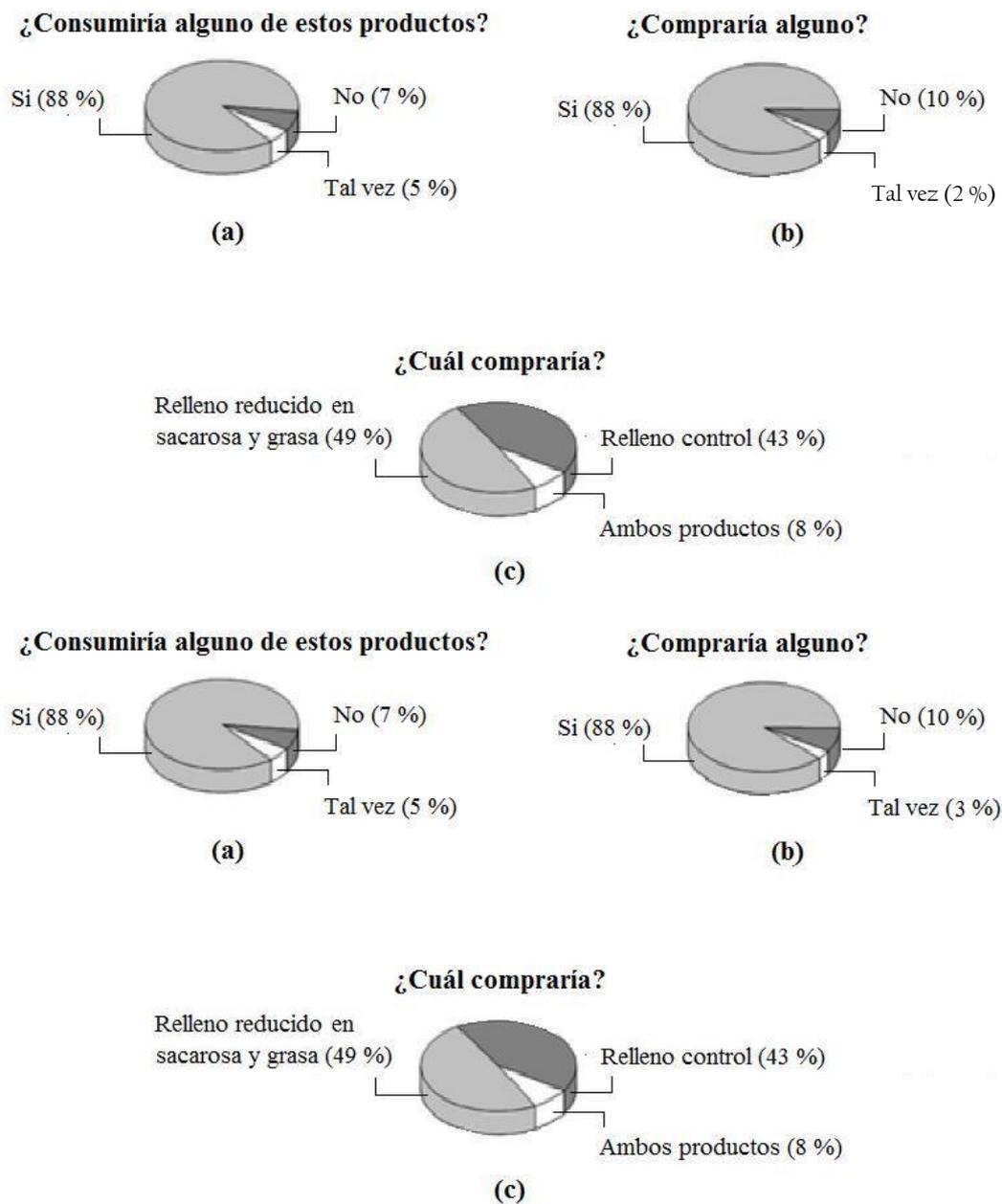


**Fig. 5.6:** Frecuencia relativa de respuestas obtenidas por panelistas no entrenados en la evaluación de color, sabor, textura y aceptabilidad general de galletitas rellenas con **a)** relleno reducido en grasa y sacarosa y **b)** relleno control

Se observó que aproximadamente la mitad de los encuestados dieron puntajes de atributos comprendidos entre 5 y 9. Además, al comparar los histogramas se puede observar que una mayor cantidad de evaluadores asignaron puntajes mayores a 7 a los rellenos reducidos en grasa y sacarosa respecto al relleno control, en lo referente a sabor y aceptabilidad general. Asimismo, no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en la calificación de preferencia entre las muestras en ninguno de los atributos analizados. Esto sugiere que podría emplearse la miel como sustituto parcial de sacarosa y grasa en los rellenos, sin modificar las características sensoriales.

Resultó llamativo que los evaluadores percibieron a estos productos como “muy saludables” sin conocer las formulaciones de los mismos (para ambas muestras, el valor de la media fue superior a 6 puntos). Este resultado podría explicarse considerando que

los evaluadores fueron consultados respecto a su posibilidad de consumir fibra alimentaria y miel, antes de realizar el ensayo, para seguridad alimentaria. Esta consulta previa podría haber influenciado la respuesta de los consumidores, dado que estos ingredientes son cada vez más asociados con beneficios para la salud. También, en la Fig. 5.7 se muestra la intención de consumo, la intención de compra y la preferencia de los rellenos evaluados.



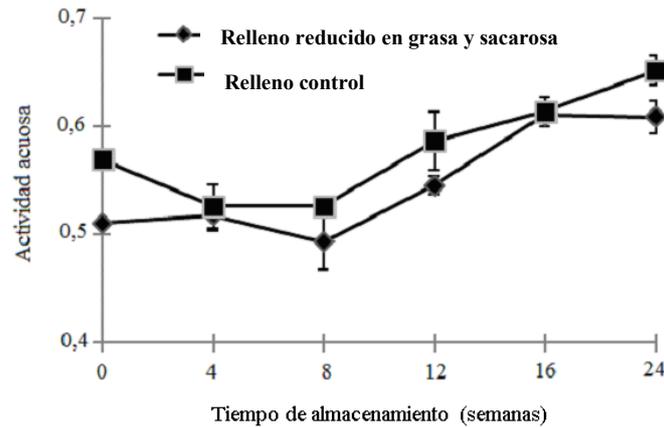
**Fig. 5.7.** (a) Intención de consumo, (b) intención de compra y (c) preferencia de compra entre las galletitas rellenas con relleno reducido en grasa y sacarosa y con relleno control

La intención de compra y consumo de las galletitas rellenas fue muy elevada para este grupo de consumidores (las respuestas dadas por los evaluadores en la encuesta se presentan en la Tabla III.2 del Anexo III). El 88 % de los evaluadores indicó que consumirían y comprarían estos productos (Fig. 5.7a y 5.7b). Es interesante destacar que todos los encuestados que habían informado intención de consumo, también indicaron que comprarían dichos productos. Estos resultados pueden entenderse teniendo en cuenta la reseña realizada por [Maina \(2018\)](#) en la cual explica que existe una fuerte correlación entre la calidad del sabor o gusto y la aceptabilidad del producto. Por ejemplo, la presencia de dulzor o salinidad bien perceptible en un alimento aumenta la palatabilidad del producto, mejorando así su aceptabilidad. Esto se basa, además, en que los sabores básicos como umami, ácido, dulce, amargo y salado son importantes porque dan idea a la persona de la calidad nutritiva del alimento y determinan su aceptabilidad. Por ejemplo, el sabor dulce infiere una alta concentración de carbohidratos, específicamente monosacáridos, mientras que los sabores salados están asociados con proteínas y electrolitos, todos nutrientes esenciales para la vida. Por lo tanto, los alimentos dulces en general son muy aceptados por los consumidores.

En resumen, podría destacarse que los resultados hallados en el ensayo de aceptabilidad de este Trabajo de Tesis resultan muy alentadores por tratarse de una formulación nueva, reducida en grasa y sacarosa que sería exitosamente recibida por los consumidores de este tipo de productos.

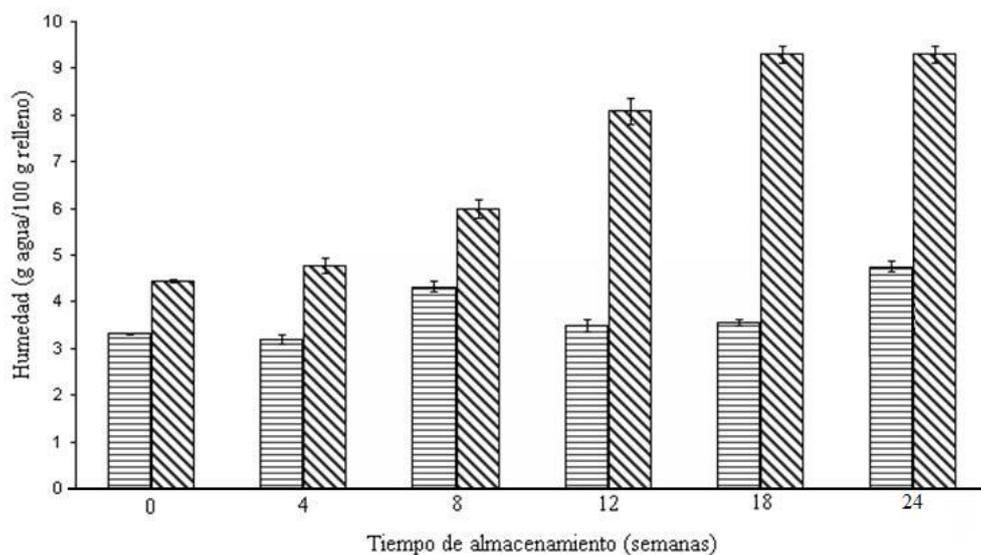
#### **5.4.2. Actividad acuosa y contenido de humedad de los rellenos almacenados**

La actividad acuosa de un producto indica su tendencia a absorber o ceder humedad durante el almacenamiento, dependiendo de la humedad relativa (*HR*) del ambiente ([Subramaniam, 2000](#)). Si la actividad acuosa del producto es mayor que la *HR* del ambiente, el producto tenderá a secarse; mientras que aquellos productos con  $a_w$  menor a la *HR* del ambiente absorberán humedad durante la conservación. En la Fig. 5.8 se pueden observar los valores de actividad acuosa obtenidos para los rellenos durante el tiempo de conservación estudiado.



**Fig. 5.8.** Actividad acuosa de los rellenos control (■) y con miel (◆) a diferentes tiempos de almacenamiento a 20 °C

La actividad acuosa de los rellenos al inicio y al final del almacenamiento fueron significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ). Durante el tiempo de ensayo, la actividad acuosa de los rellenos aumentó significativamente ( $P < 0,05$ ), probablemente debido a que el envase de PP no es impermeable al vapor de agua y a que la humedad relativa ambiente fue de  $63 \pm 5 \%$  durante el almacenamiento. Al culminar el ensayo, el relleno reducido en grasa y sacarosa presentó una actividad acuosa de  $0,609 \pm 0,014$ , mientras que para el relleno control fue de  $0,652 \pm 0,016$ , y estos valores fueron significativamente diferentes entre ellos ( $P < 0,05$ ).



**Fig. 5.9.** Humedad de los rellenos control (▨) y con miel (▩) a diferentes tiempos de almacenamiento

En la Fig 5.9 se muestra la variación del contenido de humedad de los rellenos durante el tiempo de almacenamiento ensayado. Siguiendo la tendencia observada para la actividad acuosa, el contenido de humedad de los rellenos reducidos en grasa y sacarosa aumentó significativamente con el tiempo ( $P < 0,05$ ), alcanzando una humedad máxima cercana al 10 %. El relleno control tuvo una fluctuación durante su almacenamiento, con un aumento hasta la semana 8, seguido de una disminución y posterior aumento al tiempo final, alcanzando una humedad máxima levemente inferior al 5 %. Esto evidencia diferencias significativas entre los dos tipos de rellenos, las cuales probablemente se deban a los efectos combinados entre la permeabilidad al vapor de agua del envase de PP y el carácter higroscópico de la miel. Esto es, la miel absorbe agua del ambiente, y así el producto tendrá mayor humedad y actividad acuosa que el producto control. El relleno con miel es más higroscópico que el relleno control debido a la presencia de azúcares con grupos hidroxilo capaces de retener el agua absorbida ([Deal y Vaida, 2022](#)), obteniéndose un valor de  $a_w$  relativamente bajo (el agua está menos libre).

Cabe notar que incluso empleando un envase permeable al vapor de agua, durante el tiempo de almacenamiento ensayado la  $a_w$  de los rellenos siempre se mantuvo inferior a 0,7, lo cual, de acuerdo a [Tapia y col. \(2020\)](#) aseguraría la estabilidad microbiológica del alimento.

#### 5.4.3. Atributos de textura de los rellenos durante el almacenamiento

Resulta de importancia conocer el perfil de textura de los productos almacenados para poder evaluar los posibles cambios que se produzcan durante la conservación ([Esen y Güzeler, 2023](#); [Wedamulla y col., 2023](#)). Estos cambios podrían ser percibidos por los consumidores e impactar en la aceptación del producto. Se compararon diferentes atributos de textura al inicio y al final del almacenamiento para el relleno control y el relleno reducido en grasa y sacarosa (Tabla 5.2).

**Tabla 5.2:** Valores de dureza (N), adhesividad (J), cohesividad, elasticidad y tiempo de relajación (s) de los rellenos analizados al inicio (semana 0) y luego de 24 semanas de almacenamiento a 20 °C

Parámetro	Relleno control		Relleno reducido en grasa y sacarosa	
	0 semanas	24 semanas	0 semanas	24 semanas
<b>Dureza</b>	7,94±2,21 <sup>a</sup>	37,50±8,95 <sup>b</sup>	21,13±4,31 <sup>a</sup>	23,80±4,26 <sup>a</sup>
<b>Adhesividad</b>	0,09±0,03 <sup>a</sup>	0,18±0,10 <sup>a</sup>	0,54±0,15 <sup>a</sup>	0,38±0,30 <sup>a</sup>
<b>Cohesividad</b>	0,10±0,01 <sup>a</sup>	0,10±0,09 <sup>a</sup>	0,22±0,05 <sup>a</sup>	0,22±0,05 <sup>a</sup>
<b>Elasticidad</b>	0,47±0,07 <sup>a</sup>	2,11±1,59 <sup>a</sup>	0,15±0,03 <sup>a</sup>	5,24±1,04 <sup>b</sup>
<b>Tiempo de relajación</b>	0,10±0,05 <sup>a</sup>	0,09±0,01 <sup>a</sup>	0,13±0,01 <sup>a</sup>	0,18±0,01 <sup>a</sup>

Los valores informados corresponden a las medias  $\pm$  desviaciones estándar. Supraíndices iguales indican que las medias de una misma muestra no se diferencian significativamente a tiempos inicial y final

En la Tabla 5.2 puede observarse que durante el tiempo de conservación estudiado no hubo diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en la adhesividad, cohesividad y tiempo de relajación para ninguno de los rellenos elaborados. Por otra parte, durante el almacenamiento aumentó la dureza ( $P \leq 0,05$ ) del relleno control y la elasticidad del relleno reducido en grasa y sacarosa. La variación de la dureza en el relleno control puede deberse a la presencia de grandes cantidades de manteca de cacao en dicha formulación. Durante el tiempo de conservación pueden ocurrir transiciones polimórficas de los lípidos en la fase grasa. El polimorfismo es la capacidad de una materia grasa de cristalizar en distintas celdas unidades dependiendo de las condiciones de proceso. Es decir, si bien la composición química es la misma, al variar el empaquetamiento de los triglicéridos varía el punto de fusión de la materia grasa. Los arreglos estructurales asociados a estos cambios repercuten directamente sobre la textura del producto ([Afoakwa y col., 2007](#)). Este es un efecto ampliamente estudiado en chocolate y sus derivados ([Nguyen y col., 2021](#)), ya que durante el almacenamiento se produce el endurecimiento de estos productos como resultado de las transiciones en la cristalización de la manteca de cacao. En este mismo sentido, el relleno reducido en grasa y sacarosa no varió su dureza durante la conservación ( $P < 0,05$ ), probablemente por el menor contenido de manteca de cacao, la presencia de miel en la formulación y la ganancia de humedad.

La elasticidad indica la capacidad que tiene la muestra de volver a su forma original luego de ser sometida a una deformación ([Gunasekaran y Ak, 2003](#)). Al inicio del almacenamiento, la elasticidad del relleno control y la del relleno reducido en grasa y sacarosa fue de  $0,47 \pm 0,07$  y  $0,15 \pm 0,03$ , respectivamente. Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos en el Capítulo 4, según los cuales la elasticidad aumenta para los rellenos enriquecidos en azúcar y disminuye para los rellenos con mayor cantidad de miel. El aumento significativo en la elasticidad de los rellenos reducidos en

grasa y sacarosa, coincide con la tendencia observada para la actividad acuosa y el contenido de humedad de los mismos, previamente discutidas, lo cual probablemente se deba a los efectos combinados entre la alta permeabilidad al vapor de agua del envase de PP y el carácter higroscópico de la miel, que resulta en un producto más elástico.

#### 5.4.4. Actividad antioxidante de los rellenos durante el almacenamiento

En la Tabla 5.3 se presentan los resultados obtenidos al determinar la capacidad antioxidante de los rellenos estudiados mediante las técnicas de FRAP y DPPH, durante el tiempo de almacenamiento.

**Tabla 5.3:** Capacidad antioxidante de los rellenos determinada semanalmente mediante las técnicas de FRAP y DPPH ( $\mu\text{mol TROLOX/g}$ ) en rellenos control y reducido en grasa y sacarosa, durante 24 semanas de almacenamiento a 20 °C

Muestra	Tiempo (semanas)	Antioxidantes (DPPH)	Antioxidantes (FRAP)
<b>Relleno control</b>	0	0,351±0,011 <sup>ab</sup>	0,493±0,022 <sup>a</sup>
	4	0,339±0,022 <sup>a</sup>	0,524±0,073 <sup>a</sup>
	8	0,434±0,002 <sup>d</sup>	0,560±0,001 <sup>ab</sup>
	12	0,358±0,009 <sup>ab</sup>	0,565±0,011 <sup>ab</sup>
	24	0,371±0,001 <sup>b</sup>	0,699±0,130 <sup>b</sup>
<b>Relleno reducido en grasa y sacarosa</b>	0	0,439±0,020 <sup>c</sup>	1,157±0,046 <sup>c</sup>
	4	0,492±0,002 <sup>c</sup>	1,105±0,031 <sup>c</sup>
	8	0,530±0,012 <sup>f</sup>	1,168±0,127 <sup>c</sup>
	12	0,401±0,002 <sup>c</sup>	1,137±0,144 <sup>c</sup>
	24	0,407±0,010 <sup>c</sup>	1,379±0,048 <sup>d</sup>

Los valores informados corresponden a las medias  $\pm$  desviaciones estándar. Supraíndices iguales en una columna indican que las medias no se diferencian significativamente ( $P > 0,05$ )

Durante la conservación aumentó la capacidad antioxidante medida mediante la técnica de FRAPP para ambos rellenos. Ambos ensayos indicaron que, durante la conservación, el relleno reducido en grasa y sacarosa presentó un poder antioxidante superior al del relleno control. Si bien el contenido de antioxidantes iniciales resultó ser levemente mayor a los valores presentados en el Capítulo 4 (Sección 4.4.1.2), cabe destacar que para la realización de los ensayos de conservación se utilizó una partida diferente de manteca de cacao, la cual probablemente presentaría un mayor contenido de antioxidantes.

Otro ingrediente presente en ambas formulaciones es la fibra de avena, la cual también puede influir positivamente en la estabilidad lipídica de los rellenos. La capacidad antioxidante de la fibra de avena ha sido revelada en diversos estudios ([Martínez-Tomé y col., 2004](#); [Savas y Akan, 2021](#); [Gao y col., 2021](#); [Akan y col., 2023](#); [dos Santos y col., 2021](#)).

#### **5.4.5. Estabilidad oxidativa de los rellenos almacenados**

Tanto para el relleno control como para la formulación reducida en grasa y sacarosa, el valor de *IP* no varió significativamente durante el almacenamiento ( $P > 0,05$ ), manteniéndose siempre inferior a 0,5 mmol de oxígeno/Kg de grasa. Este bajo nivel de oxidación lipídica podría estar asociado a la presencia de manteca de cacao en las formulaciones, la cual si bien cuenta con una alta proporción de ácidos grasos insaturados, también posee antioxidantes naturales en su composición ([Muhammad y col., 2021](#)). A partir de estos resultados se podría afirmar que los rellenos estudiados no se oxidaron durante el ensayo de almacenamiento, incluso empleando un envase permeable al oxígeno como el PP.

Además, aunque se encuentra en baja proporción, la goma xántica es un ingrediente que está presente en ambas formulaciones y podría contribuir a la estabilidad oxidativa de los lípidos. [Qui y col., \(2015\)](#) estudiaron la influencia de dos fibras dietarias aniónicas (goma xántica y pectina) en la estabilidad oxidativa de emulsiones de aceite de pescado estabilizadas con proteína de trigo. Estos autores observaron que la goma xántica inhibía la oxidación lipídica debido a que su estructura química tiene la capacidad de unir iones de hierro (II) en los sitios aniónicos de piruvato a lo largo de la cadena del polisacárido. Como consecuencia, el nivel de iones Fe (II) libres, disponibles para promover la oxidación de lípidos en el relleno, estaría reducido.

#### **5.4.6. Calidad microbiológica y sanitaria de los productos**

Se determinó el número de UFC para bacterias mesófilas aerobias totales y mohos y levaduras, empleando los medios PCA y YGC, respectivamente. En el recuento de

mesófilos totales se incluyen aquellos microorganismos capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno en un intervalo de temperatura de 20 a 45 °C. Una cuantificación del orden de  $10^6$  UFC/g de alimento suele ser indicio de descomposición ([Calderón y Pascual y Pascual Anderson, 1999](#)), mientras que una cuantificación inferior a  $10^3$  UFC/g se asocia a adecuadas condiciones higiénicas de las materias primas empleadas, manipulación y producto final obtenido ([ANMAT, 2014a](#)).

En la Tabla 5.4 se informan los recuentos de mesófilos totales, mohos y levaduras y coliformes totales en los rellenos al finalizar el almacenamiento. Como puede observarse en la Tabla 5.4, a pesar de la naturaleza higroscópica de la miel (ingrediente empleado en la formulación del relleno reducido en grasa y sacarosa), que da lugar a un producto con mayor humedad que el relleno control, no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los rellenos para el recuento de ninguno de los microorganismos estudiados.

**Tabla 5.4:** Recuento de mesófilos totales, mohos y levaduras (logUFC/g) y coliformes totales (NMP/g) en muestras de relleno control y de relleno adicionado con fibras dietarias y reducido en grasa y sacarosa, luego de 24 semanas de almacenamiento

Formulación	Mesófilos totales	Mohos y levaduras	Coliformes totales
Control	3,10±0,04 <sup>a</sup>	1,15±0,08 <sup>a</sup>	< 3
Reducida en grasa y sacarosa	2,88±0,17 <sup>a</sup>	1,57±0,17 <sup>a</sup>	< 3

En la reglamentación vigente del CAA, Art. 766 (Dec. 61, 17.1.77) no se especifican límites para el recuento de microorganismos. Sin embargo, como referencia, la reglamentación técnica y sanitaria para la elaboración, fabricación, circulación y comercio de galletitas rellenas del Código Alimentario Español, se especifica como norma microbiológica un recuento máximo de aerobios mesófilos de  $1 \times 10^4$  UFC/g de alimento. En esta misma norma también se recomienda que el recuento máximo de hongos y levaduras sea de  $2 \times 10^2$  UFC/g y hasta 10 UFC/g para coliformes totales ([Calderón y Pascual y Pascual Anderson, 1999](#)). Todos los recuentos obtenidos para los rellenos almacenados resultaron menores a los valores máximos especificados anteriormente. El recuento de coliformes totales resultó inferior al límite de detección del método empleado (< 3 NMP/g).

Estos resultados indican que tanto la calidad sanitaria como el recuento de microorganismos de deterioro resultaron satisfactorios una vez finalizado el almacenamiento. Esto también permitiría asegurar que las condiciones de elaboración y envasado de las dos formulaciones fueron adecuados a fin de mantener un estado sanitario seguro para los rellenos estudiados.

### 5.5. Conclusiones del Capítulo

- ✚ Las dos formulaciones estudiadas fueron favorablemente evaluadas por los panelistas y no se encontraron diferencias significativas entre las formulaciones para ninguno de los atributos evaluados. Estos resultados indican que podría emplearse la miel como sustituto parcial de sacarosa y grasa en los rellenos, sin modificar las características sensoriales.
- ✚ La intención de compra de ambas formulaciones fue elevada. Esto resulta muy alentador ya que serían exitosamente recibidas por los consumidores de este tipo de productos.
- ✚ Durante el tiempo de almacenamiento estudiado, la actividad acuosa de los rellenos siempre se mantuvo inferior a 0,7; lo cual aseguraría la estabilidad microbiológica del alimento. Asimismo, no hubo diferencias significativas en la adhesividad, cohesividad y tiempo de relajación, mientras que aumentó la dureza del relleno control y la elasticidad del relleno reducido en grasa y sacarosa. Estas variaciones pudieron atribuirse a las propiedades de los ingredientes empleados en las formulaciones.
- ✚ El relleno reducido en grasa y sacarosa presentó un poder antioxidante superior al del relleno control durante la conservación. Incluso empleando un envase permeable al oxígeno como el PP, ambas formulaciones desarrolladas presentaron una buena estabilidad oxidativa durante el período de conservación evaluado.
- ✚ Los análisis microbiológicos determinaron que los rellenos estudiados resultaron aptos para su consumo durante 24 semanas posteriores a su elaboración.

- ✚ Por sus características de textura, actividad acuosa y sabor satisfactorias, y por las propiedades funcionales asociadas a los ingredientes adicionados (fibras y miel), el relleno para galletita reducido en grasa y sacarosa resultó apropiado para su consumo y representa una interesante alternativa saludable a los rellenos de galletitas existentes actualmente en el mercado.

## CAPÍTULO 6

### Cinética de secado, microestructura y textura de rellenos de galletitas adicionados con fibras dietarias y elaborados a partir de queso de leche ovina

#### 6.1. Introducción

Es sabido que la oferta y la variedad son dos características que definen el mercado de las galletitas. En el caso de las galletitas saladas o también denominadas de sabor salado, la variedad es considerablemente inferior a la exhibida para las galletitas dulces, pero también son muy aceptadas por los consumidores. [Wood \(2020\)](#) reporta que, según los resultados obtenidos a partir del estudio del mercado y de la tendencia del consumo para productos panificados y sus derivados, realizado en Estados Unidos, se prevé, en un futuro próximo y a nivel global, un incremento considerable en el consumo y en la fabricación de galletitas de sabor salado con o sin relleno.

Generalmente, los rellenos comerciales de sabor salado no contienen sacarosa como ingrediente principal en su formulación. En la Tabla 6.1 se presentan las materias primas empleadas para la elaboración de un relleno de sabor salado comercial ([Manley, 2011](#)). Se observa que se emplean componentes tales como: leche en polvo, queso en polvo, maltodextrina, levadura seca, almidones, sal, saborizantes, resaltadores de sabor y agentes gelificantes.

**Tabla 6.1:** Componentes principales (% p/p) de un relleno comercial salado sabor queso

Materia prima	(g/100 g)
Grasa	36,70
Suero de leche en polvo	10,10
Queso en polvo	36,70
Almidón	7,30
Agente gelificante	7,30
Sal	0,55
Saborizante	1,30
Colorante	0,05
Peso total	100,00

Los ingredientes en polvo detallados en la Tabla 6.1, no se caracterizan por disolverse en la boca con la misma facilidad con la que lo hace la sacarosa. En la industria, se opta por incrementar el contenido de grasa en las formulaciones de los rellenos no dulces, a fin de poder integrar mejor diversos ingredientes en la formulación y hacerlos más palatables. Así, el contenido de materia grasa en estos rellenos puede alcanzar niveles de hasta 53 g/ 100 g ([Manley, 2011](#)). Actualmente, la grasa más empleada en la manufactura de los rellenos es rica en ácidos grasos saturados puesto que es, regularmente, de origen vacuno. El consumo de este tipo de ácidos grasos se vincula a trastornos como obesidad, hipercolesterolemia y enfermedades cardiovasculares ([Pipoyan y col., 2021](#); [O'Connor y Rudkowska, 2019](#)). En menor medida, también se emplea margarina ([Davison y col., 2020](#)), la cual puede contener ácidos grasos trans, que han sido reconocidos como componentes poco saludables ([Nagpal y col., 2021](#)). Teniendo en cuenta que el consumo excesivo de estos componentes grasos puede considerarse un hábito no saludable, la ciencia de los alimentos incursiona en la mejora del valor nutricional y en la optimización de las operaciones de procesamiento de estos productos, en beneficio de la industria y de los consumidores. En este sentido, el queso se presenta como una alternativa versátil, que se puede utilizar como ingrediente para la elaboración de muchos productos alimenticios ([Guinee, 2011](#)). Las galletitas y los rellenos de sabor a queso son, dentro del sector del mercado de galletitas saladas, las más demandadas debido a que su sabor característico es ampliamente aceptado por los consumidores ([Battaiotto y Dello Staffolo, 2020](#)).

### 6.1.1. Queso de leche de oveja

La leche obtenida a partir del ganado ovino constituye una materia prima altamente valiosa debido a su alto rendimiento ([Gall, 2013](#)), puesto que contiene más grasa, caseína y minerales que las leches provenientes de vaca o cabra ([Park y col., 2007](#); [Balthazar y col., 2012](#); [Balthazar y col., 2017](#)). En este sentido, [Gall \(2013\)](#) advierte que la diferencia en la composición nutricional de la leche de oveja respecto a la leche de vaca se ve fuertemente reflejada en su mayor rendimiento quesero. Si bien la cantidad de materia grasa en la leche de oveja es superior a la presente en la leche de vaca, la primera contiene una gran proporción de ácidos grasos de cadena corta y media, los

cuales están asociados al aumento de la absorción de lactosa y a la disminución de los depósitos de colesterol ([Mohapatra y col., 2019](#)). Asimismo, los pequeños glóbulos de grasa presentes en la leche de oveja favorecen su digestibilidad y no contribuyen al aumento del colesterol sanguíneo ([Park y col., 2007](#)).

Los productos derivados de la leche de oveja, como por ejemplo el queso, resultan ser menos colesterolémicos y presentan un mayor contenido de proteínas, de materia grasa y de minerales (calcio, magnesio, manganeso, hierro, fósforo y zinc) con respecto a los subproductos de la leche de vaca ([Skeaff y col., 2004](#)). Por esta razón, el queso obtenido a partir de la leche de oveja podría considerarse un sustituto viable para ser empleado como materia prima en la elaboración de rellenos de galletitas saladas y tipo copetín, en lugar de la grasa vacuna. Además, el queso de leche ovina constituye un excelente ingrediente para desarrollar un alimento funcional, por poseer características alimenticias muy valorables por los consumidores. Cabe recordar que los alimentos funcionales son aquellos que contienen ingredientes que benefician la salud del consumidor, además de ser nutritivos ([Takahashi y col., 2019](#); [Otlés y Gokgunec, 2023](#)).

Otros ingredientes como los hidrocoloides, se utilizan en productos lácteos y en sus derivados comerciales para mitigar la separación de las fases y proporcionar viscosidad, cuerpo, adherencia y estabilidad ([Schmidt y Smith, 1992](#); [Tárrega y col., 2004](#)). La elección del hidrocoloide a emplear en una formulación dependerá, entre otras cosas, de las propiedades mecánicas deseadas, la temperatura de los distintos procesos y las interacciones con otros ingredientes.

### **6.1.2. Propiedades y características de los hidrocoloides aempleados en la elaboración de los rellenos**

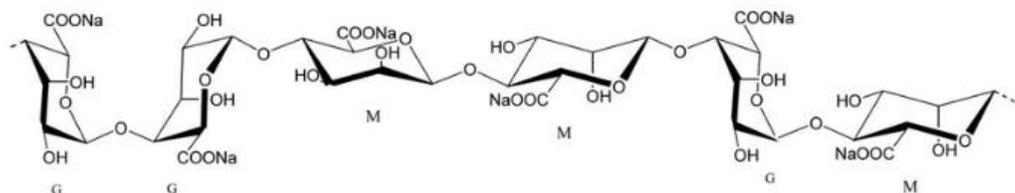
En la industria de los alimentos, los hidrocoloides se utilizan comúnmente con la finalidad de espesar y estabilizar las formulaciones. Algunos de los hidrocoloides que pueden ser empleados en la elaboración de los rellenos son: goma xántica, alginato de sodio, goma garrofin y carragenanos ([Battaiotto y Dello Staffolo, 2020](#)).

### 6.1.2.1. Goma xántica

Las propiedades y características de la goma xántica fueron detalladas en la Sección 4.1.2, así como sus diversos usos en la industria de los alimentos.

### 6.1.2.2. Alginato de sodio

El nombre alginato se utiliza como término general para la gama de sales de ácido algínico que pueden ser empleadas en la elaboración de alimentos. Esta goma es producida mediante fotosíntesis y se encuentra en las paredes celulares y en los espacios intercelulares de las algas pardas (*Macrocystis pyrifera*) (Frankel, 1998). El alginato de sodio es una sal de sodio con un esqueleto lineal de ácido algínico compuesto por unidades de ácido D-manurónico (M) y ácido L-gulurónico (G), de composición y estructura secuencial muy variables (Fig. 6.1).

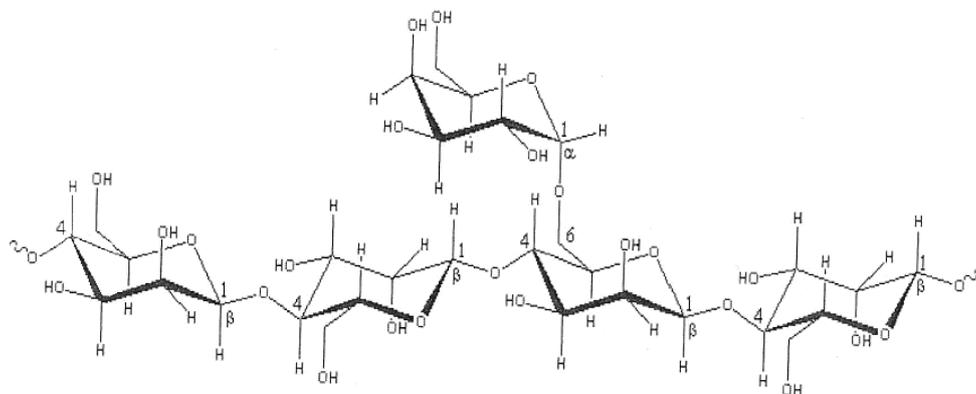


**Fig.6.1:** Estructura del alginato de sodio: secuencia de ácido gulurónico (G) y ácido manurónico (M)

Es una goma cargada negativamente (López y Suárez, 2005a). Su alta solubilidad en agua genera soluciones acuosas con alta viscosidad incluso a bajas concentraciones y son muy estables cuando se calientan en un rango de pH neutro. Según Wüstenberg (2015) en la industria alimentaria los alginatos se utilizan como emulsionantes, gelificantes, espesantes y como recubrimiento en la elaboración de diversos productos. Las sales de alginato combinan las propiedades de un emulsionante con las de un hidrocoloide gracias a la presencia de grupos lipofílicos e hidrofílicos en las moléculas. En particular, el alginato de sodio se usa para espesar y estabilizar alimentos ácidos y ricos en calcio, como los lácteos.

### 6.1.2.3. Goma garrofín

La goma garrofín se extrae de las semillas del algarrobo (*Ceratonia siliqua*) ([Frankel, 1998](#)). El polisacárido también se conoce en la literatura como goma de algarroba, goma de semilla de algarrobo o harina de algarroba ([Rowe y col., 2006](#)). Químicamente, la goma garrofín consiste en un esqueleto de D-manosa con cadenas laterales de D-galactosa ([Rowe y col., 2006](#)). La estructura esquemática de la cadena polimérica neutra (goma sin carga) se muestra en la Fig. 6.2 ([López y Suárez, 2005b](#)).



**Fig. 6.2:** Estructura molecular de la goma garrofín ([López y Suárez, 2005b](#))

Es importante mencionar que las cadenas laterales de galactosa no están espaciadas regularmente, sino que se pueden identificar regiones “ramificadas” y regiones “lisas”. Si bien la relación de manosa / galactosa es de aproximadamente 4:1, este valor puede variar según el origen y las condiciones de crecimiento de las plantas durante la producción. La goma garrofín se considera polidispersa desde un punto de vista químico, como resultado directo de tres tipos de variaciones estructurales: el grado de sustitución con galactosa, los patrones de los grupos laterales de galactosa y el grado de polimerización. Todas estas variables están relacionadas con los mecanismos de biosíntesis ([Pollar y col., 2008](#)).

Debido a su cantidad reducida de cadenas laterales, esta goma no es totalmente soluble en agua fría. Cuando se calienta a más de 80 °C es totalmente soluble y forma soluciones pseudoplásticas que, al ser enfriadas nuevamente, tienen una viscosidad mucho más alta que las soluciones preparadas en frío. El uso de esta goma en la industria alimentaria se ve favorecido dado su bajo contenido energético y alto

contenido en fibra, resultando adecuada para la formulación de alimentos saludables y productos destinados a diabéticos ([Wüstenberg, 2015](#)).

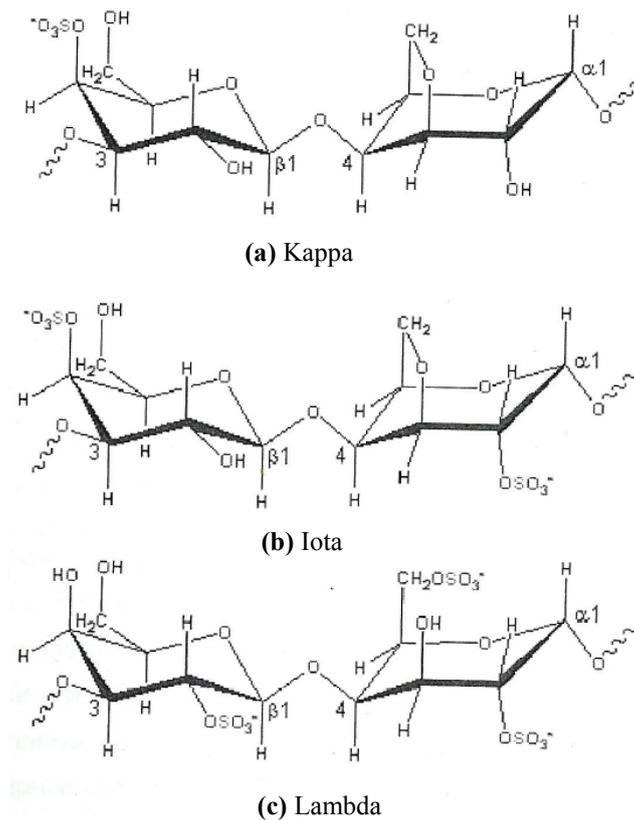
#### 6.1.2.4. Carragenanos

Se denominan carragenanos a una familia de sales de galactanos sulfatados con un contenido de sulfato de 18 a 40 %, obtenidas, a partir de extracto de algas mediante diferentes procesos de refinación. La producción mundial de carragenanos es de aproximadamente 50 mil toneladas anuales, de las cuales alrededor del 80 % se utiliza en la industria alimentaria ([Wüstenberg, 2015](#)).

Son moléculas grandes y altamente flexibles que se curvan dando lugar a estructuras helicoidales, lo cual les confiere la capacidad de formar diferentes tipos de geles a temperatura ambiente. Todos los carragenanos son polisacáridos de alto peso molecular compuestos de unidades repetitivas de galactosa y 3,6-anhidrogalactosa, unidas por la alternancia de enlaces glicosídicos  $\alpha(1\rightarrow3)$  y  $\beta(1\rightarrow4)$ . Se destacan tres clases principales de carragenanos llamados kappa ( $\kappa$ ), iota ( $\iota$ ) y lambda ( $\lambda$ ), que difieren en el contenido de unidades de 3,6-anhidrogalactosa y en el número y la posición de los grupos éster sulfato (Fig. 6.3). Estas diferencias les confieren características específicas que favorecen diversos usos en la industria de los alimentos.

En la Fig.6.3 se observa que los grupos éster de sulfato están siempre ionizados, por lo cual las moléculas de carragenanos resultan tener una carga neta negativa, incluso en medios fuertemente ácidos. Los carragenanos con un gran número de sustituciones de grupos éster sulfato en los residuos de galactosa tienden a formar geles de baja resistencia llegando, en algunos casos, a la inhibición total de la gelificación ( $\lambda$ -carragenina) ([Depypere y col., 2003](#)).

En la  $\kappa$ -carragenina (Fig. 6.3 a) los residuos de galactosa llevan un grupo éster sulfato en la posición 4. Su contenido de éster sulfato y de 3,6-anhidrogalactosa es de aproximadamente 22 % y 33 %, respectivamente. Se caracteriza por formar geles fuertes y rígidos. En presencia de iones potasio tiende a reaccionar con las proteínas lácteas. Se obtiene principalmente del alga *Kappaphycus alvarezii*.



**Fig. 6.3:** Representación de la estructura química de carragenanos tipo: (a) kappa ( $\kappa$ ), (b) iota ( $\iota$ ) y (c) lambda ( $\lambda$ )

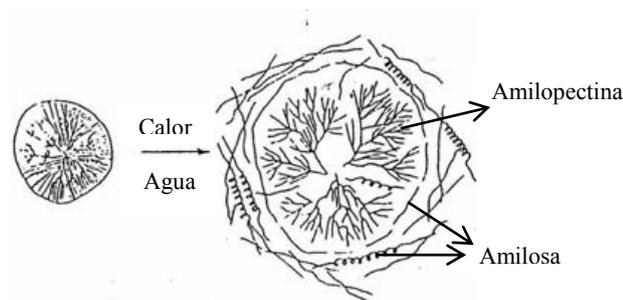
Por otra parte, en la  $\iota$ -carragenina (Fig. 6.3 b) los residuos de galactosa llevan un grupo éster sulfato adicional en la posición 2. Su contenido de éster sulfato y de 3,6-anhidrogalactosa es de aproximadamente 32 % y 26 %, respectivamente. Da lugar a la formación de geles blandos en presencia de iones calcio y se produce principalmente a partir del alga *Eucheuma denticulatum*.

Finalmente, si bien la  $\lambda$ -carragenina no gelifica, es muy utilizada para espesar productos lácteos y por su solubilidad en agua fría, que representa una ventaja operativa. La fuente más común son las algas de género *Giartina* de América del Sur. En su estructura molecular (Fig. 6.3 c), los residuos de galactosa llevan los grupos 2,6-disulfato en la posición 4 y 2-sulfato en la posición 3. Contiene aproximadamente un 37 % de éster sulfato con poca o ninguna cantidad de 3,6-anhidro-galactosa.

Los carragenanos comerciales contienen diferentes proporciones de configuraciones  $\kappa$ ,  $\iota$  y  $\lambda$  (Depypere y col., 2003), tal como el ingrediente empleado en el presente Trabajo de Tesis.

### 6.1.3. Gelatinización del almidón

Como se explicó en el Capítulo 3, el almidón se presenta como gránulos compuestos de una mezcla de dos polímeros: un polisacárido esencialmente lineal denominado amilosa y otro muy ramificado llamado amilopectina ([Fennema, 2017](#)). Si bien los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, pueden embeber agua de manera reversible. La capacidad espesante o de formar soluciones viscosas es alcanzada sólo cuando la suspensión acuosa de los gránulos es sometida a la acción del calor. Así, al calentar y agitar una suspensión de almidón nativo al 5 % hasta una temperatura aproximada de 80 °C, se produce la gelatinización del almidón. En este punto, se registra un aumento de la viscosidad de la solución. La gelatinización es la disrupción del ordenamiento de las moléculas en los gránulos (Fig. 6.4).



**Fig. 6.4:** Proceso de gelatinización del gránulo de almidón

La gelatinización se evidencia por el hinchamiento irreversible del gránulo, la pérdida de la birrefringencia y la pérdida de la cristalinidad. Los gránulos más grandes, gelatinizan primero. La gelatinización total se produce normalmente dentro de un intervalo más o menos amplio de temperatura, dependiendo del origen del almidón. Por ejemplo, para el almidón de maíz el rango es de 65 a 76 °C ([Donmez y col., 2021](#)).

En forma más detallada, el proceso de gelatinización ocurre de la siguiente manera: cuando los gránulos son calentados en un exceso de agua, se hinchan rápidamente y embeben suficiente líquido para aumentar varias veces su volumen. Como resultado, la porción cristalina de los gránulos funde y las cadenas de amilosa salen hacia fuera del gránulo, intactas, a menos que sufran una agitación vigorosa. Cuando el sistema se enfría, las cadenas de amilosa libres se ordenan en regiones microcristalinas, rodeando a

los gránulos hinchados, formando un gel rígido, firme y viscoelástico. Este tipo de gel de almidón se puede considerar como un gel compuesto, donde hay una matriz o red de cadenas de amilosa libres rellena por los gránulos hinchados ([Li, 2022](#); [Donmez y col., 2021](#)).

El tiempo de calentamiento de los gránulos de almidón es un factor a tener en cuenta dado que, a mayor tiempo de exposición al calor, se produce un mayor hinchamiento de los gránulos, la lixiviación adicional de amilosa y, eventualmente, si se aplican fuerzas de cizalla, la disrupción total del gránulo. Como resultado, se forma una pasta de almidón, con una fase continua de amilosa y/o amilopectina solubilizadas y una fase discontinua de restos de gránulos, sin alcanzarse la dispersión molecular completa.

En condiciones normales de procesado de alimentos elaborados con almidón y agua, es preciso tener en cuenta variables tales como la temperatura, la humedad y la agitación. Conforme se van hinchando los gránulos de almidón por la absorción de agua, las moléculas de amilosa hidratadas difunden hacia la fase externa (agua). Los gránulos de almidón hinchados se rompen con facilidad y son desintegrados por la agitación. Al enfriar, algunas moléculas se reasocian parcialmente para formar un precipitado o un gel. La firmeza del gel depende de la cantidad de zonas de asociación formadas, que a su vez está influenciada por la presencia de otros ingredientes tales como grasas, proteínas, azúcares, ácidos y agua ([Li, 2022](#)).

#### **6.1.4. Proceso de secado de los rellenos**

Como se explicó en el Capítulo 1, la principal causa del envejecimiento y deterioro de los alimentos compuestos, como las galletitas rellenas, está asociada al alto carácter higroscópico de las mismas ([Forsido y col., 2021](#)). Al verse favorecido el fenómeno de absorción de humedad se presentan consecuencias no deseables para este tipo de productos, como el ablandamiento y la deformación, entre otros. Además, la difusión de agua desde el relleno hacia las tapas puede disminuir la calidad organoléptica y microbiológica de este producto, con la consecuente reducción de su vida útil ([Labuza y Hyman, 1998](#); [Roudaut y Debeaufort, 2011](#); [Gulati y col., 2015](#); [Ozturk y Takhar, 2018](#)). En este sentido, cuando se añade agua a la formulación de los alimentos compuestos, [Manley \(2011\)](#) considera esencial que el proceso de elaboración cuente con



secado suelen ser menores a las de un secador de horno, su capacidad puede variar desde el uso doméstico/personal hasta el industrial. De este modo, su rango de adaptabilidad es bastante amplio.

### 6.1.5. Microestructura de los rellenos

Uno de los ingredientes empleados en la elaboración de los rellenos de sabor salado es usualmente el queso (Tabla 6.1). Su microestructura y composición química determinan los atributos organolépticos, como por ejemplo la textura. La red de proteínas del queso constituye el componente estructural principal que controla la deformación de la muestra frente a un dado esfuerzo. La concentración, el grado de hidrólisis y la hidratación de las proteínas, son factores que contribuyen a la rigidez de la red ([Fox y col., 2017](#)). También, es importante tener en cuenta el contenido de materia grasa en el queso, ya que los glóbulos de grasa provenientes de la leche, rellenan la estructura proteica tridimensional del queso, otorgándole una firmeza característica ([Waldron, 2020](#)). Se pueden lograr diferentes características de textura en un producto, manteniendo siempre la misma formulación, variando únicamente las condiciones de procesamiento. Por lo tanto, es relevante estudiar los parámetros texturales y la microestructura durante el proceso de secado de los rellenos, puesto que puede ayudar a comprender la influencia de los ingredientes y de las condiciones de procesamiento, sobre las características sensoriales y la estabilidad mecánica del producto.

Para estudiar la microestructura existen actualmente diferentes técnicas de microscopía. Una de ellas es la Microscopía Láser de Barrido Confocal (CSLM), que es una técnica de microscopía óptica que permite la observación de la microestructura de las muestras de alimentos a diferentes niveles de profundidad, mejorando la resolución a lo largo del eje de visualización y permite el seccionamiento óptico de la muestra. La preparación de la muestra no cambia su estructura original, o solo lo hace mínimamente, y se pueden diferenciar ciertos compuestos macromoleculares mediante el empleo de colorantes específicos. El uso de CSLM contribuye actualmente a la comprensión de varios procesos en diferentes campos de la ciencia de los alimentos ([Auty, 2013](#); [Auty, 2019](#); [Cai y col., 2024](#)).

## 6.2. Objetivos específicos del Capítulo

- ✚ Desarrollar rellenos de galletitas saludables empleando queso de leche de oveja, almidón de maíz y diferentes hidrocoloides (goma xántica, alginato de sodio, goma garrofin y carragenina), con características adecuadas para la fabricación de galletitas rellenas.
- ✚ Modelar las curvas de deshidratación de las muestras obtenidas durante el proceso de secado con aire caliente y determinar sus parámetros cinéticos.
- ✚ Evaluar la influencia del proceso de secado sobre los parámetros de textura de los rellenos formulados.
- ✚ Analizar la influencia del proceso de cocción y de secado sobre la microestructura de los rellenos mediante Microscopía Láser de Barrido Confocal.

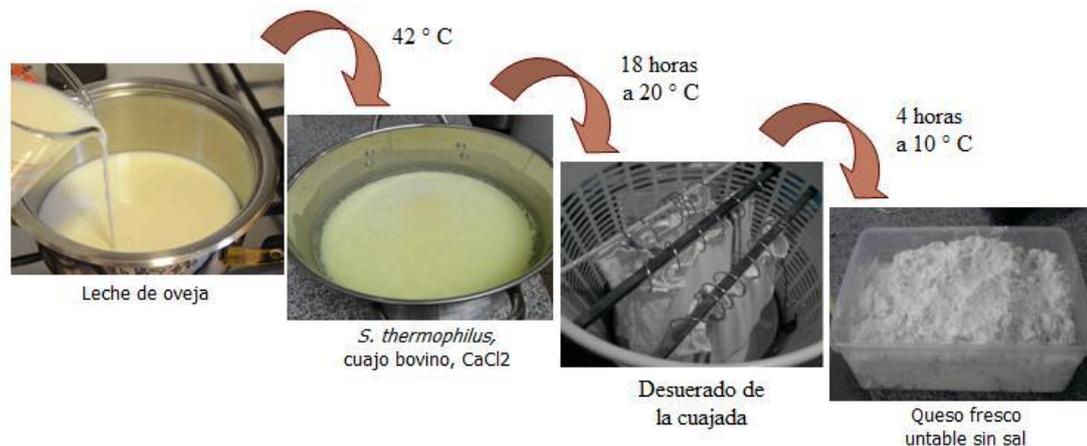
## 6.3. Materiales y Métodos

### 6.3.1. Elaboración del queso de oveja fresco sin sal

Para elaborar el queso untable sin sal, empleado como ingrediente principal en todas las formulaciones de relleno de galletita estudiadas, se utilizó leche de oveja raza *Pampinta* producida en la Estación Experimental Agropecuaria Anguil del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, La Pampa, Argentina). La leche se fraccionó en bidones de 20 L, los cuales fueron almacenados y congelados a  $-20 \pm 1$  °C hasta su uso.

Se empleó una muestra comercial liofilizada de *Streptococcus thermophilus* ST-MS como cultivo iniciador de inoculación directa (Chr. Hansen Inc., Hørsholm, Dinamarca). Además, para cuajar la leche, se usó cuajo líquido comercial CHYMAX 570 IMCU (Pourtau Rural, Bavio, Argentina) que contiene la enzima quimosina 100 % activa. Para la fabricación del queso se usaron 10 L de leche de oveja previamente pasteurizada a  $65 \pm 1$  °C durante 30 minutos. Después de enfriar a  $42 \pm 1$  °C, se adicionó cloruro de calcio y el cultivo iniciador (250 mg/L y 30 mg/L, respectivamente)

y se dejó reposar durante 2 horas a  $42 \pm 1$  °C. Seguidamente, se adicionó una alícuota de 0,04 mL/L de cuajo líquido comercial y se almacenó a  $20 \pm 1$  °C durante 18 horas. La cuajada formada se cortó transversalmente con cuchillo, se envolvió en gasa de algodón esterilizada y se dejó escurrir a  $10 \pm 1$  °C durante 4 horas. En la Fig. 6.6 se ilustra el proceso previamente descrito.



**Fig. 6.6:** Esquema del proceso de elaboración de queso de leche de oveja fresco sin sal

El pH del queso fresco obtenido fue  $4,6 \pm 0,3$  y su composición (g/100g): humedad  $66,0 \pm 0,4$  (AOAC 32.1.03, 1990), grasas totales  $16,5 \pm 0,6$  (IDF, 2004), proteínas  $13,9 \pm 0,5$  (AOAC, 988.05, 2000), cenizas  $1,0 \pm 0,1$  (AOAC 923.03, 1990) y carbohidratos totales (por diferencia)  $2,5 \pm 0,9$  (Battaiotto y Dello Staffolo, 2020). Todo el equipamiento de acero inoxidable utilizado en la preparación del queso, fue previamente sanitizado de acuerdo con los procedimientos establecidos por el Código Alimentario Argentino.

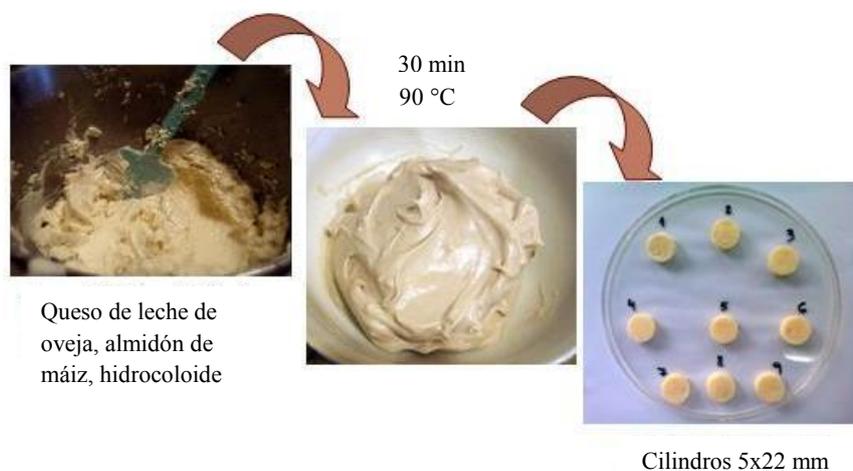
### 6.3.2. Elaboración de los rellenos sabor queso

Las formulaciones de los rellenos incluyen queso de leche de oveja untable sin sal, almidón de maíz (Maizena, Duryea®, Unilever, Argentina) y alguno de los siguientes hidrocoloides comerciales (Saporiti, Argentina): alginato de sodio (SA), goma garrofín (LB), goma xántica (XG) y carragenina (CA). Además, se elaboró una formulación de relleno sin hidrocoloide como control (Tabla 6.2).

**Tabla 6.2:** Componentes (% p/p) de las muestras de relleno sabor queso. CF: formulación de control sin hidrocoloide; XG: goma de xántica; SA: alginato de sodio; LB: goma garrofin; CA: carragenina

Ingredientes	CF	XG	SA	LB	CA
Queso de leche de oveja untable	96	93	93	93	93
Almidón de maíz	4	4	4	4	4
Hidrocoloide	0	3	3	3	3

Para la elaboración de los rellenos (Fig. 6.7) se fundió el queso fresco de oveja en un recipiente sumergido en un baño termostático a  $90 \pm 1$  °C (Haake L, Haake, Karlsruhe, Alemania). Luego, al queso fundido se le añadió almidón de maíz y por último el hidrocoloide, a excepción de la formulación control. Todos los ingredientes fueron incorporados de forma manual con una espátula hasta obtener una mezcla homogénea. Luego, se calentó mezclando continuamente durante 30 minutos a  $90 \pm 1$  °C para conseguir una consistencia cremosa a través de la gelatinización del almidón. Las muestras de relleno fueron moldeadas en forma de cilindros de  $22,0 \pm 0,2$  mm de diámetro y  $5,0 \pm 0,3$  mm de espesor.



**Fig. 6.7:** Esquema del proceso de elaboración de las muestras de relleno sabor queso

### 6.3.2.1. Determinación de la temperatura y el tiempo de cocción

Para establecer las condiciones de temperatura y tiempo de cocción para la elaboración de los rellenos, se registró la historia térmica de una muestra de relleno LB, con goma garrofin como agente espesante/gelificante. Para ello se colocaron los ingredientes

(Tabla 6.2) en un recipiente de acero inoxidable y se calentó en baño termostático (Haake, Alemania) hasta 98 °C, con agitación manual constante. Se midió la temperatura en el seno de la muestra en intervalos de 15 segundos, utilizando una termocupla de cobre-constantán tipo T y un sistema de adquisición de datos multicanal (Keithley modelo DAS-TC, EE.UU.).

Además, para establecer el tiempo de cocción, se analizó la microestructura de los rellenos a 0, 10, 20, 30, 40 y 50 minutos de cocción a 90 °C. Se tomaron muestras de relleno a distintos tiempos de cocción y se realizaron extendidos sobre portaobjetos. El grado de gelatinización de los rellenos frescos se determinó mediante observación con un microscopio de campo claro (Leica DMLB, Baden-Württemberg, Alemania) con cámara fotográfica integrada. Las imágenes tomadas se registraron con el software Leica DC 100 Versión 2.51 y analizadas con Global Lab Image Versión 2.10 ([Battaiotto y col., 2013a](#)).

### **6.3.3. Caracterización y determinación de los parámetros de calidad de los rellenos sabor queso**

#### **6.3.3.1. Determinación de la actividad acuosa**

Los valores de actividad acuosa de las muestras se determinaron de acuerdo a lo indicado en la Sección 3.4.5.

#### **6.3.3.2. Medición de los valores de pH**

Los valores de pH del queso de leche de oveja y de los rellenos se midieron por triplicado, empleando un equipo pHmetro (EC30, Hacht, Loveland, EE.UU.) con un electrodo de punta de vidrio para alimentos sólidos (Phoenix 557–3512, EE.UU.).

### 6.3.3.3. Determinación de la humedad

El contenido de humedad inicial de los rellenos se determinó por duplicado usando el método estándar AOAC 24.002 ([AOAC, 1984](#)), colocando aproximadamente 2 g de muestra y 10 - 15 g de arena lavada y calcinada, en una cápsula de aluminio previamente secada. Luego se llevó a 100 - 103 °C en estufa hasta peso constante. Los resultados fueron expresados como g de agua/100 g de relleno.

### 6.3.3.4. Análisis de perfil de textura

El análisis de perfil de textura se evaluó según lo detallado en la Sección 3.4.3. Las muestras de relleno de queso de leche de oveja se analizaron en diferentes instantes del proceso de elaboración, esto es: después del proceso de cocción y a distintos tiempos del proceso de secado. Además, se determinó la gomosidad de las muestras como el producto entre la dureza y la cohesividad ([Floury y col., 2009](#)). También se realizó el ensayo de TPA para un relleno sabor queso comercial, ampliamente aceptado por los consumidores, distribuido y consumido a temperatura ambiente (Club Social, Mondelez International, Tigre, Argentina).

### 6.3.4. Secado de las muestras de relleno sabor queso

Los rellenos, previamente moldeados, fueron secados en un túnel de secado equipado con bandejas de acero inoxidable con sistema de pesaje integrado, específicamente desarrollado para realizar experiencias a escala laboratorio ([Fiorentini y col., 2008](#)). Se hizo circular una corriente de aire a  $70 \pm 2$  °C con una humedad relativa de  $0,035 \pm 0,005$  g/100 g y a una velocidad de 2 m/s, durante 60 minutos. Estas condiciones operativas de secado por aire caliente son ampliamente usadas en la industria alimentaria ([Greensmith, 1998](#)). La humedad relativa del aire a 70 °C se determinó empleando un software de gráficos psicométricos (Akton Associates Inc., EE. UU.), ingresando las mediciones de temperatura ambiente y de humedad relativa ambiente

realizadas con un termohigrómetro Testo 608-H2 ([Demarchi y col., 2013](#)). Los ensayos se realizaron por triplicado.

#### 6.3.4.1. Modelado matemático de las curvas de secado

Las curvas de secado de los rellenos se obtuvieron a partir de la determinación del contenido de humedad de las muestras durante el proceso de secado. Para ello, se midió la variación en el peso de las mismas durante el secado, en intervalos de tiempo de 10 min. El contenido de humedad de los rellenos elaborados se determinó a partir de la resolución de un balance de masa (Ec.6.1), considerando constante el contenido de materia seca en el producto durante todo el secado.

$$W_t = \frac{m_t}{m_0} (1 + W_0) - 1 \quad \text{Ec.6.1}$$

Donde  $W_0$  y  $m_0$  son el contenido de humedad inicial (Kg agua/100 Kg m.s.) y la masa inicial del producto (Kg).  $W_t$  y  $m_t$  son el contenido de humedad y la masa del producto para un tiempo de secado  $t$ , respectivamente. A fin de describir el proceso de secado en bandeja de los rellenos sabor queso, con flujo de aire caliente paralelo a la superficie de evaporación, se aplicó el modelo matemático de secado de Henderson y Pabis (Ec.6.2), el cual corresponde al primer término de la serie de la solución analítica de la Segunda Ley de Fick ([Crank, 1975](#); [Henderson y Pabis, 1961](#)).

$$WR = \frac{W_t - W_{eq}}{W_0 - W_{eq}} = A \exp(-kt) \quad \text{Ec.6.2}$$

Donde  $WR$  es la humedad relativa adimensional,  $W_{eq}$  es el contenido de humedad de equilibrio,  $t$  es el tiempo de secado (min),  $A$  y  $k$  son las constantes características del modelo de Henderson y Pabis ([Henderson y Pabis, 1961](#)). Este modelo difusional para secado isotérmico ha sido ampliamente aplicado al estudio de procesos de

deshidratación en áreas de ciencia y tecnología de alimentos ([Martín-Gómez y col., 2020](#)). Al secar las muestras estudiadas durante más de 500 minutos, se encontró que los valores de  $W_{eq}$  resultaron despreciables frente a los valores de  $W_t$  y  $W_0$ , por lo tanto, la *Ec.6.2* se puede reducir a la *Ec.6.3*:

$$WR = \frac{W_t}{W_0} \quad \text{Ec.6.3}$$

Además, a partir de la *Ec.6.4* es posible definir la velocidad de secado media,  $DR$ , la cual está determinada por la cantidad de humedad evaporada en un intervalo de tiempo dado.

$$DR = \frac{W_{t+\Delta t} - W_t}{\Delta t} \quad \text{Ec.6.4}$$

Donde  $W_t$  y  $W_{t+\Delta t}$  son el contenido de humedad de las muestras a tiempo  $t$  y luego de un intervalo de tiempo entre medidas experimentales  $\Delta t$ .

Para medir el ajuste del modelo matemático propuesto para describir el comportamiento de las muestras durante el proceso de secado, se determinaron los valores estadísticos: grado de ajuste ( $R^2$ ), chi-cuadrado reducido ( $\chi^2$ ), error cuadrático medio ( $RMSE$ ) y eficiencia de modelado aumentada ( $EF$ ) ([Goyal y col., 2007](#); [Menges y Ertekin, 2006](#)). El valor de  $\chi^2$  corresponde al cuadrado medio de las desviaciones entre los valores experimentales y los calculados por el modelo, según la *Ec.6.5*. Este valor se utilizó para estimar si el ajuste del modelo era bueno, dado que cuanto menor es su valor, mejor es el ajuste. El  $RMSE$  (*Ec.6.6*) da la desviación entre los valores predichos y los experimentales, por lo cual es deseable que su valor tienda a cero. Por último, el  $EF$  (*Ec.6.7*) también da indicios de la capacidad del modelo para predecir el comportamiento de las muestras durante el proceso de secado, siendo su valor más alto el número 1.

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (WR_{\text{exp},i} - WR_{\text{pre},i})^2}{N - n} \quad \text{Ec.6.5}$$

$$RMSE = \left[ \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (WR_{\text{pre},i} - WR_{\text{exp},i})^2 \right]^{1/2} \quad \text{Ec.6.6}$$

$$EF = \frac{\sum_{i=1}^N (WR_{\text{exp},i} - \overline{WR}_{\text{exp},i})^2 - \sum_{i=1}^N (WR_{\text{pre},i} - WR_{\text{exp},i})^2}{\sum_{i=1}^N (WR_{\text{exp},i} - \overline{WR}_{\text{exp},i})^2} \quad \text{Ec.6.7}$$

Donde  $WR_{\text{exp},i}$  es la  $i$ -ésima determinación de la humedad relativa experimental;  $WR_{\text{pre},i}$  es la  $i$ -ésima humedad relativa predicha por el modelo y  $\overline{WR}_{\text{exp},i}$  es la  $i$ -ésima humedad relativa experimental media de las muestras a diversos tiempos de secado.  $N$  indica el número de mediciones experimentales realizadas y  $n$  es el número de constantes del modelo propuesto ([Wang y col., 2007](#); [Cihan y col., 2007](#); [Sacilik y Elicin, 2006](#)).

### 6.3.5. Microscopía Láser de Barrido Confocal

Mediante el uso de la tecnología de Microscopía Láser de Barrido Confocal, se analizó la microestructura a temperatura ambiente, de las muestras obtenidas durante distintos instantes del proceso de elaboración de los rellenos estudiados. Es decir, antes y después del proceso de cocción y al finalizar el proceso de secado con aire caliente.

La red proteica de las muestras se tiñó con el colorante fluorescente Fast Green (FCF) (Biopack, Argentina). El tinte fluorescente liposoluble Rojo Nilo (NR) (Sigma-Aldrich, St Louis, EE. UU.) se utilizó para visualizar los glóbulos de grasa. Los reactivos colorantes se prepararon disolviendo 0,1 mg de FCF en 1 mL de agua destilada y 0,02 mg de NR en 1 mL de etanol. Los rellenos se cortaron con bisturí en áreas cuadradas de 5,0 mm de lado y 1,0 mm de espesor. Las muestras se colocaron sobre portaobjeto y se les aplicó 0,3 mL de cada solución colorante. Tanto la difusión de los colorantes como la evaporación de los disolventes se realizaron en condiciones de oscuridad y a

temperatura ambiente, durante 30 minutos. A continuación, las muestras se aseguraron con un cubreobjetos de vidrio y se invirtieron para su observación microscópica. Las micrografías se obtuvieron con un microscopio láser de barrido confocal LEICA TCS SP5 (Leica Microsystems, Baden-Württemberg, Alemania). Las observaciones se realizaron empleando un zoom de 1,7, una lente de inmersión en aceite x 63 (apertura numérica de 1,3) y los láseres de He/Ne y Ar/Kr a una potencia del 30 % y 20 %, respectivamente. El colorante NR se excitó a una longitud de onda de 488 nm y el FCF a 633 nm. Los filtros de emisión se establecieron para intervalos de longitudes de onda entre 555 a 585 nm para el colorante NR y entre 660 a 710 nm para el colorante FCF. Los archivos de imágenes digitales se adquirieron con una resolución de 1024×1024 píxeles y se analizaron con el software LAS AF LITE (Leica Microsystems, Baden-Württemberg, Alemania). Se seleccionaron y evaluaron las imágenes más representativas de cada tipo de relleno y para cada una de las etapas de procesamiento consideradas.

### **6.3.6. Metodología y herramientas estadísticas empleadas**

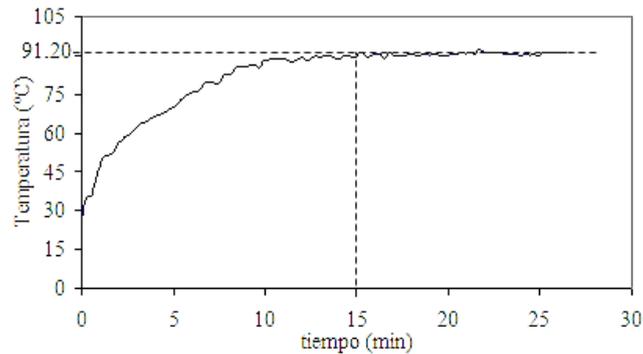
El análisis de varianza fue realizado con un diseño factorial de una sola vía. Para las comparaciones de medias se empleó la prueba de diferencias mínimas significativas (LSD). Las diferencias entre las medias y el Test - F se consideraron significativas cuando  $P < 0,05$ . Todos los procedimientos estadísticos se determinaron utilizando el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evanston, EE. UU.). Todos los resultados se expresaron como la media  $\pm$  desvío estándar.

## **6.4. Resultados y Discusión**

### **6.4.1. Condiciones de cocción de los rellenos**

La gelatinización total del almidón de maíz se produce normalmente dentro de un intervalo más o menos amplio de temperatura, que va de 62 a 80 °C ([Fennema y col., 2017](#)). En la Fig. 6.8 se presenta la curva de calentamiento obtenida. Se observa que la

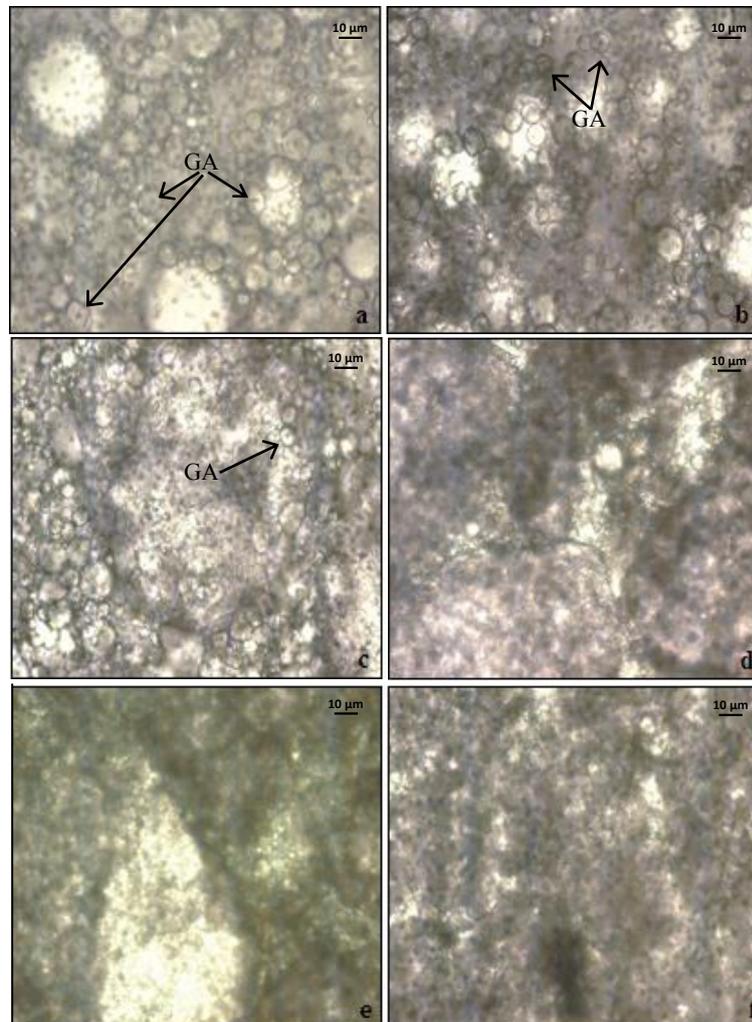
temperatura se elevó desde la temperatura ambiente hasta alcanzar 91,2 °C, en un intervalo de tiempo aproximado de 15 minutos, luego de lo cual se mantuvo constante. Teniendo en cuenta estos datos y la curva térmica obtenida (Fig. 6.8), en estas condiciones se produciría una adecuada gelatinización.



**Fig. 6.8:** Curva térmica para cocción de relleno (goma garrofin)

Sin embargo, es preciso considerar el tiempo de cocción, puesto que a tiempos largos no se obtiene un gel con la firmeza adecuada, así como la microestructura resultante por la combinación del efecto de gelatinización del almidón y del agua disponible en los rellenos para tal efecto. Para ello, se realizó un análisis micrográfico de muestras del relleno LB (con goma garrofin) luego de diversos tiempos de procesamiento: 0, 10, 20, 30, 40 y 50 minutos de cocción a 90 °C, a fin de establecer el tiempo de cocción al cual los gránulos de almidón se encuentran hinchados pero aún conservan su integridad (Fig. 6.9). Para todos los tiempos de cocción considerados, parte del almidón de la muestra permaneció como entidades discretas, lo cual puede deberse a que la disponibilidad de agua en el relleno no resultó suficiente para hidratar todo el almidón presente. En la Fig. 6.9a se evidenciaron agregados proteicos, gotas de grasa y gránulos de almidón distribuidos uniformemente en la mezcla. Luego de 10 min de cocción (Fig. 6.9b) se observó el hinchamiento de los gránulos de almidón más grandes, aunque la mayor proporción de los gránulos aún presentaban birrefringencia. Se analizó el porcentaje de gránulos de almidón sin gelatinizar remanentes en los campos de las imágenes correspondientes a los rellenos sometidos a 20 min de cocción (Fig. 6.9c) y 30 min (Fig. 6.9d). Considerando los gránulos con y sin cruz de malta, se estimaron valores de 60 % y 30 % de gránulos sin gelatinizar, para 20 y 30 min de cocción, respectivamente. Para

tiempos de cocción mayores, 40 y 50 min (Fig. 6.9e y f), los gránulos de almidón ya habían perdido su integridad totalmente.

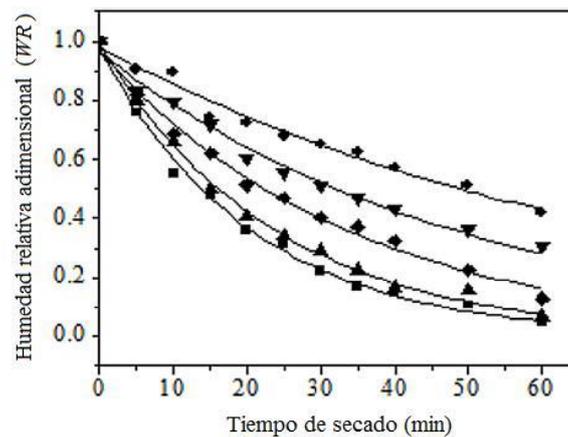


**Fig. 6.9:** Fotografías obtenidas por microscopía óptica (x 400) con luz polarizada de relleno LB: **(a)** sin cocinar, y luego de un tiempo de cocción de **(b)** 10 min, **(c)** 20 min, **(d)** 30 min, **(e)** 40 min y **(f)** 50 min. GA = gránulo de almidón

Por lo tanto, para asegurar buen porcentaje de granulos de almidón gelatinizados, sin que pierdan totalmente su estructura, se estableció un tiempo de cocción de 30 minutos, para la elaboración de los rellenos.

### 6.4.2. Parámetros cinéticos del proceso de secado por aire caliente

La difusión de la humedad durante el proceso de secado tiene lugar desde el interior del alimento hacia la superficie (Fellows, 2017). La difusión se rige por la complejidad de la estructura interna del alimento, por lo cual se requiere la determinación experimental de las curvas de velocidad de secado. (Singh y Heldman, 2014). En la Fig. 6.10 se presenta la variación del contenido de humedad con el tiempo de secado por acción del paso de una corriente de aire caliente a 70 °C, para diferentes formulaciones de relleno de queso de leche de oveja. Los valores experimentales se presentan en la Tabla IV.1 del Anexo IV.



**Fig. 6.10:** Humedad relativa adimensional ( $WR$ ) en función del tiempo durante el proceso de secado por aire caliente de rellenos sabor queso con: goma xántica (XG; ▼), alginato de sodio (SA; ●), goma garrofin (LB; ◆), carragenina (CA; ▲), control (CF, ■). Las líneas continuas corresponden a los valores predichos por el modelo de Henderson y Pabis.

En todos los casos, la velocidad de secado puede considerarse constante para tiempos de procesamiento inferiores a los 15 min, dado que se observó una dependencia aproximadamente lineal y uniforme entre las variables. El contenido de humedad predicho por el Modelo para cada tiempo de secado analizado se presenta en la Tabla IV.2 del Anexo IV. Para tiempos de secado mayores, el contenido de humedad de los rellenos decreció con velocidades de secado cada vez menores. Los resultados indicaron que la difusión sería el mecanismo físico que rige el movimiento del agua dentro del alimento, puesto que no se registraron períodos de velocidad constante. El relleno SA

presentó un mayor contenido de humedad para todos los tiempos de secado considerados, mientras que el control perdió la mayor cantidad de agua. En la Tabla 6.3 se presentan las constantes obtenidas y los parámetros estadísticos para medir la calidad del ajuste en el modelado de las curvas de secado, para cada una de las muestras consideradas, empleando el Modelo de Henderson y Pabis ([Henderson y Pabis, 1961](#)).

**Tabla 6.3:** Coeficientes del modelo de Henderson y Pabis ( $A$ ,  $k$ ), parámetros estadísticos obtenidos para el modelado del proceso de secado de los rellenos sabor queso, elaborados con diversos hidrocoloides.  $R^2$ : coeficiente de ajuste;  $\chi^2$ : chi-cuadrado reducido;  $RMSE$ : error cuadrático medio;  $EF$ : eficiencia de modelado aumentada

Formulación	$A$	$k$ [ $\text{min}^{-1}$ ]	$R^2$	$\chi^2$	$RMSE$	$EF$
CF	0,978±0,018 <sup>ab</sup>	0,049±0,001 <sup>a</sup>	0,985	5,10.10 <sup>-4</sup>	0,020	0,999
XG	0,951±0,017 <sup>b</sup>	0,022±0,003 <sup>d</sup>	0,945	3,93.10 <sup>-3</sup>	0,057	0,989
SA	0,980±0,017 <sup>ab</sup>	0,014±0,001 <sup>e</sup>	0,978	7,50.10 <sup>-4</sup>	0,025	0,999
LB	0,968±0,018 <sup>ab</sup>	0,026±0,003 <sup>c</sup>	0,921	6,60.10 <sup>-4</sup>	0,023	0,991
CA	0,993±0,014 <sup>a</sup>	0,043±0,001 <sup>b</sup>	0,916	3,30.10 <sup>-4</sup>	0,016	0,989

CF: control; XG: goma xántica; SA: alginato de sodio; LB: goma garrofin; CA: carragenina. Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

Los resultados experimentales demuestran el efecto de la presencia de hidrocoloides en el aumento de la resistencia a la transferencia de masa en los rellenos. Durante el secado, a medida que el agua es removida de la superficie del alimento, difunde desde el interior hacia la superficie ([McMinn y Magee, 1999](#)).

Como puede observarse en la Tabla 6.3, en todos los casos, se obtuvo un alto grado de ajuste entre el modelo y el comportamiento experimental observado.

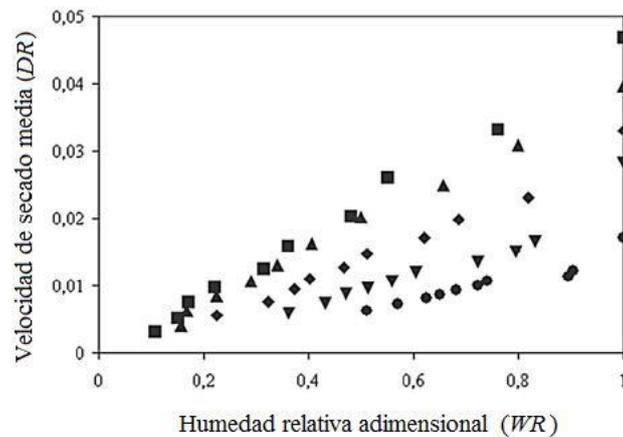
Los valores de  $R^2$  variaron entre 0,916 y 0,985, siendo 1 el valor ideal.

El  $\chi^2$  varió entre 0,00033 y 0,00393 (cuanto menor es su valor, mejor es el ajuste) y el  $RMSE$  entre 0,016 y 0,057 (es deseable que valor tienda a cero).

$EF$  tomó valores entre 0,989 y 0,999, lo cual también da indicios de la capacidad del modelo para predecir el comportamiento de las muestras durante el proceso de secado, siendo 1 su valor más alto.

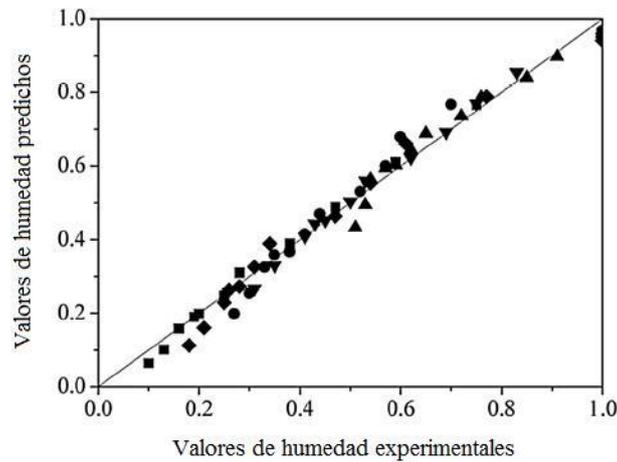
Respecto al valor del parámetro  $A$  de la ecuación de Henderson y Pabis (*Ec.6.2*), los rellenos XG y CA presentaron los menores y mayores valores del parámetro ( $A = 0,951$  y  $A = 0,968$ , respectivamente), y las formulaciones SA, LB y CF mostraron valores intermedios, sin diferencias significativas entre ellos ( $P > 0,05$ ). En cambio, los valores

de la constante  $k$  hallada para cada una de las muestras fueron significativamente diferentes entre sí ( $P < 0,05$ ). El valor  $k$  para la muestra control fue superior al resto de las muestras (Tabla 6.3). Entre los rellenos elaborados con hidrocoloides, el menor valor de  $k$  se obtuvo para la muestra con alginato de sodio (SA) y el mayor para la muestra con carragenina (CA). Los rellenos con goma xántica (XG) y goma garrofín (LB) presentaron valores intermedios. Estos resultados indican que la naturaleza del hidrocoloide empleado influye en la cinética de secado. En este sentido, en la Fig. 6.11 se observa que la presencia de estos agentes en la formulación retardó el proceso de secado de las muestras con hidrocoloides, debido a su capacidad de retener agua.



**Fig. 6.11:** Velocidad de secado media ( $DR$ ) en función de la humedad relativa adimensional ( $WR$ ) durante el proceso de secado por aire caliente de rellenos sabor queso con: goma xántica (XG; ▼), alginato de sodio (SA; ●), goma garrofín (LB; ◆), carragenina (CA; ▲), control (CF; ■).

La Fig. 6.12 compara los datos experimentales del contenido de humedad con los datos predichos por el modelo propuesto, para diferentes formulaciones de relleno de galletitas secadas a  $70 \pm 2$  °C.



**Fig. 6.12:** Humedad relativa predicha por el modelo de Henderson y Pabis (línea continua) en función a los valores de humedad obtenidos experimentalmente durante el proceso de secado por aire caliente de rellenos sabor queso con: goma xántica (XG; ▼), alginato de sodio (SA; ●), goma garrofin (LB; ◆), carragenina (CA; ▲), control (CF; ■)

Se observó una buena concordancia entre el modelo propuesto y los resultados obtenidos durante el proceso de secado, puesto que se estableció una relación lineal entre los valores de humedad predichos y los datos experimentales, con valores de  $R^2$  siempre mayores o iguales a 0,902. Esto demuestra la idoneidad del modelo de Henderson y Pabis en la descripción de las características de secado de los rellenos de galletitas elaborados. Observaciones similares fueron reportadas en diversos sistemas alimenticios por autores como [Menges y Ertekin \(2006\)](#), [Hassan-Beygi y col. \(2009\)](#) y [Doymaz e Ismail \(2011\)](#). Por lo tanto, el modelo de secado seleccionado demostró ser un modelo adecuado para representar las características de secado de los rellenos de queso de leche de oveja, estudiados en el presente Trabajo de Tesis.

#### **6.4.3. Análisis de la microestructura de los rellenos sabor queso para diversas etapas de procesamiento**

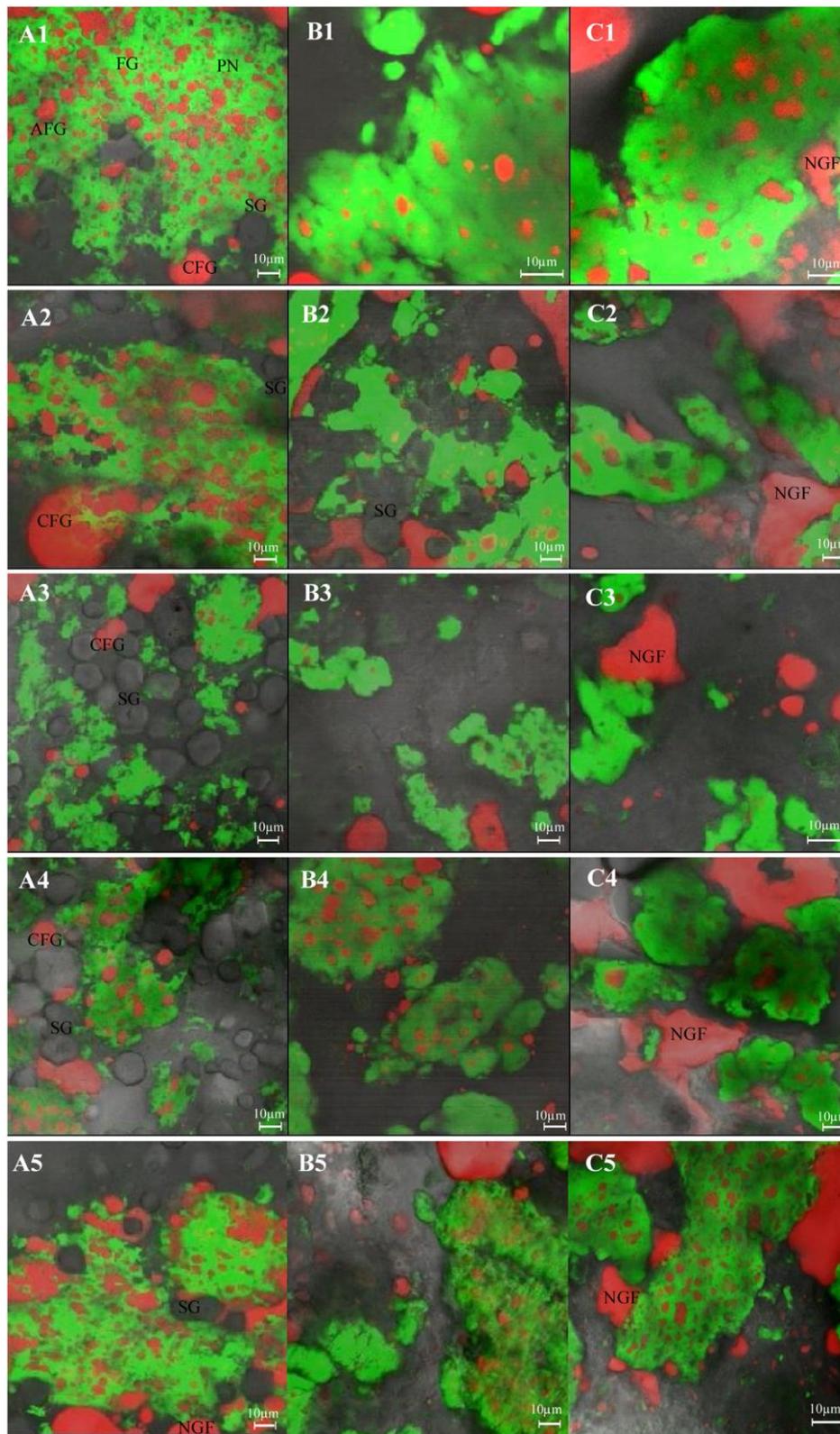
Los estudios de la microestructura de los alimentos proporcionan un vínculo entre las propiedades fisicoquímicas, el comportamiento durante el proceso y las cualidades organolépticas de un producto en particular ([Auty, 2019](#)).

Los rellenos sabor queso estudiados en este trabajo, son sistemas compuestos por agregados proteicos de caseína, grasa láctea, almidón y gomas. El ingrediente principal de los rellenos es el queso de leche de oveja, cuya microestructura consiste en una red de proteínas de caseína con glóbulos de grasa atrapados en los huecos de la red y agregados de glóbulos de grasa localizados fuera de la red ([Everett y Auty, 2017](#)). Durante la elaboración del queso, tanto el proceso de pasteurización de la leche como el almacenamiento de la cuajada a 10 °C durante 4 horas, pueden inducir el aumento en el tamaño de los glóbulos de grasa. En este sentido, [Ong y col. \(2011\)](#) observaron un aumento en el tamaño de los glóbulos de grasa del queso Cheddar, luego de calentar a 38 °C diversas muestras de cuajada, preparadas a partir de leche no homogeneizada. Este efecto podría deberse a que la grasa de la leche es parcialmente sólida a temperaturas entre 5 y 25 °C y su consistencia es debida a la presencia de las redes de cristales de grasa inmersos en la grasa que se encuentra líquida ([Van Aken y Visser, 2000](#)). Los cristales de grasa deforman la red de caseína al sobresalir a través de ella, lo cual favorece la coalescencia de los glóbulos de grasa ([López y col., 2007](#)).

Las operaciones físicas de mezcla, cocción y secado involucradas en la elaboración de los rellenos estudiados pueden aumentar el tamaño de los glóbulos de grasa agregados o coalescidos, tal como puede observarse en las micrografías láser confocales de la Fig. 6.13.

La microestructura de las muestras de relleno antes de la cocción, que se encuentran a temperatura ambiente, se muestra en las Fig. 6.13 A1-5. En estas imágenes se pueden apreciar los gránulos de almidón nativo, en color gris, dispersos en el agua proveniente del queso de alta humedad empleado en la formulación, cuya composición se detalló en la Sección 6.3.1. Además, también se pueden apreciar los glóbulos de grasa, en color rojo, atrapados dentro y fuera de la red proteica, en color verde. La grasa exterior a la red proteica aparece en forma de glóbulos de grasa agregados (AFG), coalescidos (CFG) y de forma no globular (NGF).

Luego del proceso de cocción de los rellenos, se puede observar que la red proteica forma zonas con bordes redondeados (Fig. 6.13 B1-5). Este comportamiento también fue observado por [Glaser y col. \(1980\)](#) y [Everett \(2007\)](#) en la fabricación de queso Cottage y por [Ong y col. \(2012\)](#) en la producción de queso Cheddar. Los glóbulos de grasa se encuentran atrapados en la red proteica y fuera de la misma aparecen en forma de agregados o coalescidos. También se pudo visualizar materia grasa no globular.



**Fig. 6.13:** Micrografías de muestras de relleno: (1) control, (2) goma xántica, (3) alginato de sodio, (4) goma garrofín y (5) carragenina, para distintos instantes del proceso de elaboración: (A) antes de la cocción, (B) luego de la cocción, (C) luego del secado. Microestructuras: gránulos de almidón (SG, gris), glóbulos de grasa (FG, rojo), glóbulos de grasa agregados (AFG, rojo), glóbulos de grasa coalescidos (CFG, rojo), grasa no globular (NGF, rojo), red de proteínas (PN, verde).

Durante la elaboración del relleno, los gránulos de almidón son calentados en un medio acuoso, por lo que se hinchan, perdiendo la cristalinidad y birrefringencia debido al fenómeno de gelatinización. Después de la cocción de las muestras, la mayor parte del almidón se gelatinizó, excepto en los rellenos con goma xántica, donde algunos gránulos de almidón permanecieron nativos (Fig. 6.13 B2). Esto puede deberse a que la presencia de este hidrocoloide podría retardar la gelatinización completa del almidón en este sistema. La goma xántica presenta un esqueleto celulósico de unidades de D-glucosa unidas mediante enlaces  $\beta(1\rightarrow4)$  y sustituidas de manera alternada con una cadena lateral de trisacárido, el cual contiene grupos ácidos. Las soluciones de este hidrocoloide son muy estables durante el calentamiento, incluso en presencia de ácidos o sales ([Wüstenberg, 2015](#)). Según [Chaisawang y Supphantharika \(2006\)](#), la goma xántica envuelve los gránulos de almidón nativo, lo cual dificulta que se puedan hinchar y gelatinizar.

Después del proceso de cocción, no se observaron interacciones entre los agregados proteicos y el almidón gelatinizado en las micrografías de todos los rellenos. Resultados similares fueron obtenidos por [Matignon y col. \(2014\)](#), al no encontrar interacciones entre el almidón y las proteínas de la leche en mezclas calentadas de almidón de maíz ceroso,  $\kappa$ -carragenina y leche descremada, estudiados con Microscopía de Barrido Láser Confocal. Estos autores observaron interacciones reversibles entre la proteína endógena del almidón y la carragenina, con preferencia en la formación de interacciones entre carragenina y caseína.

Por otra parte, durante el proceso de secado, a medida que se elimina el agua, los solutos se desplazan desde el interior del alimento hacia la superficie. El mecanismo y la velocidad de desplazamiento son específicos para cada soluto y dependen del tipo de alimento y de las condiciones de secado utilizadas ([Fellows, 2017](#)). Se observó una disminución considerable en el número de glóbulos de grasa dentro de los agregados proteicos en los rellenos elaborados con alginato de sodio, después de someterlos al secado (Fig. 6.13 C3). Esta grasa podría migrar de los agregados proteicos y colocarse fuera de ellos como grasa coalescida o no globular, retrasando así la liberación de agua del relleno durante el proceso de secado. Esta última, sería una de las razones de la menor tasa de secado registrada para los rellenos con alginato. Además, se sabe que esta goma tiene la capacidad de formar geles termoestables en presencia de iones calcio en medio ácido, propiedad que es aprovechada en la industria láctea para la elaboración de

diversos productos alimentarios como helados y quesos procesados ([Wüstenberg, 2015](#)). En las muestras analizadas, los cationes Ca (II) provienen del queso y pueden localizarse tanto dentro como fuera de la red proteica, debido a la mezcla manual realizada durante la preparación de los rellenos. Por lo tanto, la red formada en estos rellenos incluiría tanto las zonas de agregados proteicos como las de almidón gelatinizado, creando una estructura que retrasaría la liberación de agua durante el secado.

Por el contrario, en los rellenos con carragenina (Fig. 6.13 C5), la grasa permanece dentro de los agregados proteicos al final del proceso de secado, al igual que lo observado en todas las muestras de relleno en el instante previo a la cocción (Fig. 6.13 A1-5). Esto puede deberse a la interacción entre la carragenina y la proteína de la leche, ampliamente estudiada y citada en la literatura ([BeMiller, 2019](#)), responsable de generar una matriz capaz de retener los glóbulos de grasa en la red proteica que viene del queso. Este fenómeno también explicaría la mayor velocidad de secado obtenida para el relleno con carragenina respecto a las demás formulaciones estudiadas (Fig. 6.11). Es decir, durante el proceso de secado el agua escaparía más fácilmente del relleno con carragenina debido al menor contenido de grasa fuera de la red de caseína.

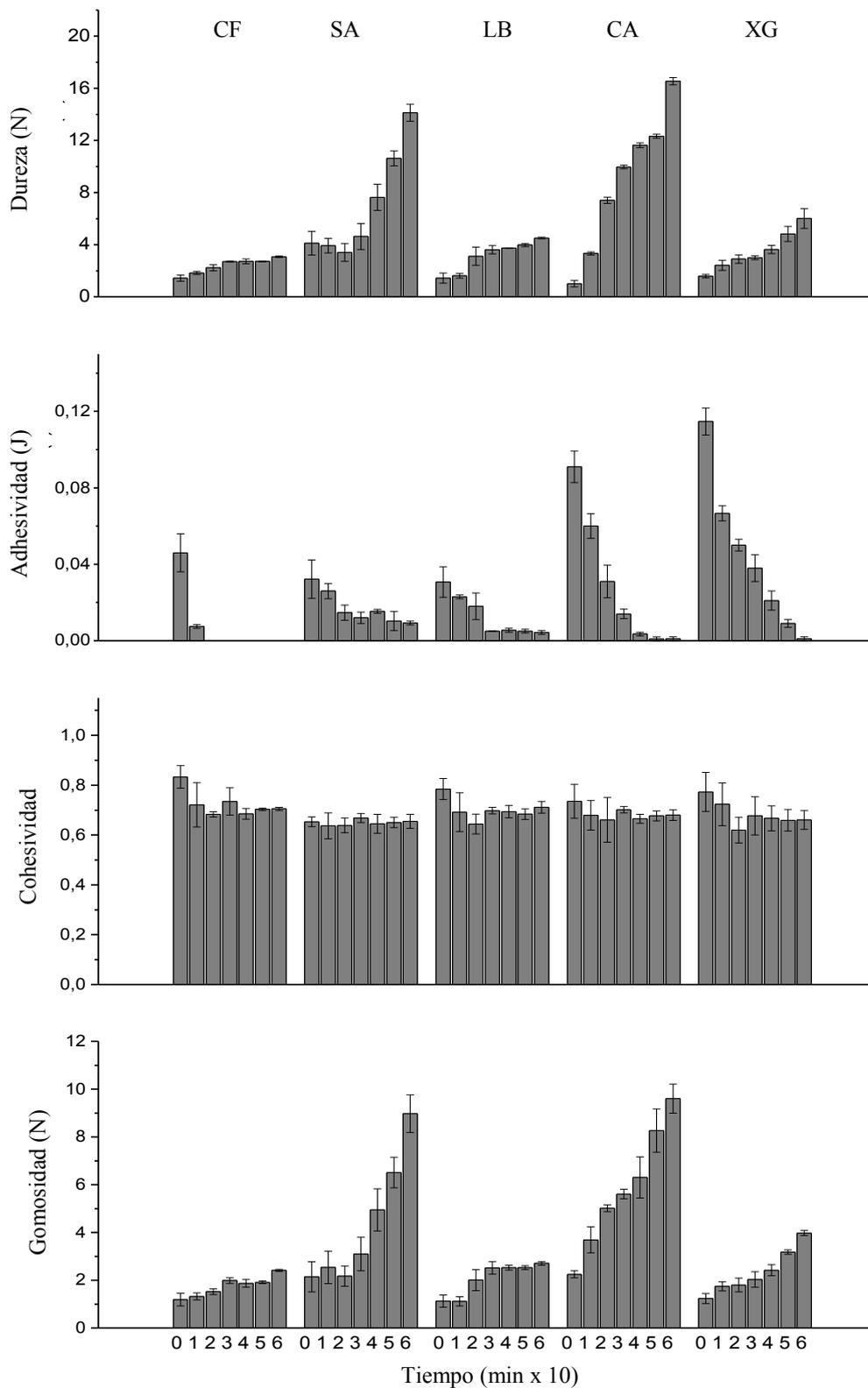
Por último, los rellenos con goma xántica (Fig. 6.13 C2) y con goma garrofín (Fig. 6.13 C4) presentaron valores intermedios de velocidad de secado entre las obtenidas para los rellenos con alginato de sodio y con carragenina (Fig. 6.11). Este comportamiento podría estar relacionado con las interacciones que producen estos hidrocoloides con los demás ingredientes empleados durante la elaboración, ya que ambos suelen emplearse en la industria como espesantes y aglutinantes ([Petitjean e Isasi, 2021](#)). Además, [Wüstenberg \(2015\)](#) advierte que la goma garrofín, un polisacárido neutro que consiste en un esqueleto lineal de unidades de manosa con enlaces  $\beta(1\rightarrow4)$ , presenta una baja capacidad para formar geles pero tiene un alto efecto espesante después de calentar sus soluciones a 80 °C. Así, tanto la goma xántica como la goma garrofín estarían actuando principalmente como agentes espesantes en estas formulaciones de relleno, retardando moderadamente la liberación de agua durante el secado y contribuyendo a exhibir una velocidad de secado intermedia.

#### 6.4.4. Análisis de la textura de los rellenos sabor queso para diversas etapas de procesamiento

Para muchos alimentos sometidos a procesamientos secundarios, se considera que la etapa de secado resulta exitosa cuando los cambios producidos en la textura de los mismos no representan una causa importante de deterioro en las propiedades mecánicas deseadas ([Fellows, 2017](#)).

Con el fin de explorar el efecto del proceso de secado sobre la textura de los rellenos, se examinaron diversos parámetros de textura a diferentes tiempos de secado, para todas las muestras estudiadas (Fig. 6.14). Los parámetros de textura de los rellenos después del proceso de cocción pueden considerarse como los valores correspondientes al instante  $t = 0$  min del proceso de secado. Para dicho instante, no se observaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en la dureza de las muestras del relleno control (CF) respecto a las muestras LB, CA y XG (Fig. 6.14a). Este comportamiento podría explicarse teniendo en cuenta el efecto espesante de las gomas garrofín y xántica, previamente discutido. En el caso de los rellenos CA, estos resultados podrían atribuirse principalmente a la formación de una red entre las proteínas del queso y la carragenina sin interactuar con el almidón gelatinizado, lo cual podría interferir en la estabilidad de la estructura del relleno, haciendo que su dureza sea similar a la obtenida para el relleno CF. Por el contrario, el relleno SA presentó la mayor dureza ( $P < 0,05$ ) después del proceso de cocción, dado que en este caso, la red formada podría abarcar tanto zonas de agregados de proteínas como de almidón gelatinizado. En todos los casos los rellenos aumentaron la dureza durante el proceso de secado. Este efecto fue más pronunciado en los rellenos SA y CA. En ambos casos, los valores de dureza superaron los 14 N. Sin embargo, sería deseable que los rellenos no aumentaran demasiado su dureza a fin de garantizar una buena palatabilidad ([Manley, 2011](#)).

Simultáneamente, se determinó la humedad y los parámetros de textura para un relleno comercial sabor queso ampliamente consumido en el país (Tabla IV.3 del Anexo IV). En este sentido, se debe tener en cuenta que el relleno comercial analizado presentó una dureza de  $6,03 \pm 0,18$  N, valor aproximado al obtenido para los rellenos XG al final del proceso de secado.



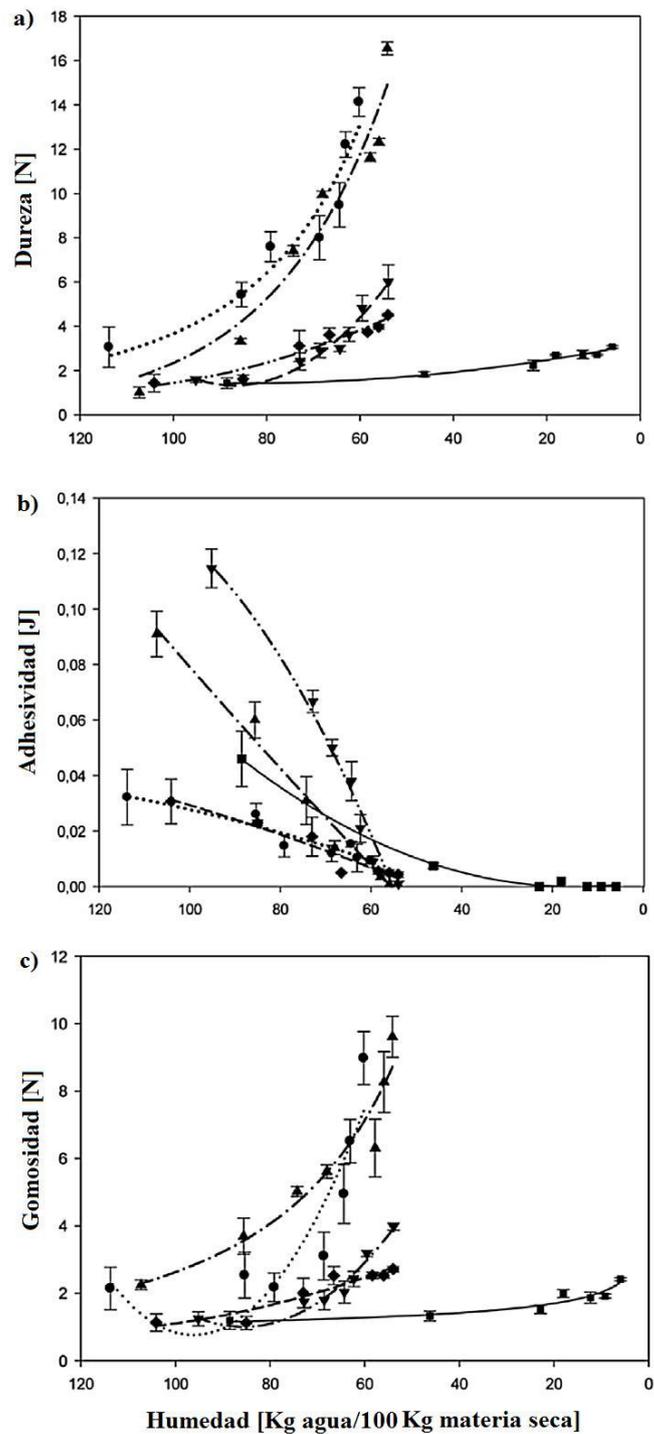
**Fig. 6.14:** Dureza [N], adhesividad (J), cohesividad y gomosidad [N] durante el proceso de secado por aire caliente de rellenos sabor queso elaborados con: goma xántica (XG), alginato de sodio (SA), goma garrofin (LB), carragenina (CA), control (CF). Barras de error indican desviaciones estándar.

La adhesividad (Fig. 6.14), disminuyó significativamente ( $P < 0,05$ ) durante el secado en todas las muestras estudiadas. De acuerdo con [Manley \(2011\)](#), es deseable cierto grado de adhesividad en los rellenos a fin de asegurar su unión a las tapas de las galletitas. El relleno SA presentó la menor reducción en los valores de adhesividad durante el proceso de secado, seguido del relleno LB. Esto puede atribuirse a la menor pérdida de agua de los rellenos SA. Para el relleno control, esta propiedad disminuyó drásticamente después de 10 minutos de secado. Los rellenos con CA y XG presentaron una adhesividad mayor al relleno control después de la cocción y en las primeras etapas del secado para luego descender abruptamente hacia el final del secado. Estos comportamientos evidencian que la presencia de alginato de sodio y goma garrofín mejora la adhesividad final de estos productos.

No se observaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en los valores de cohesividad para ninguno de los rellenos con hidrocoloides durante el secado, mientras que para el relleno control este parámetro presentó una disminución significativa en su valor (Fig. 6.14). Esto puede deberse a la gran pérdida de humedad de los rellenos control durante el secado.

La gomosidad (Fig. 6.14) aumentó significativamente ( $P < 0,05$ ) en todas las formulaciones de relleno durante el secado; principalmente en los rellenos SA y CA. El relleno comercial analizado presentó una gomosidad de  $2,38 \pm 0,14$  N (Tabla IV.3 del Anexo IV). En lo referente a este parámetro, una vez finalizado el proceso de secado se observó un valor similar al comercial para la muestra LB, mientras que para XG y en mayor medida SA y CA, los valores fueron muy superiores al de la formulación comercial. Existen algunos rellenos comerciales dulces de textura gomosa que son muy aceptados por los consumidores ([Manley, 2011](#)) y algunos tipos de quesos, que tienen una textura ligeramente gomosa (como la mozzarella, entre otros), que también tienen muchos adeptos en el mercado. Es decir, este tipo de productos son aceptados por los consumidores tanto con gomosidades bajas como medias.

La humedad es uno de los factores que afectan directamente la textura de un producto ([Gunasekaran y Ak, 2003](#); [Fox y col., 2017](#)). El contenido de humedad de los alimentos varía durante la mayoría de los métodos de procesamiento térmico, pero también juega un papel fundamental en los cambios de los atributos de calidad de los alimentos. En la Fig. 6.15 se muestra la evolución de la dureza, la adhesividad y la gomosidad de los rellenos estudiados en función de su contenido de humedad.



**Fig. 6.15:** (a) Dureza [N], (b) adhesividad (J) y (c) gomosidad [N] en función del contenido de humedad, para rellenos sabor queso elaborados con: goma xántica (XG, ▼), alginato de sodio (SA, ●), goma garrofin (LB, ◆), carragenina (CA, ▲), control (CF, ■). Barras de error indican desviaciones estándar. Línea continua indica los valores predichos por los modelos

Los rellenos CA, LB y XG alcanzaron una humedad final de aproximadamente  $54,00 \pm 0,11$  Kg agua/100 Kg m.s., con valores de actividad acuosa cercanos a  $0,74 \pm 0,01$ . Para

el relleno SA, que presentó la tasa de secado más baja, la humedad final del producto fue de  $60,20 \pm 0,09$  Kg agua/100 Kg m.s. y la actividad acuosa final de  $0,79 \pm 0,02$ . Para todos los rellenos con hidrocoloides se observó un aumento pronunciado de la dureza (Fig. 6.15a) y la gomosidad (Fig. 6.15c) a medida que disminuyó el contenido de humedad de los mismos. Si bien para el caso de la muestra control, la actividad acuosa final fue de  $0,74 \pm 0,01$ , se observó un incremento mucho menos pronunciado en la dureza de este relleno (Fig. 6.15). El contenido de humedad final obtenido fue de  $5,95 \pm 0,05$  Kg agua/100 Kg de m.s., valor que se alcanzó rápidamente durante al comienzo del proceso de secado. En consecuencia, mediante la técnica de secado descrita, todas las formulaciones alcanzaron valores de actividad acuosa inferiores a 0,850, límite establecido por [Manley \(2011\)](#) para asegurar la inhibición del desarrollo de la mayoría de los microorganismos patógenos.

Asimismo, no se encontraron diferencias significativas en los valores de pH de los rellenos, presentando un valor medio de  $6,27 \pm 0,03$ .

Estos hallazgos señalaron que la presencia de hidrocoloides afecta tanto la velocidad de secado como la textura final de los rellenos. Es decir que, los modelos matemáticos que relacionan los cambios en el contenido de humedad con la variación en los atributos de calidad, resultan herramientas poderosas para optimizar muchos productos y procesos según lo indicado por [Ayustaningwarno y col. \(2020\)](#). Estos modelos se pueden aplicar en la producción de alimentos con características de textura específicas y un bajo contenido de humedad. En este Trabajo de Tesis, a fin de describir los resultados experimentales obtenidos y predecir el comportamiento de los rellenos sabor queso durante el proceso de deshidratación, se buscó el mejor ajuste, empleando modelos matemáticos con expresiones de tipo función polinómica, homográfica y exponencial.

Las curvas predichas por los modelos también se presentan en la Fig. 6.15 con línea continua. Para las muestras XG, LB y CF, la variación de la dureza con el contenido de humedad fue descrita satisfactoriamente ( $R^2 \geq 0,94$ ;  $P < 0,05$ ) empleando un modelo correspondiente a una expresión similar a la de un polinomio de segundo orden con coeficiente principal positivo (Ec.6.8). El comportamiento observado para la muestra SA se ajustó bien ( $R^2 \geq 0,92$ ,  $P < 0,05$ ) con un modelo cuya expresión es de tipo función homográfica (Ec.6.9), mientras que para la muestra CA el mejor ajuste ( $R^2 \geq 0,94$ ,  $P < 0,05$ ) se obtuvo empleando un modelo tipo exponencial (Ec.6.10).

$$y_n = a(x - \alpha)^2 + \beta, a > 0 \quad \text{Ec.6.8}$$

$$y_n = (x - \alpha)^d + \beta, d \in \mathfrak{R} < 0 \quad \text{Ec.6.9}$$

$$y_n = \sigma \exp(x) + \beta \quad \text{Ec.6.10}$$

Donde  $y_n$  representa la variable de respuesta  $n$ -ésima analizada,  $x$  es la variable independiente (en este caso es la humedad en base seca del relleno),  $a$  y  $\sigma$  representan el coeficiente principal del modelo,  $\alpha$  y  $\beta$  indican el desplazamiento horizontal y vertical de la curva y  $d$  es la potencia de la variable independiente.

Por otra parte, para todas las muestras ensayadas se observó una disminución en los valores de adhesividad a medida que el contenido de humedad en los rellenos disminuía. Este comportamiento fue ajustado satisfactoriamente ( $R^2 \geq 0,93$ ,  $P < 0,005$ ) empleando un modelo cuadrático (Ec.6.8) y podría estar relacionado con la forma en que se libera el vapor de agua de la microestructura proporcionada por cada formulación de relleno y cómo permanece la estructura después de que se libera el vapor de agua. Se necesitan más estudios para dilucidar este punto.

## 6.5. Conclusiones del Capítulo

- ✚ Fue posible formular rellenos de galletitas empleando queso de leche de oveja como ingrediente principal.
- ✚ El modelo difusivo de secado isotérmico de Henderson y Pabis fue una herramienta útil para estudiar la influencia de los hidrocoloides en el contenido de humedad y la velocidad de secado de los rellenos. El modelo se ajustó adecuadamente a los datos obtenidos experimentalmente y predijo de manera satisfactoria las características del proceso de secado de los rellenos estudiados.
- ✚ El relleno elaborado con carragenina presentó la mayor velocidad de secado, gran dureza y una baja adhesividad al final del secado.
- ✚ El relleno con alginato de sodio exhibió la tasa de secado más baja, alta dureza y gomosidad, conservando un cierto grado de adhesividad al final del secado.

- ✚ Los rellenos con goma garroñín y goma xántica presentaron parámetros cinéticos y atributos de textura intermedios. En el caso de la adhesividad, el relleno con garroñín conservó un cierto grado de adhesividad al final del secado.
- ✚ El relleno control presentó la mayor velocidad de secado y niveles de dureza y gomosidad relativamente bajos, durante el secado. Al final del mismo, este relleno perdió la adhesividad.
- ✚ Fue posible observar cambios en la microestructura de las muestras antes y después de la elaboración y después del proceso de secado. Los rellenos antes de la cocción mostraron gránulos de almidón sin gelatinizar. Luego de la cocción, únicamente el relleno XG siguió presentando gránulos de almidón nativo. La goma garroñín podría estar retrasando la gelatinización del almidón.

## CAPITULO 7

### Conclusiones generales

Las galletitas son alimentos ampliamente aceptados por consumidores de un amplio rango etario. Existe gran diversidad de ellas en cuanto a formas, sabores, rellenos y/o coberturas. Estos productos son muy versátiles y ofrecen la posibilidad de incorporar diversos ingredientes en su formulación. A través de una adecuada selección de componentes se pueden obtener productos destinados a poblaciones con necesidades nutricionales específicas (sin gluten, sin leche, sin sal, etc.), o bien para un público que demande ciertas propiedades funcionales (mayor contenido de antioxidantes, de fibra o de proteínas). En este Trabajo de Tesis se desarrollaron rellenos para galletitas dulces y saladas con la incorporación de fibra dietaria de distintos orígenes y otros ingredientes naturales, buscando mejorar nutricionalmente estos productos de consumo masivo.

En relación a los rellenos para galletitas dulces, fue posible desarrollar un relleno enriquecido en fibras dietarias empleando únicamente ingredientes naturales (almidón de maíz, azúcar impalpable, agua, gelatina y manteca de cacao). Fue posible también desarrollar una formulación enriquecida en fibras dietarias y reducida en grasa y sacarosa, a partir de la incorporación de un ingrediente de alta producción nacional como la miel, sin modificar las características sensoriales del producto. Este es un aspecto de suma importancia, dada la alta capacidad antioxidante que aporta la miel y los múltiples beneficios para la salud asociados al consumo de fibras y a la reducción del consumo de azúcar refinado. La miel pudo usarse exitosamente como sustituto parcial de sacarosa y grasa. Estos productos pudieron almacenarse durante al menos 24 semanas asegurando su estabilidad microbiológica y oxidativa. La intención de compra fue elevada, lo cual resulta muy alentador ya que representan una interesante propuesta como aporte nutritivo que sería exitosamente recibida por los consumidores de este tipo de productos.

En relación a los rellenos para galletitas salados, fue posible desarrollar distintas formulaciones enriquecidas con fibra dietaria de distinto origen empleando únicamente ingredientes naturales: queso de leche de oveja fresco, almidón de maíz y diversos

hidrocoloides (carragenina, alginato de sodio, goma garrofin y goma xántica). Se evaluó la influencia ejercida por distintos hidrocoloides sobre diversos atributos de textura y microestructura durante las etapas de elaboración de los rellenos salados. El proceso de secado en bandeja fue una alternativa satisfactoria a fin de disminuir el contenido de humedad de los productos. Respecto a los parámetros cinéticos y atributos de textura, éstos variaron con la naturaleza del hidrocoloide empleado. Su presencia fue necesaria para mantener la adhesividad del producto al final del proceso de secado. Fue posible observar cambios en la microestructura de las muestras antes y después de la elaboración y después del proceso de secado que pudieron ser explicados teniendo en cuenta las características fisicoquímicas de los ingredientes utilizados. De esta manera, pudieron obtenerse variantes de las formulaciones que pueden contribuir al conocimiento integral de este tipo de rellenos para su aplicación en el sector industrial.

Los resultados de este Trabajo de Tesis aportan conocimiento en el campo de los rellenos de galletitas que pueden tener una aplicación tecnológica valiosa, para mejorar el perfil nutricional de este tipo de alimentos muy consumidos por la población local.

## BIBLIOGRAFÍA

**Acker, L. (1963).** Enzyme activity at low water contents, *Recent Advances in Food Sciences*, 3, 239-247.

**Acosta Solares, A., Pérez Navarro, O., Albernas Carvajal, Y., Cortés Falcón, M.F. (2021).** Potencialidades de la metodología de superficie respuesta en la optimización experimental en la industria química y alimentaria, *Centro Azúcar*, 48(4), 123-138.

**Acuña, A., Petrantonio, M. (2013).** La innovación tecnológica como estrategia de desarrollo empresarial. El caso de la industria de galletitas en Argentina, *Agroalimentaria*, 16, 13-28.

**Afoakwa, E.M., Paterson, A., Fowler, M. (2007).** Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review, *Trends in Food Science & Technology*, 18(6), 290-298.

**Ajibola, A., Chamunorwa, J. P., Erlwanger, K. H. (2012).** Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth, *Nutrition & Metabolism*, 9(1), 61, doi:10.1186/1743-7075-9-61.

**Akan, E., Karakaya, S., Ozkacar, M.E., Kinik, E. (2023).** Effect of food matrix and fermentation on angiotensin-converting enzyme inhibitory activity and  $\beta$ -glucan release after in vitro digestion in oat-based products, *Food Research International*, 165, 112508.

**Akan, Y. (2023).** Development of the “COVID-19 Psychological Impact Scale”: a validity and reliability study, *Current Psychology*, 42(17), 14974-14983.

**Alem Fonseca, M., Tsolakis, N., Kittipanya-Ngam, P. (2024).** Breaking the cycle of inertia in food supply chains: a systems thinking approach for innovation and sustainability. *Supply Chain Management: An International Journal*. <https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/SCM-01-2023-0019/full/html>

**Alkhalidi, A.K., Alshiddi, H., Aljubair, M., Alzahrani, S., Alkhalidi, A., Al-Khalifa, K.S., Gaffar, B. (2021).** Sex differences in oral health and the consumption of sugary diets in a Saudi arabian population. *Patient Prefer, Adherence*, 15, 1121-1131.

**Almond, N., Gordon, M., Reardon, P., Wade, P. (1991).** Biscuits, Cookies and Crackers, Composite products, Elsevier Science Publishers Ltd., Londres.

**Anderson, J.W., Zettwoch, N., Felman, T., Tietzen-Clark, J., Oeltgen, P., Bishop, C.W. (2009).** Cholesterol lowering effects of psyllium hydrophilic mucilloid for hypercholesterolemic men, *Archives of Internal Medicine*, 148, 292-297.7.

**Anderson, M.D.R.P., Calderón, V. (1999).** Harinas y Derivados. En *Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas*, 2da ed., Cap. 34, 335-335, Ed. Díaz de Santos, Madrid, España.

**ANMAT: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, (2014a).** Análisis Microbiológico de los Alimentos. Metodología Analítica Oficial. Microorganismos Indicadores, 3, 22-41. Procedimiento según International Standard Organization ISO 4833-2:2013.

**ANMAT: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, (2014b).** Análisis Microbiológico de los Alimentos. Metodología Analítica Oficial. Microorganismos Indicadores, volumen 3, 93-115. Procedimiento según International Standard Organization ISO 6611:2004.

**AOAC, Método 24.002 (1984).** Official Methods of Analysis, 14ta ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

**AOAC, Método 46.016 (1984).** Coliform organism in frozen, chilled, precooked, or prepared foods, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Centennial Edition, ed. S. Williams, 14va ed., Arlington, Virginia, USA.

**AOAC, Método 923.03 (1990).** Official Methods of Analysis of AOAC international, 15ta ed., AOAC International, Gaithersburg, MD.

**AOAC, Método 32.1.03 (1990).** Official Methods of Analysis, En Ass. Agric. Chem., 15ta ed., 1298, Washigton, DC.

**AOAC, Método 988.05 (2000).** Official Methods of Analysis, 17ma ed., AOAC International, Gaithersburg, MD.

**Arshad, S.; Rehman, T.; Saif, S.; Riaz Rajoka, M.S.; Nawaz Ranjha, M.M.A.; Hassoun, A.; Janna Cropotova, J.; Trif, M.; Younas, A.; Aadil, R.M. (2022).** Replacement of refined sugar by natural sweeteners: focus on potential health benefits, *Heliyon*, 8(9), e10711.

**Asencios Tarazona, V. (2021).** El análisis sensorial. Principios básicos para su realización, Capitulo 2. En Análisis sensorial de alimentos, 14-21, publicado independientemente.

**Auty, M.A.E. (2013).** Confocal microscopy: Principles and applications to food microstructures. En Food Microstructures: microscopy, measurement and modelling, (35), 1ra ed., Capítulo 4, Vic Morris, Kathy Groves (Eds.), Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge.

**Auty, M.A.E. (2019).** Microscopy techniques for dairy products - anintroduction. En El-Bakry, M.M.A.R., Sanchez, A., Mehta, B.M. (Eds.), Microstructure of Dairy Products, 1-32, Wiley Blackwell, Chichester.

**Ayustaningwarno, F., Verkerk, R., Fogliano, V., Dekker, M. (2020).** The pivotal role of moisture content in the kinetic modelling of the quality attributes of vacuum fried chips, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, 102251, ISSN 1466-8564.

**Azman, K.F., Zakaria, R. (2019).** Honey as an antioxidant therapy to reduce cognitive ageing, *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(12), 1368.

**Balthazar, C.F., Pimentel, T.C., Ferrão, L.L., Almada, C.N., Santillo, A., Albenzio, M., Mollakhalili, N., Mortazavian, A.M., Nascimento, J.S., Silva, M.C., Freitas, M.Q., Sant'Ana, A.S., Granato, D., Cruz, A.G. (2017).** Sheep milk: physicochemical characteristics and relevance for functional food development, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 16, 247–262.

**Balthazar, S.J., Kris-Etherton, P.M., Willett, W.C., Lichtenstein, A.H., Rudel, L.L., Maki, K.C., Whelan, J., Ramsden, C.E., Block, R.C. (2012).** Fatty acids in cardiovascular health and disease: a comprehensive update, *J. Clin. Lipidol.*, 6, 216–234.

**Barber, T.M., Kabisch, S., Pfeiffer, A.F., Weickert, M.O. (2020).** The health benefits of dietary fibre, *Nutrients*, 12(10), 3209.

**Battaiotto, L.L., Dello Staffolo, M. (2020).** Drying kinetics, microstructure and texture of cheese cracker fillings, *Food and Bioproducts Processing*, 123, 199-208.

**Battaiotto, L.L., Dello Staffolo, M., Lupano, C.E. (2013a).** Rellenos de galletitas a base de queso de oveja y gomas alimentarias, Actas del VII Congreso Argentino de Ingeniería Química, Rosario, Santa Fe, Argentina.

**Battaiotto, L.L., Lupano, C.E., Bevilacqua, A.E. (2013b).** Optimization of Basic Ingredient Combination for Sandwich Cookie Filling Using Response Surface Methodology, *Food Bioprocess Technology*, 6, 1847–1855.

**Be Miller, J.N. y Whistler, R.L. (1996).** Carbohidrates. En Fennema, O.R. (Ed.), *Food Chemistry*, 3ra ed., Marcel Dekker, USA.

**Beckett, S.T., Jury, M.J.B., Mackley, M.R. (1998).** U.S. Patent N° 5.820.912, Washington D.C., U.S Patent and Trademark Office.

**Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., Dujmović, M., Karlović, S., Biškić, M., Brnčić, M., Ježek, D. (2015).** Physical, bioactive and sensory quality parameters of reduced sugar chocolates formulated with natural sweeteners as sucrose alternatives, *Food chemistry*, 167, 61-70.

**BeMiller, J.N. (2019).** Carrageenans. En *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*, Woodhead Publishing, Kidlington, 279-29.

**Benzie, I. F., Strain, J. J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.

**Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., Maffei Facino, R. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics, *Analytica Chimica Acta*, 533(2), 185-191.

**Bernardini, E. (1983).** Oil and fat technology, Vol. 1, Technology r.s.l., Italia.

**Bonté, F. y Desmoulière, A. (2013).** Le miel: origine et composition, *Actualités pharmaceutiques*, 52(531), 18-21.

**Borneo, R., Kocer, D., Ghai G., Tepper, B.J., Karwe, M.V. (2007).** Stability and consumer acceptance of long chain omega-3 fatty acid (Eicosapentaenoic acid, 20:5, n-3 and Docosahexaenoic acid, 22:6, n-3) in cream-filled sandwich cookies, *Journal of Food Science*, 72(1), 49-54.

**Bourne, M. (2002).** Food texture and viscosity: concept and measurement. Elsevier, USA.

**Box, G.E.P., Draper, N.R. (1987).** Empirical model building and response surfaces, Cap. 4., 1ra ed., New York, Ed: John Wiley y Sons.

**Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30, ISSN 0023-6438.

**Brennan, C., Cleary, L. (2005).** The potential use of cereal (1/3,1/4)- $\beta$ -D-glucans as functional food ingredients, *J. Cereal Sci.*, 42, 1–13.

**Brennan, J.G., Bourne, M.C. (1994).** Effect of lubrication on the compression behaviour of cheese and frankfurters, *Journal of Texture Studies*, 25, 139-150.

**Brownlee, I.A. (2011).** The physiological roles of dietary fibre, *Food Hydrocolloids*, 25, 238-250.

**Burkitt, D.P., Walker, A.R.P., Painter, N.S. (1974).** Dietary fiber and disease, *The Journal of the American Medical Association*, 229, 1068-1074.

**CAA: Código Alimentario Argentino (2022).** Capítulo VIII: Aditivos alimentarios <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat-cap-18-aditivos.pdf>

**CAA: Código Alimentario Argentino (2022).** Capítulo VIII: Alimentos lácteos [https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/marco/CAA/Capitulo\\_08.htm](https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/marco/CAA/Capitulo_08.htm)

**CAA: Código Alimentario Argentino (2022).** Capítulo X: Alimentos azucarados [https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/marco/CAA/capitulospdf/Capitulo\\_X.pdf](https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/marco/CAA/capitulospdf/Capitulo_X.pdf)

**Cabatec, P. (1992).** Capítulo 6: Dairy Ingredients. Baking and Confectionery Industries, an audio visual open learning module. En *The Biscuit, Cake, Chocolate and Confectionery Alliance*, Woodhead Publishin, Londres, Reino Unido.

**Cai, J., Zhang, D., Xie, F. (2024).** The role of alginate in starch nanocrystals-stabilized Pickering emulsions: From physical stability and microstructure to rheology behavior, *Food Chemistry*, 431, 137017.

**Calderrón y Pascual, V., Pascual Anderson, M.R. (1999).** Harinas y Derivados. En *Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas*, 2da ed., Ed. Díaz de Santos, Madrid, España.

**Chaisawang, M., Suphantharika, M. (2006).** Effects of guar gum and xanthan gum additions on physical and rheological properties of cationic tapioca starch, *Carbohydr. Polym.*, 61, 288–295.

**Chandra, M.V., Shamasundar, B.A. (2015).** Texture profile analysis and functional properties of gelatin from the skin of three species of fresh water fish, *International Journal of Food Properties*, 18(3), 572–584.

**Chang, H.C., Huang, C.N., Yeh, D.M., Wang, S.J., Peng, C.H., Wang, C.J. (2013).** Oat prevents obesity and abdominal fat distribution, and improves liver function in humans, *Plant. Foods Hum. Nutr.*, 68, 18–23.

**Chen, V., Zurbau, A., Ahmed, A., Khan, T., Au-Yeung, F., Kendall, C., Sievenpiper, J. (2021).** Effect of Oats and Oat-Fiber on Glycemic Control in Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, *Canadian Journal of Diabetes*, 45(7), S37, ISSN 1499-2671.

**Chenfei, G., Zhanguo, G., Frank, L., Greenwayc, J.H., Burtond, W.D., Johnsond, M.J., Keenana, F.M., (2015).** Oat consumption reduced intestinal fat deposition and improved health span in *Caenorhabditis elegans* model, *Nutrition Research*, 35, 834-843.

**Chi, H.K., Yeh, H.R., Huang, M.W. (2009).** The influences of advertising endorser, brand image, brand equity, price promotion on purchase intention: The mediating effect of advertising endorser, *The Journal of Global Business Management*, 5(1), 224-233.

**Choe, E., Min, D.B. (2006).** Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. Comprehensive Review, *Food Science and Food Safety*, 5, 169-186.

**Chua, L. S., Lee, J. Y., Chan, G. F. (2014).** Characterization of the Proteins, Honey. *Analytical Letters*, 48(4), 697–709. doi:10.1080/00032719.2014.952374.

**Cihan, A., Kahveci, K., Hacıhafizoglu, O. (2007).** Modelling of intermittent drying of thin layer rough rice, *J. Food Eng.*, 79,293–298.

**Clarín iEco (2011).** Mercado interno. El consumo de galletitas está entre los más altos del mundo. [https://www.clarin.com/empresas\\_y\\_negocios/consumo-galletitas-altos-mundo\\_0\\_H1nlt25hwmg.html](https://www.clarin.com/empresas_y_negocios/consumo-galletitas-altos-mundo_0_H1nlt25hwmg.html).

**Conforti, P.A., Lupano, C.E. (2004).** Functional properties of biscuits with whey protein concentrate and honey, *International Journal of Food Science & Technology*, 39, 745-753.

**Cornejo, V.G. (2021).** Deshidratación osmótica en tilapia utilizando soluciones ternarias y su uso en la aplicación de tecnología de barreras, *Ingeniería Química Y Desarrollo*, 1(1), 46–52.

**Cornell, J.A. (1981).** Experiments with mixtures: Design models, and the analysis of mixture data, 2-63, Ed. John Wiley & Sons, New York.

**Crank, J. (1975).** The Mathematics of Diffusion, second ed. Oxford University Press, Oxford.

**Cruz, G.A., Cadena, R.S., Walter, E.H.M., Mortazavian, A.M., Granato, D., Faria, J.A.F., Bollini, H.M.A. (2010).** Sensory analysis: Relevance for prebiotic, probiotic y symbiotic product development, *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(4), 358-373.

**Cui, S.W., Roberts, K.T. (2009).** Dietary fiber: fulfilling the promise of added-value formulations. En Kasapis, S., Norton, I.T., Ubbink, J.B. (Ed.), *Modern Biopolymer Science: Bridging the Divide between Fundamental Treatise and Industrial Application*, 1ra ed. Academic Press, Amsterdam, 399–448.

**Cummings, T.J., Mann, J., Nishida, C., Vorster, H. (2009).** Dietary fiber: An agreed definition, *Lancet*, 373, 365-366.

**da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Costa, A.C.O., Fett, R. (2016).** Honey: Chemical composition, stability and authenticity, *Food Chemistry*, 196, 309-323.

**Dahm, C.C., Keogh, R.H., Spencer, E.A., Greenwood, D.C., Key, T.J., Fentiman, I.S, Shipley, M.J., Brunner, E.J., Cade, J.E., Burley, V.J., Mishra, G., Stephen, A.M., Kuh, D., White, I.R., Luben, R., Lentjes, M.A.H., Khaw, K.T., Bingham, S.A. (2010).** Dietary Fiber and colorectal cancer risk: A Nested case–control Study Using Food Diaries, *Journal of the National Cancer Institute*, 102(9), 614-626.

**Das, A., Sen, C.K. (2014).** Nutritional Supplements and Functional Foods: functional significance and global regulations. En: *Nutraceutical and Functional Food Regulations in the United States and Around the World*, 13-39, Academic Press, USA.

**Davison, P.M., Kabara, J.J., Marshall, D.L. (2020).** Medium-Chain Fatty Acids (> C8) and Monoesters, En *Antimicrobials in Food*, CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 373-404.

- Davy, B.M., Davy, K.P., Ho, R.C., Beske, S.D., Davrath, L.R., Melby, C.L. (2002).** High-fiber oat cereal compared with wheat cereal consumption favorably alters LDL-cholesterol subclass and particle numbers in middle-aged and older men, *Am. J. Clin. Nutr.*, 76, 351–8.
- De Stefani, E, Correa, P., Ronco, A., Mendilaharsu, M., Guidobono, M., Deneo-Pelegrini, H. (1997).** Dietary Fiber and Risk of Breast Cancer: a case-control study in Uruguay, *Nutrition and Cancer*, 28 (1), 14-19.
- Deal, A.M., Vaida, V. (2022).** Infrared reflection–absorption spectroscopy of  $\alpha$ -hydroxyacids at the water–air interface, *The Journal of Physical Chemistry A*, 126(44), 8280-8294.
- Decker, E.A., McClements, D.J. (2008).** Lípidos. En *Química de los Alimentos*, Ed. S. Damodaran, K.L. Parkin & O. Fennema, 155–215, Zaragoza, España.
- Del Campo, G., Zuriarrain, J., Zuriarrain, A., Berregi, I. (2016).** Quantitative determination of carboxylic acids, amino acids, carbohydrates, ethanol and hydroxymethylfurfural in honey by  $^1\text{H}$  NMR, *Food Chemistry*, 196, 1031–1039.
- Dello Staffolo, M., Bevilacqua, A.E., Rodríguez, M.S., Albertengo, L. (2012).** Dietary fiber and availability of nutrients: a case study on yoghurt as a food model, *The complex world of polysaccharides*, 119-1497.
- Dello Staffolo, M., Sato, A.C., Cunha, R.L. (2017).** Utilization of plant dietary fibers to reinforce low-calorie dairy dessert structure, *Food and Bioprocess Technology*, 10, 914-925.
- Demarchi, S.M., Quintero Ruiz, N.A., Concellón, A., Giner, S.A. (2013).** Effect of temperature on hot-air drying rate and on retention of antioxidant capacity in apple leathers, *Food Bioprod. Process.*, 91, 310–318.
- Depypere, F., Verbeken, D., Thas, O., Dewettinck, K. (2003).** Mixture design approach on the dynamic rheological and uniaxial compression behaviour of milk desserts, *Food Hydrocolloids*, 17, 311-320.
- Derringer, G., Suich, R. (1980).** Simultaneous optimization of several response variables, *Journal of Quality Technology*, 12(4), 214–219.
- Di Vita, G., Pippinato, L., Blanc, S., Zanchini, R., Mosso, A., Brun, F. (2021).** Understanding the role of purchasing predictors in the consumer’s preferences for PDO labelled honey, *Journal of food products marketing*, 27(1), 42–56.
- Díaz, A.C. (2002).** Fundamentos de química analítica: equilibrio iónico y análisis químico, Universidad Nacional de Colombia.
- Dietary Guidelines Advisory Committee (2020).** Scientific Report of the 2020 Dietary Guidelines Advisory Committee. Advisory Report to the Secretary of Agriculture and the Secretary of Health and Human Services. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC., USA.
- Donmez, D., Pinho, L., Patel, B., Desam, P., Campanella, O. H. (2021).** Characterization of starch–water interactions and their effects on two key functional properties: Starch gelatinization and retrogradation, *Current Opinion in Food Science*, 39, 103-109.
- dos Santos, J.M., Oliveira Ignácio, E., Vespúcio Bis-Souza, C., da Silva-Barretto, A.C. (2021).** Performance of reduced fat-reduced salt fermented sausage with

added microcrystalline cellulose, resistant starch and oat fiber using the simplex design, *Meat Science*, 175, 108433.

**Doymaz, I., Ismail, O. (2011).** Drying characteristics of sweet cherry, *Food and Bioproducts Processing*, 8(9), 31–38.

**Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H. (2011).** Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterization, technological functionality and commercial applications: A review, *Food Chemistry*, 124, 411–421.

**Escuredo, O., Dobre, I., Fernández-González, M., Seijo, M.C. (2014).** Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon, *Food Chemistry*, 149, 84-90.

**Esen, M.K., Güzeler, N. (2023).** The effects of the use of whey protein as a fat replacer on the composition, proteolysis, textural, meltability, microstructural, and sensory properties of reduced-fat Boru-type Künefe cheese during storage, *International Dairy Journal*, 137, 105519.

**Eshak, E.S., Iso, H., Date, C., Kikuchi, S., Watanabe, Y., Wada, Y., Tamakoshi, A. (2010).** Dietary fiber intake is associated with reduced risk of mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women, *Journal of Nutrition*, 140, 1445-1453.

**Everett, D.W. (2007).** Microstructure of natural cheeses. En Tamime, A. (Ed.), *Structure of Dairy Products*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 170–209.

**Everett, D.W., Auty, M.A.E. (2017).** Cheese microstructure. En McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P.D., Everett, D.W. (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 547–569, Academic Press, Londres, Reino Unido.

**FDA: Food and Drug Administration, (2018).** Review of the Scientific Evidence on the Physiological Effects of Certain Non-Digestible Carbohydrates, Prepared by Office of Nutrition and Food Labeling Center for Food Safety and Applied Nutrition Food and Drug Administration, U.S. Department of Health and Human Services. <https://www.fda.gov/media/113659/download>

**Fellows, P.J. (2017).** Dehydration. Fellows, P.J. (Ed.), *Food Processing Technology, Principles and Practice*, Woodhead Publishing, Cambridge, 661–716.

**Fennema, O.R., Damodaran, S., Parkin, K.L. (2017).** Introduction to food chemistry. En Fennema's Food Chemistry, 1-16, CRC Press, Londres, Reino Unido.

**Ferranti, P., Velotto, S. (2023).** Oats for Sustainable Production of Foods, Reference Module, *Food Science*, Elsevier, ISBN 9780081005965.

**Figuroa, L.E., Dello Staffolo, M. (2019).** Dietary Fiber (Psyllium,  $\beta$ -Glucan). En *Encyclopedia of Food Chemistry*, (Ed.) Varelis, P., Melton, L., Shahidi, F., 1, 61–69, Elsevier, Londres, Reino Unido.

**Fiorentini, C., Leiva Díaz, E., Giner, S.A. (2008).** A mass transfer model for the drying of an innovative tomato gel, *Food Sci. Technol. Int.*, 14, 39–46.

**Floros, J.D., Chinnan, M.S. (1988).** Computer graphics-assisted optimization for product and process development, *Food Technology*, 42(2), 72-84.

**Floury, J., Camier, B., Rousseau, F., Lopez, C., Tissier, J.P., Famelart, M.H. (2009).** Reducing salt level in food: Part 1. Factors affecting the manufacture of model

cheese systems and their structure–texture relationships, *LWT - Food Sci. Technol.*, 42, 1611–1620.

**Foegeding, E.A., Brown, J., Drake, M.A., Daubert, C.R. (2003).** Sensory and mechanical aspects of cheese texture, *International Dairy Journal*, 13, 585-591.

**Food and Nutrition Board, Institute of Medicine (2001).** Dietary reference intakes. Proposed definition of dietary fiber. A report of the panel on the definition of dietary fiber and the standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes, National Academy Press, Washington, DC., USA.

**Forsido, S. F., Welelaw, E., Belachew, T., Hensel, O. (2021).** Effects of storage temperature and packaging material on physico-chemical, microbial and sensory properties and shelf life of extruded composite baby food flour, *Heliyon*, 7(4).

**Fournier, S. (1998).** Consumers and their brands: Developing relationship theory in consumer research, *Journal of Consumer Research*, 24(4), 343-373.

**Fox P.F. (2016).** Cheese as an Ingredient. En *Fundamentals of Cheese Science*, Cap. 8, 629-679, Ed. Springer, USA.

**Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2017).** Cheese: structure, rheology and texture. En *Fundamentals of Cheese Science*, Springer Nature, USA, 475–532.

**Frankel, E.N. (1998).** Photooxidation of unsaturated fats. En: Lipid oxidation. The oily Press, Cap. 3, 43-54, Dundee, Escocia.

**Frankel, E.N. (2005).** Lipid Oxidation, 2da ed., 129-161, The Oily Press, Bridgwater, Reino Unido.

**Gacula, M., Rutenbeck, S. (2006).** Sample size in consumer test and descriptive analysis, *J. Sensor y Stud.*, 21(2), 129–145.

**Gall, C.F. (2013).** Production systems around the world. En: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.), *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*, John Wiley & Sons, Ltd., London, 1–30.

**Gallagher, E., O'Brien, C.M., Scannell, A.G.M., Arendt, E.K. (2003).** Use of response surface methodology to produce functional short dough biscuits, *Journal of Food Engineering*, 56, 269–271.

**Gan, H.E, Karim, R, Muhammad, S.K.S., Bakar, J.A., Hashim, D.M., Rahman, R.A. (2007).** Optimization of the basic formulation of a traditional baked cassava cake using response surface methodology, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 40, 611-618.

**Gao, H., Rao, C., Song, R., Han, S. (2021).** Oat fiber attenuates circulating oxysterols levels and hepatic inflammation via targeting TLR4 signal pathway in LDL receptor knockout mice, *Journal of Functional Foods*, 76, 104322, ISSN 1756-4646.

**Gao, Z., Yin, J., Zhang, J., Ward, R.E., Martin, R.J., Lefevre, M. (2009).** Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice, *Diabetes*, 58, 1509–17.

**Gheldof, N., Wang, X.H., Engeseth, N.J. (2003).** Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans, *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(5), 1500-1505.

**Ghotra, B.S., Dyal, S.D., Narine, S.S. (2002).** Lipid shortenings: a review, *Food Research International*, 35, 1015-1048.

**Gibson, G.R., Williams, C.M. (2000).** Functional Foods: Concept to Product, 374, Wood head Publishing, Cambridge.

**Gil, J.M., Gracia, A., Sánchez, M. (2000).** Market segmentation and willingness to pay for organic product in Spain, *International Food and Agribusiness Management Review*, 3, 207-226

**Glaser, J., Carroad, P.A., Dunkley, W.L. (1980).** Electron microscopic studies of Casein Micelles and curd microstructure in cottage cheese, *J. Dairy Sci.*, 63, 37–48.

**Glibowski, P., Zarzycki, P., Krzepkowska, M. (2008).** The rheological and instrumental textural properties of selected table fats. *Int. J. Food Prop.*, 11, 678–686.

**Glore, S.R., Van Treeck, D., Knehans, A.W., Guild, M. (1994).** Soluble Fiber and Serum Lipids: a literature review, *Journal of the American Dietetic Association*, 94, 425-436.

**Gong, L., Zhang, H., Niu, Y., Chen, L., Liu, J., Alaxi, S. (2015).** A novel alkali extractable polysaccharide from *Plantago asiatic* L. seeds and its radical-scavenging and bile acidbinding activities, *Journal of Agric. Food Chem.*, 63, 569-577.

**González Remedi, P.A. (2010).** Desarrollo y evaluación de una pasta unttable para el aprovechamiento de semillas de zapallo (*Cucúrbita máxima*). Universidad de Chile. <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/1503/BC-TES-TMP-343.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**Goyal, R.K., Kingsly, A.R.P., Mannikantan, M.R., Ilyas, S.M. (2007).** Mathematical modeling of thin layer drying kinetics of plum in a tunnel dryer. *J. Food Eng.* 79, 176–180.

**Gray, J. (2003).** Carbohydrates: nutritional and health aspects. En Europe Concise Monograph Series, 3-30, International Life Science Institute, Bruselas.

**Green, C.J. (2000).** Fiber in enteral nutrition, *South African Journal of Clinical Nutrition*, 13(4), 150-160.

**Greensmith, M. (1998).** Practical Dehydration, 2da ed., Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.

**Greenway, F., O'Neil, C.E., Stewart, L., Rood, J., Keenan, M., Martin, R. (2007).** Fourteen weeks of treatment with Viscofiber increased fasting levels of glucagon-like peptide-1 and peptide-YY. *J. Med. Food*, 10, 720–4.

**Guinee, T.P. (2011).** Cheese as a food ingredient. En Encyclopedia of Dairy Sciences, 822–832, Ed. Fuquay, J.F., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Academic Press, Londres.

**Gulati, T., Datta, A.K., Doona, C.J., Ruanc, R.R., Feeherry, F.E. (2015).** Modeling moisture migration in a multi-domain food system: application to storage of a sandwich system, *Food Res. Int.*, 76, 427–438.

**Gunasekaran, S., Ak, M.M. (2003).** Cheese Texture. En Cheese Rheology and Texture, Cap. 7, Ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, Estados Unidos.

**Gutierrez-Pulido, H., De la Vara, R. (2003).** Análisis y Diseño de Experimentos. McGraw-Hill, México.

**Hajjar, R., Richard, C.S., Santos, M.M. (2021).** The role of butyrate in surgical and oncological outcomes in colorectal cancer, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 320(4), G601-G608.

**Harrington, E.C. (1965).** The desirability function, *Industrial Quality Control*, 21, 494-498.

**Hassan-Beygi, S.R., Aghbashlo, M., Kianmehr, M.H., Massah, J. (2009).** Drying characteristics of walnut (*Juglans regia* L.) during convection drying, *International Agrophysics*, 23,129-135.

**Henderson, S.M., Pabis, S. (1961).** Grain drying theory II. Temperature effects on drying coefficients, *J. Agric. Eng. Res.*, 6, 169-174.

**Hough, G., Wakeling, I., Mucci, A., Chambers, E., Gallardo, I. M., Alves, L. R. (2006).** Number of consumers necessary for sensory acceptability tests, *Food quality and preference*, 17(6), 522-526.

**Huang, X.F., Yu, Y., Beck, E.J., South, T., Li, Y., Batterham, M.J. (2011).** Diet high in oat beta-glucan activates the gut-hypothalamic (PYY(3)(-)(3)(6)-NPY) axis and increases satiety in diet-induced obesity in mice, *Mol. Nutr. Food Res.*, 55, 1118-21.

**IDF: International Dairy Federation (2004).** Cheese and processed cheese products - Determination of fat Content- Gravimetric method (Reference method). International Standard, 3ra ed., ISO 1735, IDF 5.

**IDF: International Dairy Federation (2006).** Milk fat, Determination of peroxide value, International Standard, 3ra ed., ISO 3976, IDF 74.

**Ilia, G., Simulescu, V., Merghes, P., Varan, N. (2021).** The health benefits of honey as an energy source with antioxidant, antibacterial and antiseptic effects, *Sc.& Sports*, 36(4), 272.e1-272.e10, ISSN 0765-1597, doi.org/10.1016/j.scispo.2020.10.005.

**Insuaty-Santacruz, E., Martinez-Benavidez, J., Jurado-Gómez, H. (2016).** Identification of flora and nutritional analysis of honey bees for beekeeping, *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(1), 37-44.

**Iop, S.C.F.; Silva, R.S.F. y Beleia, A.P. (1999).** Formulation and evaluation of dry dessert mix containing sweetener combinations using mixture response methodology, *Food Chem.*, 66, 167-171.

**ISO 13320 (2009).** International standard. Particle size analysis - Laser diffraction methods, Geneva: ISO Organization.

**Jaganathan, S. K., Balaji, A., Vellayappan, M. V., Subramanian, A. P., John, A. A., Asokan, M. K., Supriyanto, E. (2015).** Radiation-induced surface modification of polymers for biomaterial application, *Journal of Materials Science*, 50, 2007-2018.

**Kabir, Y. (2020).** Functional Foods. En *Cancer Prevention and Therapy*, 1ra ed., Ed. Academic Press, Elsevier, USA.

**Kaczmarczyk, M.M., Miller, M.J., Freund, G.G., (2012).** The health benefits of dietary fiber: beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. *Metabolism*, 61(8), 1058-1066.

**Kalvatchev, Z., Garzaro, D., Cedezo, F.G. (1998).** *Theobroma cacao* L.: Un nuevo enfoque para nutrición y salud, *Agroalimentaria*, 6, 23-25.

**Keijbets, E.L., Chen, J., Dickinson, E., Vieira, J. (2009).** Surface energy investigation of chocolate adhesion to solid mould materials, *Journal Food Eng.*, 92, 217–225.

**Kek, S.P., Chin, N.L., Tan, S.W., Yusof, Y.A., Chua, L.S. (2017).** Classification of honey from its bee origin via chemical profiles and mineral content, *Food Analytical Methods*, 10(1), 19-30.

**Kemp, S.E., Hollowood, T., Hort, J. (2009).** Sensory perception. En Sensory evaluation. A practical handbook, Cap. 2, Ed. Wiley-Blackwell, Wiley & Sons Ltd., Reino Unido.

**Kendall, P., Dimond, N. (2007).** Food storage for safety and quality. *Food and nutrition series. Health*, 9, 310.

**Khuri, A.I. (1990).** Analysis of Multiresponse Experiments: A Review. En Statistical Design & Analysis of Industrial Experiments Statistical Design & Analysis of Industrial Experiments, ed. Subir, G., Marcel Dekker Inc., USA.

**Kilcast, D. (2004).** Texture in food: Solid foods, Elsevier, USA.

**Korhonen, H.J. (2009).** Bioactive Components. Bovine Milk. En Bioactive Components in Milk and Dairy Products, 3-42, Ed Park Y.W., Wiley-Blackwell, Oxford, Reino Unido.

**Kritshesky, D. (2000).** Dietary fiber in health and disease. En Proceedings of the 1st International Conference on Dietary Fiber. Ed. McCleary, B.V., Prosky, L. Dublin, Blackwell Science, Irlanda.

**Küçüköner, E., Haque, Z.U. (2003).** Physico-chemical and rheological properties of full fat and low fat Edam cheeses, *Eur Food Res. Technol.*, 217, 281-286.

**Kus, K.J., Ruiz, E.S. (2020).** Wound dressings—a practical review, *Current Dermatology Reports*, 9(4), 298-308.

**Kwon, B.D., Foss, P.A., Rha, C. (1987).** Rheological characteristics of high viscosity polysaccharides. En Industrial polysaccharides: genetic engineering, structure/property relations and applications, 253-66, Yalpani, M. (Ed.), Elsevier Science Publisher, Amsterdam.

**Labuza, T.P., Hyman, C.R. (1998).** Moisture migration and control in multidomain foods, *Trends in Food Science and Technology*, 9, 47–55.

**Lacey, J.; & Magan, N. (1991).** Fungi in cereal grains: their occurrence, water and temperature relationship. En Cereal Grain. Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage, 77-117, Ed. Chelkowski, J., Elsevier, Amsterdam.

**Lairon, D., Play, B., Jourdeuil-Rahmani, D. (2007).** Digestible and indigestible carbohydrates: interactions with postprandial lipid metabolism, *Journal of Nutrition Biochemistry*, 18, 217-27.

**Lam, M., Nickerson, T. (2013).** Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure–function approach, *Food Chemistry*, 141(2), 975-984.

**Lamothe, L.M., Cantu-Jungles, T.M., Chen, T., Green, S., Naqib, A., Srichuwongbe, S., Hamaker, B.R. (2021).** Boosting the value of insoluble dietary fiber to increase gut fermentability through food processing, *Food Function*, 12, 10658-710666.

**Lange, J., Wyser, Y. (2003).** Recent innovations in barrier technologies for plastic packaging. A review, *Packaging Technology and Science*, 16(4), 149–158.

**Laroche, M.K.C., Zhou, L. (1996).** Brand familiarity and confidence as determinants of purchase intention: an empirical test in a multiple brand context, *Journal of Business Research*, 37, 115-120.

**Larsen, P., Ahmed, M. (2022).** Evaluation of antioxidant potential of honey drops and honey lozenges, *Food Chemistry Advances*, 1, 100013.

**Lattimer, J., Haub, M. (2010).** Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*, 2, 1266-1289.

**Le Meste, M., Lorient, D., Simatos, D. (2002).** L'eau dans les aliments. Ed. Lavoisier Tec & Doc Editions, Paris.

**Leach, J.D. (2007).** Evolutionary perspective on dietary intake of fibre and colorectal cancer, *European Journal of Clinical Nutrition*, 61, 140-142.

**Leyva-Hernández, S.N., González-Rosales, V.M., Galván-Mendoza, O. and Toledo-López, A. (2023).** Main Factors that Explain Organic Food Purchase Intention, *Innovar: Revista de ciencias administrativas y sociales*, 33(87), 93-108

**Lezcano, E. (2011).** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Dirección de Industria Alimentaria - S.A.G.P. y A. Alimentos Argentinos. Galletitas y Bizcochos. Informe de Producto.

**Lezcano, E. (2015).** Bizcochos y galletas. Para todos los gustos. Alimentos Argentinos, 68, 16-38.

**Li, C. (2022).** Recent progress in understanding starch gelatinization - An important property determining food quality, *Carbohydrate Polymers*, 293, 119735.

**Liendo, R., Padilla, F.C., Quintana, A. (1997).** Characterization of cocoa butter extracted from Criollo cultivars of *Theobroma cacao L.*, *Food research international*, 30(9), 727-731.

**Lopez, C. (2005).** Focus on the supramolecular structure of milk fat dairy products, *Reproduction Nutrition Development*, 45, 497-511.

**Lopez, C., Camier, B., Gassi, J.Y. (2007).** Development of the milk fat microstructure during the manufacture and ripening of Emmental cheese observed by confocal laser scanning microscopy, *Int. Dairy J.*, 17, 235–247.

**López, L.B., Suárez, M.M. (2005a).** Capítulo 5: Carbohidratos. En Fundamentos de nutrición normal, 71-97, Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.

**López, L.B., Suárez, M.M. (2005b).** Vitaminas liposolubles. En Fundamentos de nutrición normal, 8, 147-185, Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.

**Lu, R., Abbott, J.A. (2004).** Force/deformation techniques for measuring texture en Texture in food. En: Solid foods. Cap. 5, Vol. 2, Ed. David Kilcast, Boca Raton, Boston, New York, Washington, DC.

**Ludwing, D.S. (1999).** Dietary Fiber, Weight Gain, and Cardiovascular Disease Risk Factors in Young Adults, *Journal of the American Medical Association*, 282, 1539-1546.

**Lupano, C.E. (2013).** Modificaciones de componentes de los alimentos: cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento, 1ra ed., Edulp, La Plata, Argentina.

**Lupano, C.E., Dumay, E., Cheftel, J.C. (1992).** Gelling properties of whey protein isolate: influence of calcium removal by dialysis or diafiltration at acid or neutral pH, *International Journal of Food Science and Technology*, 27, 615–628.

**Madejczyk, M., & Baralkiewicz, D. (2008).** Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES, *Analytica chimica acta*, 617(1-2), 11-17.

**Maina, J.W. (2018).** Analysis of the factors that determine food acceptability, *The Pharma Innovation*, 7(5,D), 253-257.

**Majtan, J., Sojka, M., Palenikova, H., Bucekova, M., Majtan, V. (2020).** Vitamin C enhances the antibacterial activity of honey against planktonic and biofilm-embedded bacteria, *Molecules*, 25(4), 992.

**Malekjani, N., Jafari, S.M. (2020).** Food process modeling and optimization by response surface methodology (RSM). En *Mathematical and statistical applications in food engineering*, 181-203, CRC Press.

**Mälkki, Y. (2004).** Trends in dietary fibre research and development, *Acta Alimentaria*, 33 (1), 39-62.

**Manley, D. (1998).** Capítulo 5: Biscuit, Cookie and Cracker Manufacturing Manuals. En *Secondary processing in biscuit manufacturing*. Woodhead Publishing, Cambridge.

**Manley, D. (2000).** *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies*, 3ra ed., Woodhead Publishing, Cambridge.

**Manley, D. (2001).** Capítulo 10: Recipes for secondary processes. En *Biscuit, cracker and cookie recipes for the food industry*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge.

**Manley, D. (2005).** Recipes for secondary processes. En *Biscuit, cracker and cookie recipes for the food industry*, 135–153, 3ra ed., Woodhead Publishing Limited, Cambridge.

**Manley, D. (2011).** Secondary processing. En: *Manley's Technology of Biscuits, Crackers and Cookies*, 511–546, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.

**Manyatsi, N.T., Solomon, W.K., Shelembe, J.S. (2020).** Optimization of blending ratios of wheat-maize-sprouted mungbean (*Vigna radiata L.*) composite flour bread using D-optimal mixture design, *Cogent Food & Agriculture*, 6:1, 1824304.

**Manzocco, L., Calligaris, S., Anese, M., Nicoli, M.C. (2016).** Capítulo 2 - Determination and Prediction of Shelf Life of Oils/Fats and Oil/Fat-Based Foods, Ed. Hu, M., Jacobsen, C., *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats*, AOCS Press, 133-156.

**Market Intelligence and advisory (2022).** Mercado de galletas: crecimiento, tendencias, impacto de Covid-19 y pronósticos (2022-2027). <https://www.mordorintelligence.com/es/industry-reports/cookies-market>

**Marmouzi, I., Ezzat, S.M. (2018).** The Pharmacology of Avenanthramides: Polyphenols, Capítulo 1. En: Polyphenols: Prevention and Treatment of Human Disease, 2da ed., 3–13, Elsevier, Reino Unido.

**Marsh, K., Bugusu, B. (2007).** Food packaging - Roles, materials, and environmental issues: Scientific status summary, *Journal of Food Science*, 72(3), R39–R55.

**Martínez-Tomé, M., Natale Frega, A.M, Ruggeri, S., Jiménez, A.M. Roses, F., Parras, P. (2004).** Evaluation of antioxidant capacity of cereal brans, *Journal Agric. Food Chem.*, 52, 4690–4699.

**Martín-Gómez, J., Varo, M.A., Mérida, J., Serratosa, M.P. (2020).** Influence of drying processes on anthocyanin profiles, total phenolic compounds and antioxidant activities of blueberry (*Vaccinium corymbosum*), *LWT - Food Sci. Technol.*, 120, 108931.

**Matignon, A., Moulin, G., Bareye, P., Desprairies, M., Mauduit, S., Sieffermann, J.M., Michon, C. (2014).** Starch/carrageenan/milkproteins interactions studied using multiple staining and Confocal Laser Scanning Microscopy, *Carbohydr. Polym.*, 99, 345–355.

**Mazón, N.V.C., Yacelga, J.C.S., Machado, E.R.R., Murillo, P.L.G., Mena, M.E.C. (2018).** Uso de pruebas afectivas, discriminatorias y descriptivas de evaluación sensorial en el campo gastronómico, *Dominio de las Ciencias*, 4(3), 253-263.

**McMinn, W.A.M., Magee, T.R.A. (1999).** Principles, methods and applications of the convective drying of foodstuffs, *Food and Bioproducts Processing*, 77(3), 175–193.

**McRae, M.P. (2017).** Dietary fiber is beneficial for the prevention of cardiovascular disease: an umbrella review of meta-analyses, *J. Chiropr. Med.*, 16(4), 289-299.

**Mejía, I., Bolaños, G. (2007).** Supercritical fluid extraction of cocoa butter: a promising technology for adding value to an economically important natural product. En 1st Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids (PROSCIBA), Iguazu, Brazil.

**Menges, H.O., Ertekin, C. (2006).** Modeling of air drying of Hacihaliloglu-type apricots. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 279–291.

**Michiels, Y., Van Puyvelde, P., Sels, B. (2017).** Barriers and chemistry in a bottle: Mechanisms in today's oxygen barriers for tomorrow's materials, *Applied Sciences*, 7 (7), 665.

**Mohapatra, A., Shinde, A. K., & Singh, R. (2019).** Sheep milk: A pertinent functional food, *Small ruminant research*, 181, 6-11.

**Molist, F., de Segura, A.G., Gasa, J., Hermes, R.G., Manzanilla, E.G., Anguita, M. (2009).** Effects of the insoluble and soluble dietary fibre on the physicochemical properties of digest and the microbial activity in early weaned piglets, *Animal Feed Science and Technology*, 149(3–4), 346-353.

**Montgomery, D. C. (2013).** Design and analysis of experiments, John Wiley and Sons, USA.

- Mordor Intelligence, Market Intelligence & advisory (2022).** Global functional food market. Projection (2021 - 2026). <https://www.mordorintelligence.com/es/industry-reports/global-functional-food-market>
- Moreno, L., Sandoval A., Criollo, J., Criollo, D. (2013).** Caracterización físicoquímica de la grasa de las semillas del fruto de copoazú, *Alimentos Hoy*, 22(30), 11-22.
- Muhammad, D.R.A., Kongor, J.E., Dewettinck, K. (2021).** Investigating the effect of different types of cocoa powder and stabilizers on suspension stability of cinnamon-cocoa drink, *Journal of Food Science and Technology*, 58, 3933-3941.
- Mureşan, C., Cornea-Cipcigan, I., Mihaiela Suharoschi, R., Erler Mărgăoan, S. (2022).** Honey botanical origin and honey-specific protein pattern: Characterization of some European honeys, *LWT*, 154, 112883.
- Murphy, T.E., Tsui, K.L., Allen, J.K. (2005).** A review of robust design methods for multiple responses, *Research in Engineering Design*, 16(3), 118–132.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., Anderson-Cook, C. M. (2016).** Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments, John Wiley & Sons, Canadá.
- Myers, R.H. (1971).** Response Surface Methodology, Ed. Allyn and Bacon, INC, Boston, USA.
- Myers, R.H., Montgomery, D.C. (2002).** Response surface methodology. En Process and product optimization using designed experiments, Cap. 3, 2da ed., New Cork, Wiley.
- Nagpal, T., Sahu, J.K., Khare, S.K., Bashir, K.,vJan, K. (2021).** Trans fatty acids in food: A review on dietary intake, health impact, regulations and alternatives, *Journal of Food Science*, 86(12), 5159-5174.
- Nguyen, H.L.; Tran, T.H., Hao, L.T., Jeon, H., Koo, J.M., Shin, G., Hwang, D.S., Hwang, S.Y., Park, J., Oh, D.X. (2021).** Biorenewable, transparent, and oxygen/moisture barrier nanocellulose/nanochitin-based coating on polypropylene for food packaging applications, *Carbohydrate Polymers*, 271, 118421.
- Nie, S., Cui, S.W., Xie, M. (2018).** Cereal beta-glucan. En Bioactive Polisaccharides, 1ra ed., Academic Press, London, 445–482.
- Nikhat, S., Fazil, M. (2022).** History, phytochemistry, experimental pharmacology and clinical uses of honey: A comprehensive review with special reference to Unani medicine, *Journal of Ethnopharmacology*, 282, 114614.
- O'Connor, S., Rudkowska, I. (2019).** Dietary Fatty Acids and the Metabolic Syndrome: A Personalized Nutrition Approach, *Advances in Food and Nutrition Research*, 87, 43-146.
- Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Carolina. G., Granzella, L., Montonati, M. (2007).** Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos, *DIAETA*, 121(25), 20-33.
- OMS: Organización Mundial de la Salud (2021).** Enfermedades no transmisibles. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>

**Ong, L., Dagastine, R., Kentish, S., Gras, S. (2011).** Microstructure of milk gel and cheese curd observed using cryo scanning electron microscopy and confocal microscopy. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1291-1302.

**Ong, L., Dagastine, R.R., Kentish, S.E., Gras, S.L. (2012).** The effect of pH at renneting on the microstructure, composition and texture of Cheddar cheese, *Food Res. Int.*, 48, 119–130.

**Oroian, M., Amariei, S., Escriche, I., Gutt, G. (2013).** Rheological aspects of Spanish honeys, *Food Bioprocess Tech.*, 6, 228 –241.

**Oršolić, N. (2009).** Bee honey and cáncer, *Journal of apiprodukt and apimedical Science*, 1(4), 93-103.

**Otles, S., Gokgunec, L. (2023).** Safety Considerations in Developing Functional Foods and Nutraceuticals, Reference Module, *Food Science*, Elsevier, Suiza.

**Ozturk, O.K., Takhar, P.S. (2018).** Water transport in starchy foods: experimental and mathematical aspects, *Trends Food Sci. Technol.* 78, 11–24.

**Ozturk-Kerimoglu, B., Urgu-Ozturk, M., Serdaroglu, M., Koca, N. (2022).** Chemical, technological, instrumental, microstructural, oxidative and sensory properties of emulsified sausages formulated with microparticulated whey protein to substitute animal fat, *Meat Science*, 184, 108672.

**Painter, N.S., Burkitt, D.P. (1975).** Diverticular disease of the colon: a deficiency disease in western civilization, *British Medical Journal*, 22(2), 5759, 450-454.

**Pantanelli, A. (2012).** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, Dirección de Industria Alimentaria - S.A.G.P. y A, Alimentos Argentinos, Galletitas. [alimento@sagpya.minproduccion.gov.ar](mailto:alimento@sagpya.minproduccion.gov.ar)

**Park, A.R., Oh, D.K. (2010).** Galacto-oligosaccharide production using microbial  $\beta$ -galactosidase: Current state and perspectives, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(5) 1279-1286.

**Park, Y.W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W., (2007).** Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk, *Small Rumin. Res.*, 68, 88–113.

**Patrignani, M., Battaiotto, L.L., Conforti, P.A. (2022).** Development of a good quality honey biscuit filling: Optimization, sensory properties and shelf life analysis, *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 28, 100508.

**Patrignani, M., Conforti, P.A., Lupano, C.E. (2014).** The role of lipid oxidation on biscuit texture during storage, *International journal of food science & technology*, 49(8), 1925-1931.

**Patrignani, M., Conforti, P.A., Lupano, C.E. (2015).** Lipid oxidation in biscuits: comparison of different lipid extraction methods, *Food Measure*, 9, 104–109.

**Patrignani, M., Fagúndez, G.A., Tananaki, C., Thrasyvoulou, A., Lupano, C.E. (2018).** Volatile compounds of Argentinean honeys: correlation with floral and geographical origin, *Food Chem.*, 246, 32–40.

**Patrignani, M., Lupano, C.E., Conforti, P.A. (2016).** Color, cenizas y capacidad antioxidante de mieles de la provincia de Buenos Aires, Argentina, *Revista de la Facultad de Agronomía*, 115(1), 77-82.

- Peleg, M. (1979).** Characterization of the stress relaxation curves of solid foods, *Journal of Food Science*, 44, 277–281.
- Petitjean, M., Isasi, J. R. (2021).** Chitosan, xanthan and locust bean gum matrices crosslinked with  $\beta$ -cyclodextrin as green sorbents of aromatic compounds, *International Journal of Biological Macromolecules*, 180, 570-577.
- Phillips, G.O., Cui, S.W. (2011).** An introduction: Evolution and finalization of the regulatory definition of dietary, *Food Hydrocolloid*, 25, 139-143.
- Pipoyan, D., Stepanyan, S., Stepanyan, S., Beglaryan, M., Costantini, L., Molinari, R., Merendino, N. (2021).** The effect of trans fatty acids on human health: regulation and consumption patterns, *Foods*, 10(10), 2452.
- Pollard, M.; Kelly, R.; Fisher, P.; Windhab, E.; Eder, B.; & Amadó, R. (2008).** Investigation of molecular weight distribution of LBG galactomannan for flours prepared from individual seeds, mixtures, and commercial samples, *Food Hydrocolloids*, 22, 1596-606.
- Potter, N.M. (1973).** La ciencia de los alimentos, 2da ed., Anita Yates, Eutex, México.
- 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(10), 4290-4302.
- Puścion-Jakubik, A., Karpińska, E., Moskwa, J., Socha, K. (2022).** Content of Phenolic Acids as a Marker of Polish Honey Varieties and Relationship with Selected Honey-Quality-Influencing Variables, *Antioxidants*, 11(7), 1312.
- Qiu, C., Zhao, M., Decker, E.A., McClements, D.J (2015).** Influence of anionic dietary fibers (xanthan gum and pectin) on oxidative stability and lipid digestibility of wheat protein-stabilized fish oil-in-water emulsion, *Food Research International*, 74, 131-139, ISSN 0963-9969.
- Ribardo, C., Allen, T.T. (2003).** An Alternative Desirability Function for Achieving Six Sigma Quality, *Quality and Reliability Engineering International*, 19, 227-240.
- Rios Montoro, F.J., García Castañeda, J.A. (2005).** Determinantes de la disposición a pagar un sobrepago por productos de agricultura ecológica, *Cuadernos de Ciencias Económicas y Empresariales*, 2(49), 93-112.
- Ripsin, C.M., Keenan, J.N., Jacobs, D.R. (1992).** Oat products and lipids lowering. A meta-analysis, *The Journal of the American Medical Association*, 267, 3317-3325.
- Roberfroid, M. (2002).** Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver disease*, 34(2), S105-S110.
- Roiani, M., Seyed, H.M., Jinap, S., Northayati, H. (2016).** Effect of extraction methods on yield, oxidative value, phytosterols and antioxidant content of cocoa butter, *Int. Food Res. Journal*, 23, 47-54.
- Roudaut, G., Debeaufort, F. (2011).** Moisture loss, gain and migration in foods and its impact on food quality. En Kilcast, D., Subramaniam, P. (Eds.), *Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages*, 143–185, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge.

**Rowe, R., Sheskey, P., Owen, S. (2006).** Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5ta ed., Pharmaceutical Press, Londres, Reino Unido.

**Sacilik, K., Elicin, A.K. (2006).** The thin layer drying characteristics of organic apple slices, *J. Food Eng.*, 73, 281–289.

**Saltzman, E., Das, S.K., Lichtenstein, A.H., Dallal, G.E., Corrales, A., Schaefer, E.J. (2001).** An oat-containing hypocaloric diet reduces systolic blood pressure and improves lipid profile beyond effects of weight loss in men and women, *J. Nutr.*, 131, 1465–70.

**Savas, B.S., Akan, E. (2021).** Oat bran fortified raspberry probiotic dairy drinks: Physicochemical, textural, microbiologic properties, in vitro bioaccessibility of antioxidants and polyphenols, *Food Bioscience*, 43, 101223.

**Schmidt, K.A., Smith, D.E. (1992).** Rheological properties of gum and milk protein interactions, *J. Dairy Sci.* 75, 36–42.

**Schneeman, B.O. (1986).** Dietary Fiber: Physical and Chemical Properties, Methods of Analysis, and Physiological Effects, *Food Technology*, 2, 104-110.

**Scott, W.J. (1957).** Water relations of food spoilage microorganisms. *Advance Food Research*, 7, 83-127.

**Seraglio, S. K. T., Schulz, M., Brugnerotto, P., Silva, B., Gonzaga, L. V., Fett, R., Costa, A. C. O. (2021).** Quality, composition and health-protective properties of citrus honey: A review, *Food Research International*, 143, 110268.

**Singh, I., Singh, S. (2018).** Honey moisture reduction and its quality, *Journal of food science and technology*, 55(10), 3861-3871.

**Singh, R.B., Isaza, A.A., Watanabe, S. (2021).** Functional Foods and Nutraceuticals. En *Metabolic and Non-communicable Diseases*, 1ra ed., Ed. Academic Press, Elsevier, Oxford, Reino Unido.

**Singh, R.P., Heldman, D.R. (2014).** Dehydration. En Taylor, S.L. (Ed.), *Food Science and Technology Series, Introduction to Food Engineering*, 675–710, Academic Press, San Diego.

**Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A. (2008).** Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance. A review. *Appetite*, 51(3), 456-467.

**Skeaff, C.M., Williscroft, K., Mann, J., Chisholm, A. (2004).** Replacing cows' with sheep's dairy fat lowers plasma cholesterol concentration in participants consuming dairy fat-rich diets, *Eur. J. Clin. Nutr.* 58, 250–257.

**Sluijs, I., van der Schouw, Y.T., Spijkerman, A.M., Hu, F.B., Grobbee, D.E., Beulens, J.W. (2010).** Carbohydrate quantity and quality and risk of type 2 diabetes in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-Netherlands (EPIC-NL) study, *American Journal of Clinical Nutrition*, 92, 905-911.

**Soto-Muciño, L.E., Chiatchoua, C., Castañeda González, Y., (2015).** National and international panorama of honey production in Mexico, *ECORFAN, Journal-Republic of Cameroon*, 1(1), 15-33.

**Spence, J.T. (2006).** Challenges related to the composition of functional foods, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, S4–S6.

- Steffe, J.F. (1996).** Introduction to rheology. En Steffe (Ed.), *Rheological methods in food process engineering*, 2da ed., 1–93, Freeman Press, USA.
- Stoll, B.A. (1996).** Can Supplementary Dietary Fibre Suppress Breast Cancer Grow, *British Journal Cancer*, 73 (5), 557-559.
- Subbiah, B., Blank, U.K., Morison, K.R. (2020).** A review, analysis and extension of water activity data of sugars and model honey solutions, *Food chemistry*, 326, 126981.
- Subramaniam, P.J. (2000).** Confectionery products. The stability and shelf-life of food, Cambridge, Woodhead Publishing Ltd., 221-48
- Subramaniam, S., Henderson, R. (2000).** Molecular mechanism of vectorial proton translocation by bacteriorhodopsin, *Nature*, 406(6796), 653-657.
- Sumayya, P.C., Babu, G.M., Muraleedharan, K. (2021).** Quantum chemical investigation of the antiradical property of avenanthramides, oat phenolics, *Heliyon*, 7(2), e06125.
- Susliok, K.S. (1998).** Kirk - Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 516-541.
- Syamaladevi, R.M., Tang, J., Villa-Rojas, R., Sablani, S., Carter, B. and Campbell, G. (2016).** Influence of water activity on thermal resistance of microorganisms in low-moisture foods: a review. *Comprehensive Reviews, Food Science and Food Safety*, 15(2), 353-370.
- Szczesniak, A. S. (2002).** Texture is a sensory property, *Food Qual. Prefer.*, 13, 215–225.
- Szczesniak, A.S. (1963).** Classification of textural characteristics, *Journal of food Science*, 28(4), 385-389.
- Takahashi, T., Singh, R.B., Chibisov, S., Tomar, R.S., Charkrabarti, T., Chauhan, A.K., Onsaard, E., Phomkong, W., Chaves, H., Singh, M., Srivastav, R., Srivastav, M., Singh, R.G., Jaglan, P. (2019).** The Singh's Concept of Functional Foods and Functional Farming for World Health, En *The Role of Functional Food Security in Global Health*, (3), 43-56, ISBN 9780128131480, Ed. Singh, R.B., Watson, R.R., Takahashi, T, Academic Press, Reino Unido.
- Tanti, R., Barbut, S., Marangoni, A. G. (2016).** Hydroxypropyl methylcellulose and methylcellulose structured oil as a replacement for shortening in sandwich cookie creams, *Food Hydrocolloids*, 61, 329–337.
- Tapia, M.S., Alzamora, S.M., Chirife, J. (2020).** Effects of water activity ( $a_w$ ) on microbial stability as a hurdle in food preservation. *Water activity in foods: Fundamentals and applications*, 323-355.
- Tárrega, A., Durán, L., Costell, E. (2004).** Flow behaviour of semi-solid dairy desserts. Effect of temperature, *Int. Dairy J.* 14, 345–353.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N.R., Nogueira, J.M., Saraiva, J.A., Nunes, M.L. (2013).** Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils, *Industrial Crops and Products*, 43, 587-595.
- Thakur, S., Saxena, D.C. (2000).** Formulation of extruded snack food (gum based cereal-pulse blend): Optimization of ingredients levels using response surface methodology, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 33, 354-361.

**The food tech (2022).** El consumo de galletitas está entre los más altos del mundo. <https://thefoodtech.com/historico/el-consumo-de-galletitas-esta-entre-los-mas-altos-del-mundo/>

**Thebaudin, J.Y, Lefebvre, A.C., Harrington, M., Bourgeois, C.M. (1997).** Dietary Fibres: Nutritional and technological interest. *Trends in Food Science & Technology*, (8), 41-48.

**Tiefenbacher, K. F. (2017).** Capítulo 8: After-Bake Technology of Crisp Wafers and of Soft Waffles. En *The Technology of Wafers and Waffles I*, 539-586, Academic Press, Elsevier Inc., Reino Unido.

**Tiefenbacher, K. F. (2019).** Capítulo 2: The Calculation Matrix to Follow Up Recipes. En *The Technology of Wafers and Waffles II*, 13-28, Ed. Tiefenbacher, K.F., Academic Press, Reino Unido.

**Tong, Q., Zhang, X., Wu, F., Tong, J., Zhang, P., Zhang, J. (2010).** Effect of honey powder on dough rheology and bread quality, *Food Res. Int.*, 43, 2284–2288.

**Trowell, H.C. (1974).** Definition of dietary fiber. *The Lancet*, 1, 503-505.

**Tunland, B., Meyer, D. (2002).** Nondigestible oligo and Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food. Comprehensive Reviews in Food Science Safety, *Institute of Food Technologist*, 3, 73-91.

**Tuorila, H., Andersson, A., Martikainen, A., Salovaara, H. (1998).** Effect of product formula, information and consumer characteristics on the acceptance of a new snack food, *Food Quality and Preference*, 9(5), 313–320.

**Turney, P.D., Littman, M.L. (2003).** Measuring praise and criticism: Inference of semantic orientation from association, *ACM Transportation Information System*, 21(4), 315-346.

**Van Aken, G.A., Visser, K.A. (2000).** Firmness and crystallization of milk fat in relation to processing conditions, *J. Dairy Sci.*, 83, 1919–1932.

**Van Den Berg, H., Zaim, M., Yadav, R.S., Soares, A., Ameneshewa, B., Mnzava, A., Hii, J., Dash, A.P., Ejov, M. (2012).** Global trends in the use of insecticides to control vector-borne diseases, *Env. health persp.*, 120(4), 577-582.

**Varnalis, A.I., Brennan, J.G., Macdougall, D.B., Gilmour, D.G. (2004).** Optimization of high temperature puffing of potato cubes using response surface methodology, *Journal of Food Engineering*, 61, 153-163.

**Vasconcellos, J.A. (2001).** Los Alimentos del futuro, *La alimentación Latinoamericana*, 231, 11-21.

**Vega Mercado, H., Góngora Nieto, M.M., Barbosa Cánovas, G.V. (2001).** Advances in dehydration of foods, *J. Food Eng.*, 49, 271–289.

**Velioglu, H.M., Velioglu, S.D., Boyacá, I.H., Yilmaz, I., Kurultay, S. (2010).** Investigating the effects of ingredients levels on physical quality properties of cooked hamurger patties using response surface methodology and image processing technology, *Meat Science*, 79, 470-482.

**Waldron, D.S., Hoffmann, W., Buchheim, W., McMahon, D.J., Douglas Goff, H., Crowley, S.V., Moloney, C., O'Regan, J., Giuffrida, F., Celigueta Torres, I., Siong, P. (2020).** Role of Milk Fat in Dairy Products. En; *Advanced Dairy Chemistry*, McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., O'Mahony, J.A. (eds.), Springer, Irlanda.

- Walther, B., Schmid, A., Sieber, R., Wehrmüller, K. (2008).** Cheese in nutrition and health, *Dairy Science and Technology*, 88(4-5), 389-405.
- Wang, Y., Zhang, W., Fu, L. (2017).** Food spoilage microorganisms: ecology and control, 1ra ed., CRC Press, Florida, USA.
- Wang, Z., Sun, J., Liao, X., Chen, F., Zhao, G., Wu, J., Hu, X. (2007).** Mathematical modeling on hot air drying of thin layer applepomace, *Food Res. Int.*, 40, 39–46.
- Wang, Z.Q., Zuberi, A.R., Zhang, X.H., Macgowan, J., Qin, J., Ye, X. (2007).** Effects of dietary fibers on weight gain, carbohydrate metabolism, and gastric ghrelin gene expression in mice fed a high-fat diet, *Metabolism*, 56, 1635-1642.
- Watanabe, K., Rahmasari, R., Matsunaga, A., Haruyama, T., Kobayashi, N. (2014).** Anti-influenza viral effects of honey in vitro: potent high activity of manuka honey, *Archives of medical research*, 45(5), 359-365.
- Watson, R. (2017).** Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging, 1ra ed., Academic Press, USA.
- Wedamulla, N.E., Fan, M., Choi, Y.C., Kim, E.K. (2023).** Effect of pectin on printability and textural properties of potato starch 3D food printing gel during cold storage, *Food Hydrocolloids*, 137, 108362.
- Weickert, M.O., Mohlig, M., Schofl, C., Arafat, A.M., Otto, B., Viehoff, H. (2006).** Cereal fiber improves whole-body insulin sensitivity in overweight and obese women, *Diabetes Care*, 29, 775–80.
- Whistler, R.L., Daniel, J.R. (1993).** Capítulo 3: Carbohidratos. En *Química de los alimentos*, 2da ed., 81-156, Ed. Fennema, O.R., Acribia, Zaragoza, España.
- White, J.W.Jr. (1974).** Beekeeping: Money and Money products. En *Encyclopedia of Food Technology*, 2, 103-108, (Ed.) A.H. Johnson and M.S. Peterson, The Avi Publishing Company, Westport.
- Williams, C.L. (1995).** Importance of dietary Fiber in Childhood, *Journal of the American Dietetic Association*, 95, 1140-1146.
- Wood, L. (2020).** U.S. Cookie and Cracker Market - Analysis and Forecast to 2025- Research and Markets. ID: 3497914, Report: January 2020, Region. United States Index Box Marketing Ltd., <https://www.researchandmarkets.com/reports/3497914/u-scookie-and-cracker-market-analysis-and>
- Wood, P.J. (1984).** Physiochemical properties and technological and nutritional significance of cereal  $\beta$ glucans. En *Cereal Polysaccharides in Technology and Nutrition*, 52-57, Rasper VF (Ed.), Am Assoc Cereal Chem, Brasil.
- Wüstenberg, T., (2015).** General overview of food hydrocolloids. En *Cellulose and Cellulose Derivatives, Food Industry: Fundamentals and Applications*, 1–68, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim.
- Yi, J., Qiu, M., Liu, N., Tian, L., Zhu, X., Decker, E.A., McClements, D.J. (2020).** Inhibition of lipid and protein oxidation in whey-protein-stabilized emulsions using a natural antioxidant: Black rice anthocyanins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(37), 10149-10156.

**Zhang, J., Li, L., Song, P., Wang, C., Man, Q., Meng, L. (2012).** Randomized controlled trial of oatmeal consumption versus noodle consumption on blood lipids of urban Chinese adults with hypercholesterolemia, *Nutr. J.*, 11, 54.

**Tabla I.1:** Valores de adhesividad (J), cohesividad, dureza (N), elasticidad y tiempo de relajación (s) de las formulaciones ensayadas con diferentes niveles de almidón y manteca de cacao

Formulación	Adhesividad	Cohesividad	Dureza	Elasticidad	Tiempo de relajación
1	0,062±0,002 <sup>b</sup>	1,075±0,003 <sup>c</sup>	3,587±1,052 <sup>e</sup>	0,147±0,005 <sup>d</sup>	0,747±0,025 <sup>bc</sup>
2	0,032±0,003 <sup>d</sup>	0,615±0,009 <sup>g</sup>	1,318±0,698 <sup>g</sup>	0,072±0,009 <sup>f</sup>	0,215±0,006 <sup>g</sup>
3	0,120±0,004 <sup>a</sup>	1,315±0,017 <sup>a</sup>	17,576±0,677 <sup>b</sup>	0,268±0,010 <sup>a</sup>	1,647±0,030 <sup>a</sup>
4	0,021±0,004 <sup>e</sup>	1,045±0,002 <sup>cd</sup>	10,719±0,572 <sup>c</sup>	0,189±0,009 <sup>c</sup>	0,725±0,039 <sup>cd</sup>
5	0,050±0,004 <sup>c</sup>	0,820±0,009 <sup>f</sup>	1,150±0,714 <sup>gh</sup>	0,089±0,009 <sup>ef</sup>	0,460±0,035 <sup>f</sup>
6	0,062±0,002 <sup>b</sup>	1,205±0,009 <sup>b</sup>	20,002±3,217 <sup>a</sup>	0,276±0,017 <sup>a</sup>	1,140±0,035 <sup>b</sup>
7	0,121±0,004 <sup>a</sup>	1,090±0,000 <sup>c</sup>	8,400±1,475 <sup>d</sup>	0,235±0,015 <sup>b</sup>	1,131±0,030 <sup>b</sup>
8	0,008±0,001 <sup>f</sup>	0,630±0,023 <sup>g</sup>	0,919±0,683 <sup>h</sup>	0,105±0,004 <sup>e</sup>	0,303±0,005 <sup>fg</sup>
9	0,064±0,002 <sup>b</sup>	0,985±0,037 <sup>de</sup>	3,500±0,726 <sup>cf</sup>	0,174±0,005 <sup>cd</sup>	0,573±0,025 <sup>c</sup>
10	0,060±0,004 <sup>b</sup>	0,957±0,037 <sup>e</sup>	3,200±1,681 <sup>f</sup>	0,172±0,004 <sup>cd</sup>	0,580±0,019 <sup>e</sup>
11	0,062±0,004 <sup>b</sup>	0,983±0,040 <sup>de</sup>	3,700±0,774 <sup>e</sup>	0,176±0,007 <sup>c</sup>	0,630±0,052 <sup>de</sup>

Supraíndices iguales en una misma columna indican que las medidas no difieren significativamente ( $P < 0,05$ )

**Tabla II.1:** Adhesividad (J), cohesividad, dureza (N), elasticidad y tiempo de relajación (s) de las formulaciones ensayadas con diferentes niveles de manteca de cacao, miel y azúcar impalpable

Formulación	Adhesividad	Cohesividad	Dureza	Elasticidad	Tiempo de relajación
<b>1</b>	0,05±0,04 <sup>a</sup>	0,19±0,04 <sup>c</sup>	63,65±9,01 <sup>f</sup>	0,16±0,03 <sup>d</sup>	0,24±0,06 <sup>d</sup>
<b>2</b>	0,85±0,38 <sup>e</sup>	0,36±0,09 <sup>e</sup>	4,56±0,87 <sup>ab</sup>	0,02±0,01 <sup>a</sup>	0,06±0,02 <sup>a</sup>
<b>3</b>	0,12±0,09 <sup>ab</sup>	0,15±0,03 <sup>b</sup>	54,14±8,57 <sup>c</sup>	0,31±0,03 <sup>f</sup>	0,17±0,02 <sup>c</sup>
<b>4</b>	0,99±0,41 <sup>e</sup>	0,33±0,06 <sup>c</sup>	12,44±7,75 <sup>b</sup>	0,07±0,01 <sup>b</sup>	0,15±0,02 <sup>c</sup>
<b>5</b>	0,09±0,02 <sup>ab</sup>	0,10±0,01 <sup>a</sup>	13,31±5,26 <sup>b</sup>	0,47±0,07 <sup>g</sup>	0,10±0,05 <sup>b</sup>
<b>6</b>	0,32±0,15 <sup>bc</sup>	0,35±0,02 <sup>e</sup>	0,83±0,07 <sup>a</sup>	0,02±0,01 <sup>a</sup>	0,07±0,01 <sup>ab</sup>
<b>7</b>	0,28±0,14 <sup>abc</sup>	0,23±0,05 <sup>c</sup>	5,95±3,47 <sup>ab</sup>	0,03±0,01 <sup>a</sup>	0,06±0,02 <sup>a</sup>
<b>8</b>	0,94±0,46 <sup>e</sup>	0,45±0,04 <sup>f</sup>	3,91±0,77 <sup>ab</sup>	0,05±0,01 <sup>a</sup>	0,08±0,02 <sup>ab</sup>
<b>9</b>	0,43±0,26 <sup>cd</sup>	0,17±0,03 <sup>b</sup>	39,97±8,39 <sup>d</sup>	0,25±0,02 <sup>c</sup>	0,17±0,03 <sup>c</sup>
<b>10/13</b>	0,97±0,55 <sup>e</sup>	0,29±0,07 <sup>d</sup>	25,03±8,68 <sup>c</sup>	0,14±0,04 <sup>c</sup>	0,15±0,04 <sup>c</sup>
<b>11</b>	0,71±0,09 <sup>de</sup>	0,38±0,02 <sup>e</sup>	2,02±0,38 <sup>a</sup>	0,02±0,01 <sup>a</sup>	0,08±0,02 <sup>ab</sup>
<b>12</b>	0,89±0,30 <sup>e</sup>	0,33±0,03 <sup>e</sup>	4,96±0,94 <sup>ab</sup>	0,02±0,01 <sup>a</sup>	0,07±0,02 <sup>a</sup>

Los valores informados corresponden a las medidas ± las desviaciones estándar. Superíndices iguales en la misma columna indican que las medidas no se diferencian significativamente (P > 0,05)

**Tabla II.2:** Contenido de antioxidantes, cuantificado mediante las técnicas de FRAP y DPPH, de las formulaciones ensayadas con diferentes niveles de manteca de cacao, miel y azúcar impalpable

Formulación	FRAP ( $\mu\text{mol TROLOX/g m.s.}$ )	DPPH ( $\mu\text{g TROLOX/mg m.s.}$ )
1	0,44 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	0,22 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>
2	0,37 $\pm$ 0,04 <sup>bc</sup>	0,22 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>
3	0,36 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,20 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
4	0,55 $\pm$ 0,02 <sup>ef</sup>	0,30 $\pm$ 0,02 <sup>dc</sup>
5	0,21 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,21 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>
6	0,62 $\pm$ 0,02 <sup>g</sup>	0,31 $\pm$ 0,02 <sup>ef</sup>
7	0,55 $\pm$ 0,02 <sup>ef</sup>	0,24 $\pm$ 0,03 <sup>bc</sup>
8	0,58 $\pm$ 0,01 <sup>fg</sup>	0,34 $\pm$ 0,02 <sup>f</sup>
9	0,40 $\pm$ 0,02 <sup>cd</sup>	0,27 $\pm$ 0,01 <sup>cd</sup>
10/13	0,52 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>	0,24 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>
11	0,62 $\pm$ 0,04 <sup>g</sup>	0,44 $\pm$ 0,01 <sup>g</sup>
12	0,54 $\pm$ 0,03 <sup>ef</sup>	0,21 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>

Los valores informados corresponden a las medidas  $\pm$  las desviaciones estándar. Superíndices iguales en la misma columna indican que las medidas no se diferencian significativamente ( $P > 0,05$ )

**Tabla III.1:** Respuestas de los evaluadores a la encuesta del ensayo de aceptabilidad por atributos para el relleno control (492) y el relleno reducido en grasa y sacarosa (581)

<b>Evaluador</b>	<b>Sexo</b>	<b>Edad</b>	<b>Muestra</b>	<b>Color</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>	<b>Aceptabilidad General</b>
1	F	21	492	5	5	7	6
2	F	18	492	4	9	2	7
3	F	18	492	6	8	7	7
4	M	18	492	4	7	5	7
5	M	18	492	4	7	3	6
6	M	18	492	7	8	6	7
7	F	18	492	5	8	3	6
8	M	18	492	7	4	8	6
9	F	18	492	9	7	6	6
10	M	18	492	3	4	4	4
11	M	19	492	4	8	8	7
12	M	20	492	8	8	7	8
13	M	18	492	8	7	5	9
14	M	18	492	5	3	3	4
15	F	19	492	8	7	6	7
16	F	22	492	6	7	3	5
17	M	21	492	7	5	4	5
18	M	29	492	6	9	9	9
19	F	18	492	5	3	3	2
20	F	18	492	6	7	6	7
21	F	18	492	8	8	9	8
22	F	18	492	8	8	8	8
23	M	25	492	8	2	3	4
24	M	18	492	3	7	7	6
25	M	18	492	3	7	7	8
26	M	18	492	6	8	8	8
27	M	18	492	6	8	8	8
28	M	19	492	6	7	6	7
29	M	17	492	7	8	7	8
30	M	17	492	5	7	5	7
31	M	17	492	3	8	8	8
32	F	19	492	9	6	9	6
33	M	17	492	6	4	8	6
34	M	25	492	9	4	8	7
35	M	24	492	8	7	8	7
36	M	24	492	8	4	6	8
37	M	26	492	9	5	6	6
38	M	25	492	8	6	3	6
39	M	17	492	5	5	7	7
40	F	18	492	7	8	6	8
1	F	21	581	4	7	5	6
2	F	18	581	4	8	5	7
3	F	18	581	6	8	9	9
4	M	18	581	5	8	9	8
5	M	18	581	3	8	5	7
6	M	18	581	6	8	7	8
7	F	18	581	8	6	9	7
8	M	18	581	8	8	8	8
9	F	18	581	9	8	8	8
10	M	18	581	3	6	5	5
11	M	19	581	3	9	7	8
12	M	20	581	8	9	8	8
13	F	24	581	9	7	5	8

Anexo III

<b>Evaluador</b>	<b>Sexo</b>	<b>Edad</b>	<b>Muestra</b>	<b>Color</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>	<b>Aceptabilidad General</b>
14	M	18	581	7	6	7	7
15	F	21	581	8	8	7	7
16	F	22	581	5	6	3	5
17	M	21	581	7	5	4	5
18	M	29	581	6	9	9	8
19	F	18	581	5	5	3	2
20	F	18	581	5	5	6	5
21	F	18	581	7	6	8	7
22	F	18	581	6	5	7	7
23	M	22	581	8	3	4	6
24	M	18	581	3	7	5	7
25	M	18	581	6	6	4	5
26	M	18	581	5	6	6	6
27	M	18	581	6	8	7	7
28	M	19	581	5	5	7	6
29	M	17	581	6	4	5	5
30	M	17	581	5	5	5	6
31	M	17	581	2	7	7	8
32	F	19	581	7	3	4	4
33	M	17	581	6	7	8	7
34	M	22	581	9	8	8	8
35	M	26	581	8	9	8	8
36	M	30	581	8	9	6	8
37	M	29	581	8	8	7	8
38	M	29	581	6	4	4	6
39	M	27	581	5	9	8	8
40	F	18	581	5	8	8	7

F: femenino, M: masculino

**Tabla III.2:** Respuestas de los evaluadores a las preguntas de intención de consumo e intención de compra de las galletitas rellenas con rellenos control (492) y con relleno reducido en grasa y sacarosa (581)

<b>Evaluador</b>	<b>¿Consumiría alguno de estos productos?</b>	<b>¿Compraría alguno?</b>	<b>¿Cuál?</b>
1	si	si	581
2	si	si	581
3	si	si	581
4	si	si	581
5	si	si	581
6	si	si	ambos
7	si	si	581
8	si	si	581
9	si	si	581
10	si	si	581
11	si	si	581
12	si	si	581
13	tal vez	tal vez	581
14	tal vez	si	581
15	si	si	581
16	si	no	-
17	si	no	-
18	si	si	492
19	si	si	581
20	si	si	492
21	si	si	492
22	si	si	492
23	no	no	-
24	si	si	ambos
25	si	si	492
26	si	si	492
27	si	si	ambos
28	no	si	492
29	si	si	492
30	si	si	492
31	si	si	492
32	si	si	492
33	si	si	581
34	si	si	581
35	si	si	492
36	si	si	581
37	si	si	492
38	no	no	-
39	si	si	492
40	si	si	492

**Tabla IV.1:** Contenido de humedad (Kg/100 Kg m.s.) durante el proceso de secado por aire caliente a 70 °C de rellenos sabor queso con goma xántica (XG), alginato de sodio (SA), goma garrofin (LB), carragenina (CA) y control (CF)

Tiempo (min)	XG	SA	LB	CA	CF
0	1,00±0,15 <sup>a</sup>	1,00±0,17 <sup>a</sup>	1,00±0,20 <sup>a</sup>	1,00±0,22 <sup>a</sup>	1,00±0,15 <sup>a</sup>
5	0,856±0,20 <sup>ab</sup>	0,89±0,36 <sup>ab</sup>	0,76±26 <sup>a</sup>	0,78±0,39 <sup>a</sup>	0,76±0,30 <sup>a</sup>
10	0,77±0,38 <sup>abc</sup>	0,84±0,21 <sup>bc</sup>	0,67±0,26 <sup>ab</sup>	0,66±0,31 <sup>ab</sup>	0,61±0,23 <sup>ab</sup>
15	0,69±0,29 <sup>bc</sup>	0,78±0,31 <sup>c</sup>	0,59±0,36 <sup>ab</sup>	0,55±0,21 <sup>ab</sup>	0,48±0,13 <sup>a</sup>
20	0,62±0,34 <sup>bc</sup>	0,73±0,41 <sup>cd</sup>	0,52±0,34 <sup>ab</sup>	0,46±0,29 <sup>a</sup>	0,39±0,13 <sup>a</sup>
25	0,56±0,25 <sup>abc</sup>	0,69±0,29 <sup>bc</sup>	0,46±0,22 <sup>ab</sup>	0,39±0,15 <sup>a</sup>	0,31±0,17 <sup>a</sup>
30	0,50±0,29 <sup>b</sup>	0,64±0,29 <sup>cb</sup>	0,41±0,22 <sup>b</sup>	0,32±0,19 <sup>ab</sup>	0,25±0,13 <sup>ab</sup>
35	0,45±0,29 <sup>cd</sup>	0,60±0,24 <sup>cde</sup>	0,36±0,18 <sup>c</sup>	0,27±0,07 <sup>b</sup>	0,19±0,09 <sup>a</sup>
40	0,47±0,23 <sup>bcd</sup>	0,57±0,15 <sup>cd</sup>	0,31±0,20 <sup>bc</sup>	0,23±0,15 <sup>ab</sup>	0,15±0,08 <sup>ab</sup>
50	0,33±0,21 <sup>bc</sup>	0,50±0,11 <sup>cd</sup>	0,24±0,15 <sup>bc</sup>	0,16±0,10 <sup>b</sup>	0,10±0,05 <sup>a</sup>
60	0,26±0,20 <sup>c</sup>	0,43±0,22 <sup>d</sup>	0,19±0,10 <sup>b</sup>	0,11±0,09 <sup>ab</sup>	0,06±0,02 <sup>a</sup>

Los valores informados corresponden a las medidas ± las desviaciones estándar. Superíndices iguales en la misma fila indican que las medidas no se diferencian significativamente ( $P > 0,05$ )

**Tabla IV.2:** Contenido de humedad (Kg/100 Kg m.s.) predicho por el Modelo de Henderson y Pabis durante el proceso de secado por aire caliente a 70 °C de rellenos con queso de leche de oveja y goma xántica (XG), alginato de sodio (SA), goma garrofin (LB), carragenina (CA) y control (CF)

Tiempo (min)	XG	SA	LB	CA	CF
0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
5	0,72	0,75	0,84	0,78	0,75
10	0,54	0,63	0,70	0,71	0,58
15	0,40	0,53	0,66	0,65	0,45
20	0,30	0,45	0,62	0,60	0,35
25	0,22	0,38	0,58	0,55	0,27
30	0,16	0,32	0,55	0,51	0,21
35	0,12	0,27	0,52	0,47	0,16
40	0,09	0,23	0,49	0,43	0,12
50	0,05	0,16	0,43	0,36	0,07
60	0,02	0,12	0,39	0,31	0,04

**Tabla IV.3:** Contenido de humedad (Kg/100 Kg), dureza (N), adhesividad (J), cohesividad y gomosidad (N) del relleno comercial sabor queso *Club Social*<sup>®</sup>

<b>Relleno</b>	<b>Humedad</b>	<b>Dureza</b>	<b>Adhesividad</b>	<b>Cohesividad</b>	<b>Gomosidad</b>
<i>Club Social</i> <sup>®</sup>	9,68±0,65	6,03±0,18	0,12±0,04	0,39±0,01	2,38±0,14