

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS ESTRUCTURALES DE GALLETAS ELABORADAS CON SUSTITUTOS DE GRASA

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNA: DESAMPARADOS EMBUENA CANDELA

TUTORA: ISABEL HERNANDO

COTUTORA: ANA SALVADOR

COTUTORA COLABORADORA: AMPARO QUILES

Curso Académico: 2014/2015

VALENCIA, JULIO 2015



EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS ESTRUCTURALES DE GALLETAS ELABORADAS CON SUSTITUTOS DE GRASA

RESUMEN

En un contexto social en el que el consumidor valora cada vez más los alimentos saludables y bajos en grasa, se ha estudiado la reformulación de galletas para disminuir su contenido lipídico. Para ello se seleccionaron dos variables, en primer lugar, la emulsión sustituta de la grasa, y en segundo lugar, el papel que tenía el glicerol tanto en la masa como en la galleta. La emulsión seleccionada fue una de tipo aceite en agua, con aceite de girasol y estabilizada con distintos éteres de celulosa: F4M (hidroxipropilmetilcelulosa), A4M (metilcelulosa) y MX (metilcelulosa con un alto grado de metilación). Se elaboraron siete tipos de masas y galletas: masa/galleta control, en la que se utilizó la mantequilla como grasa, y las masas/galletas en las que la grasa se sustituyó por la emulsión de los éteres de celulosa, éstas últimas se formularon con y sin glicerol. Se evaluó la textura tanto de las masas como de las galletas, obteniéndose en ambos casos que el glicerol afectaba a la dureza de la muestra, haciendo las masas más extensibles, cohesivas y manejables, lo que provocaba que luego la galleta fuera menos dura. También se tuvieron en cuenta tanto las propiedades calorimétricas de la masa, como la microestructura de la masa y de la galleta. En las propiedades calorimétricas no se obtuvieron diferencias entre las distintas muestras y la masa control, con lo que la sustitución de la grasa por las emulsiones de los éteres de celulosa y la presencia de glicerol no afectó a la gelatinización del almidón. La microestructura se realizó por microscopía confocal de barrido en el caso de la masa, y por microscopía electrónica de barrido a baja temperatura para las masas y las galletas. En ambos casos se obtuvieron resultados muy diferentes, siendo en todos los casos, tanto en galletas como en masas, las muestras elaboradas con la emulsión MX las más diferentes. Por último, y para terminar de evaluar todas las variables, se realizó un análisis sensorial con las muestras que mejor atributos demostraron en las pruebas anteriores, donde la galleta mejor valorada fue la MX sin glicerol.

Palabras clave: estructura, galletas, sustitutos de grasa, celulosas, microestructura, textura.

Alumna: Desamparados Embuena Candela

Tutora: Isabel Hernando

Cotutora: Ana Salvador

Cotutora colaboradora: Amparo Quiles

Valencia, Julio 2015

ABSTRACT

In a social context in which the consumer values increasingly healthy and low-fat foods, biscuits reformulation has been studied to decrease its lipid content. In order to investigate it, two variables were selected, first of all, the emulsion substitute of the fat, and secondly, the role that the glycerol had both in the dough and in the biscuit. The chosen emulsion was one of type oil in water, with sunflower oil and stabilized with different cellulose ethers: F4M (hydroxypropylmethylcellulose), A4M (methyl cellulose) and MX (methyl cellulose with a high degree of methylation). Seven types of doughs and biscuits were prepared: control dough /biscuit in which the butter was used as fat, and doughs /biscuits in which the fat was replaced with cellulose ethers emulsion, the above mentioned were formulated with and without glycerol. Doughs and biscuits texture were evaluated. Results showed that glycerol affected the hardness dough, making them more extensible and cohesive; as a result, glycerol biscuits were less hard than the others elaborated without glycerol. Both, sample calorimetric properties and microstructure were also evaluated. In the calorimetric properties no differences between doughs elaborated with emulsions and control dough were obtained, thereby replacing the fat emulsions of the cellulose ethers and the presence of glycerol did not affect starch gelatinization. Doughs microstructure was performed by Confocal Laser Scanning Microscopy and Cryo-Scanning Electron Microscopy while biscuits microstructure was carried out by Cryo-Scanning Electron Microscopy. In both cases very different results were obtained, being biscuits and doughs elaborated with the emulsion MX the most different. Finally, a sensory analysis was carried out with the samples that better attributes demonstrated in the previous tests, where the best valued biscuit was the MX without glycerol.

Key words: structure, biscuits, fat replacement, celluloses, microstructure, texture.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mi reconocimiento y agradecimiento a todas aquellas personas que de una forma u otra han hecho posible la realización de este trabajo:

En primer lugar a Isabel Hernando, la tutora de este proyecto, por su dedicación, ayuda y atención constante. A Ana Salvador, cotutora, por sus buenos consejos, ayuda y dedicación prestada en todo momento, además de ser quien junto a Isabel Hernando, hizo posible realizar este proyecto. A Amparo Quiles, cotutora experimental, por todo su tiempo dedicado y los buenos consejos recibidos.

A todo el personal del IATA, especialmente al grupo de propiedades físicas y sensoriales por su gran acogida, y al Departamento de Tecnología de los Alimentos y Servicio de Microscopía por su inigualable trato.

A todas las personas que me han ayudado y prestado su apoyo en todo momento durante todos estos años de estudios.

Por último, a quienes me han enseñado los valores del esfuerzo y la constancia, mi familia, quienes desde pequeña me motivaron a estudiar y han estado conmigo todo este largo camino, por sus buenos consejos y por su apoyo en todas mis decisiones.

GRACIAS.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. Definición y clasificación general de galletas	1
2. Proceso de elaboración de galletas	1
3. Ingredientes	3
3.1 Ingredientes mayoritarios: harina, grasa, azúcar.	3
3.2. Ingredientes minoritarios: agua, bicarbonato, leche.....	5
4. Importancia de la grasa y de su sustitución	6
5. Éteres de celulosa: HPMC y MC.	8
6. Aplicación de la emulsión de éteres de celulosa como sustituta de grasa en galletas. Influencia del glicerol.....	10
OBJETIVOS	13
MATERIALES Y MÉTODOS	14
1. Preparación de la emulsión.....	14
2. Elaboración de la galleta	15
3. Textura	16
3.1. Textura de la masa.....	16
3.2. Textura de la galleta	17
4. Propiedades calorimétricas.....	18
5. Microscopía.....	19
5.1. Microscopía Láser Confocal de Barrido (CLSM).....	19
5.2. Microscopía Electrónica de Barrido a Baja Temperatura (Cryo-SEM)	20
6. Análisis Sensorial.....	20
7. Análisis estadístico.....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
1. Masa	21
1.1. Textura	21
1.2. Propiedades calorimétricas.....	24
1.3. Microscopía.....	27
2. Galleta	30
2.1. Textura	30
2.2. Microscopía.....	31
2.3. Análisis sensorial.....	32
CONCLUSIONES	34
BIBLIOGRAFIA	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la masa de galleta de masa corta. Izquierda: modelo presentado por Baltsavias 1997; derecha: modelo presentado por Chevallier 2002. Blanco: representación de la grasa, gris: solución azúcar, partículas negras: harina, partículas blancas: almidón, flecha: proteína.....	2
Figura 2. Partes de un grano de trigo	3
Figura 3. Estructuras moleculares de la celulosa, metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa, en ese orden.....	9
Figura 4. Proceso de elaboración de la emulsión.....	15
Figura 5. Laminadora.....	16
Figura 6. Ensayo de Análisis de Perfil de Textura TPA	17
Figura 7. Ensayo de penetración	18
Figura 8. DSC Q 2000.....	18
Figura 9. Microscopio láser confocal Nikon C1.	19
Figura 10. Microscopio óptico Nikon Eclipse E800 V-PS100E.....	19
Figura 11. Microscopio Electrónico de Barrido a Baja Temperatura JEOL JSM 5410.....	20
Figura 12. Curvas de textura de las masas elaboradas con celulosas y glicerol frente a la masa control obtenidas por el ensayo de penetración.	21
Figura 13. Curvas de textura de las masas elaboradas con celulosas sin glicerol frente a la masa control obtenidas por el ensayo de penetración.	22
Figura 14. Perfil de textura en el ensayo de doble compresión (TPA) de las diferentes masas de galleta elaboradas con glicerol respecto a la masa control.....	23
Figura 15. Perfil de textura en el ensayo de doble compresión (TPA) de las diferentes masas de galleta elaboradas sin glicerol respecto a la masa control.....	23
Figura 16. Curvas del DSC de la masa elaborada con la celulosa A4M.....	25
Figura 17. Curvas del DSC de la masa elaborada con la celulosa F4M.....	25
Figura 18. Curvas del DSC de la masa elaborada con la celulosa MX.....	26
Figura 19. Curvas del DSC de todas las masas elaboradas.....	26
Figura 20. Microscopía confocal laser de barrido (CLSM). Imagen de las emulsiones F4M, A4M y MX. Magnificación (60x).....	27
Figura 21. Microscopía confocal laser de barrido (CLSM). Imagen de las masas control y las elaboradas con las emulsiones F4M, A4M y MX, con y sin glicerol. Magnificación (60x).....	28
Figura 22. Microscopía Electrónica de Barrido a Baja Temperatura (Cryo-SEM). Imagen de las masas control y las elaboradas con las emulsiones F4M, A4M y MX, con y sin glicerol. Magnificación (500x).....	29
Figura 23. Curvas de textura de las galletas elaboradas con celulosas y glicerol frente a la galleta control obtenidas por el ensayo de penetración.....	30
Figura 24. Curvas de textura de las galletas elaboradas con celulosas sin glicerol frente a la galleta control obtenidas por el ensayo de penetración.....	30
Figura 25. Microscopía Electrónica de Barrido a Baja Temperatura (Cryo-SEM). Imagen de las galletas control y las elaboradas con las emulsiones F4M, A4M y MX, con y sin glicerol. Magnificación (500x).....	32
Figura 26. Puntuaciones de la aceptabilidad de los atributos sensoriales evaluados de las distintas galletas elaboradas.....	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Temperatura de formaación de gel y tipo de gel en función del tipo y grado de sustitución de diferentes éteres de celulosa (Sarkar, 1979).....	10
Tabla 2. Formulación centesimal de las emulsiones	14
Tabla 3. Grado de metil e hidroxipropilsustitución en los éteres de celulosa utilizados.	14
Tabla 4. Formulación de las galletas.....	15
Tabla 5. . Fuerza máxima y tiempo que se tarda en provocar la rotura de la masa en el primer mordisco calculados en el ensayo de penetración.	22
Tabla 6. Valores de dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad de las masas de galleta obtenidos por ensayo de análisis de la textura (TPA).	24
Tabla 7. Valores de fuerza máxima y tiempo obtenidos en el ensayo de penetración de galletas.....	31

INTRODUCCIÓN

1. Definición y clasificación general de galletas

Según el Real Decreto 1124/ 1982 se entiende por “galletas” los productos alimenticios elaborados por una mezcla de harina, grasas comestibles y agua, adicionada o no de azúcares y de otros productos alimenticios o alimentarios (aditivos, aromas, condimentos, especias, etc.) sometidos a un proceso de amasado y al posterior tratamiento térmico, dando lugar a un producto de presentación muy variada, caracterizado por su bajo contenido en agua.

En general, se reconoce que son productos cereales con un contenido en agua inferior al 5% a diferencia de otros productos horneados como el pan que posee un 35-40% de humedad o los bizcochos con un 15-30% de humedad (Wade 1988).

Los ingredientes principales utilizados en la fabricación de galletas son la harina de trigo, la grasa y el azúcar (Wade 1988). Dentro del término galleta existen innumerables variedades. Según Manley (1991) las galletas se pueden clasificar en base a la textura o dureza del producto final, en el cambio de forma en el horno, en la extensibilidad de la masa, o en las diferentes formas de tratar la masa. El RD 1124/1982 las clasifica dentro de los siguientes grupos:

- Marías, tostadas y troqueladas.
- Cracker y de aperitivo.
- Barquillos con o sin relleno.
- Bizcochos secos y blandos.
- Sandwiches.
- Pastas blandas y duras.
- Bañadas con aceite vegetal.
- Recubiertas de chocolate.
- Surtidos.
- Elaboraciones complementarias.

Sin embargo, Wade (1988) cita dos tipos fundamentales de galletas: “pastas duras” (“*hard dough*”) y “pastas blandas” (“*short dough*”), siendo una de las diferencias fundamentales entre estos dos tipos de galletas la existencia o no de largas cadenas de gluten que confieren a la masa extensibilidad Manley (1991). Cuando el gluten está desarrollado, la masa exhibe unas propiedades viscoelásticas dando lugar a “pastas duras”, sin embargo, cuando la cantidad de grasa y azúcar es alta, el gluten no se puede desarrollar completamente y la masa se queda “corta” (“*short dough*”) Manley (1991). Además las galletas de masa corta aumentan su tamaño (“*spread*” o esparcimiento) durante los primeros estadios del proceso de horneado (Manley 1991), mientras que las galletas en las que el gluten está desarrollado (“*hard dough*”) tienden a encoger longitudinalmente.

En España, las galletas de “pasta blanda” son más conocidas como “pastas de té” y en el Reino Unido como “*short dough biscuit*”. Este tipo de galleta se caracteriza por ser rica en grasa y azúcar con la presencia de pequeñas cantidades de agua, por lo que la masa no es elástica y rompe fácilmente bajo tensión (Manley 1991).

2. Proceso de elaboración de galletas

La masa es el estado intermedio entre la harina y el producto terminado (Sai Manohar 1999). La calidad de la masa queda determinada por la cantidad y calidad de los ingredientes empleados. Cada masa tiene unas cualidades particulares de elasticidad y moldeabilidad, es decir, una determinada consistencia.

Al igual que existen numerosas formulaciones de galletas, también existen diversos procesos para formar la masa de galleta. En las galletas de masa corta el objetivo fundamental durante el amasado es que el gluten se desarrolle poco, sin embargo, debe lograrse la dispersión adecuada de los ingredientes (Baltsavias et al.1999). Hay fundamentalmente dos procesos de amasado:

- “*single-method*”, donde se mezclan todos los ingredientes al principio en una sola etapa (Pareyt et al.2008)

- “*creaming-method*”, donde primero se mezcla la mantequilla con el azúcar y los ingredientes minoritarios hasta alcanzar lo que se conoce en pastelería como “punto pomada” (o “*cream-up*”) y, posteriormente, se añaden el resto de ingredientes (Pareyt et al.2008)

En el “*creaming method*” la grasa se combina con el azúcar, esto ayuda a atrapar el aire, e influye en la estructura del producto terminado y en la densidad de la masa. Durante el “*creaming*” la grasa envuelve individualmente los granos de azúcar impidiendo que se agregue entre sí y forme terrones, si la grasa no actuase de esta forma, cuando el azúcar fundiese, volvería a recristalizar formando mayores partículas (Hutchinson 1978).

Durante el amasado, la energía impartida a la masa ha de ser menor que la típicamente utilizada para pan u otros productos de panadería, con el fin de evitar el desarrollo del gluten ya que la masa de galleta necesita tener buena extensibilidad, baja elasticidad y baja resistencia a la deformación (Cauvain et al. 2006).

El tiempo de amasado afecta fundamentalmente a la masa, haciéndola más deformable, pero también puede afectar al gluten ayudándolo a desarrollarse (Baltsavias et al.1999b).

Según Pareyt et al. (2008), la distribución de los ingredientes dentro de la masa de galleta dependerá de la formulación empleada. De tal forma que si la concentración de grasa es alta, respondería al modelo propuesto por Baltsavias et al. (1997), donde la masa es un sistema bifásico compuesto por una fase grasa y una fase no grasa formada por una solución saturada de azúcar que envuelve las partículas de azúcar. Por otro lado, si el contenido en grasa es bajo, estaría de acuerdo con el modelo presentado por Chevallier et al (2000) donde la masa de galleta es una suspensión de proteínas, complejos almidón-proteína y gránulos aislados de almidón en una fase líquida continua basada en una emulsión de lípidos en una solución de azúcar (Figura 1).



Figura 1. Estructura de la masa de galleta de masa corta. Izquierda: modelo presentado por Baltsavias 1997; derecha: modelo presentado por Chevallier 2002. Blanco: representación de la grasa, gris: solución azúcar, partículas negras: harina, partículas blancas: almidón, flecha: proteína.

Recientemente, Rodríguez et al. (2012), tras analizar galletas de masa corta mediante técnicas de Cryo-sem, definió que la estructura de este tipo de galletas está formada por una matriz lipoproteica donde los gránulos de almidón están embebidos. Estos mismo autores, confirmaron que la galleta posee un grado de estructuración mayor al de la masa de galleta debido a una fusión de la grasa en el proceso de horneado como habían propuesto otros autores (Flint et al. 1970, Doescher et al.1987).

Durante el periodo de espera entre el amasado y el laminado de galletas ocurren numerosos cambios en la masa de galletas (Wade 1988). Las galletas de masa corta cambian su consistencia en este periodo. Aparentemente parece que la masa se seca, pero los cambios ocurridos se deben a la lenta absorción de agua libre por los componentes hidrofílicos (Wade 1988), como son la proteína y el almidón de la harina (Pareyt et al. 2008). Con un tiempo de espera que ronda los 30 minutos, la masa se estabiliza y se reducen las diferencias de un lote a otro (Manley 1998).

Posteriormente, la masa se lamina. Durante este proceso conviene ir girando la masa 90° cada vez que pase por la laminadora, ya que como Fustier et al. (2008) explica, el gluten se alinea en la dirección del laminado, por lo que la longitud de la galleta disminuirá sólo en la

dirección de la laminación mientras que la anchura aumenta, dando lugar a galletas de forma irregular tras el horneado (Thacker 1993).

En el proceso de horneado se producen numerosos cambios que modifican radicalmente la estructura de la galleta como son la desnaturalización proteica, la fusión de la grasa, las reacciones de Maillard, la evaporación del agua y la expansión de gases (Chevallier et al. 2002). Esto se traduce en tres variaciones importantes (Manley 1998):

- Disminución de la densidad del producto unida al desarrollo de una textura abierta y porosa.
- Reducción del nivel de humedad hasta 1-4%.
- Cambio en la coloración de la superficie

Durante el horneado existe un solapamiento de procesos. La grasa es lo primero que funde, y da a la masa un carácter plástico (Pareyt et al. 2008); de hecho, las masas con mayor cantidad de grasa fundida durante la cocción se esparcirán más (Hoseney 1994), retrasando por otra parte la acción de los agentes leudantes que liberarán gases y se expandirán. La expansión viene seguida de un colapso (Chevallier et al. 2000b), que marcará el diámetro final de la galleta. El almidón y las proteínas también sufren un proceso de calentamiento hinchándose y, en algunos casos, sufriendo una desnaturalización. También el agua presente en la masa se evapora contribuyendo a la expansión. La pérdida de humedad en la superficie de la galleta está relacionada con la temperatura en superficie. El azúcar contribuye a disminuir la viscosidad de la masa (Manley 1998) y forma una estructura de masa no coagulada al subir la temperatura (al contrario que ocurre en otras masas como la de pan), así que durante la cocción la masa se convierte en una estructura de matriz azucarada.

El final del horneado se define por dos hechos: el color y el contenido en humedad, que están entre sí relacionados y vienen determinados muchas veces por un examen visual y determinación de la humedad, respectivamente (Wade 1988).

Posteriormente al horneado, las galletas necesitan enfriarse para terminar de perder humedad y volverse rígidas (Manley 1998). La galleta en este punto ya es una matriz estructurada. En 1983 Burt et al. mediante un análisis estereológico concluyeron que la distribución de los componentes mayoritarios (grasa, proteína y almidón) era en este punto completamente homogénea en la galleta.

3. Ingredientes

3.1 Ingredientes mayoritarios: harina, grasa, azúcar.

3.1.1. Harina

La harina es el ingrediente mayoritario de las galletas. La harina se produce tras la molienda del grano de trigo que está compuesto por tres partes (Figura 2). Las capas exteriores, de color rojizo que se llaman salvado, el centro blanco o amarillento llamado endospermo y el diminuto embrión llamado germen (Manley 1989).

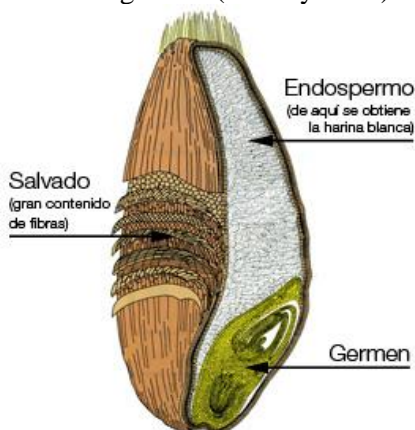


Figura 2. Partes de un grano de trigo

La harina se compone principalmente de una mezcla de fragmentos de endospermo junto con gránulos de almidón y algunos fragmentos de proteína (Wade, 1988). En particular, las harinas de trigo débil son una mezcla de constituyentes como almidón (70-75%), proteínas (8-11%) lípidos, varios polisacáridos no almidonáceos como las pentosanas (Fustier 2008) y una pequeña cantidad de agua 14%.

La mayoría de los gránulos de almidón presentes en la galleta se encuentran sin gelatinizar debido a la poca cantidad de agua que contiene y a la presencia de azúcar (Chevallier et al., 2000), de manera que el almidón podría quedar rodeado de los otros ingredientes y actuar de “relleno” como cita Wade (1988). Sin embargo, este hecho no es homogéneo para toda la galleta. Chevallier et al. (2000) afirmaron que el almidón está más hidrolizado en el centro que en la periferia y superficie de la galleta donde el gránulo se mantiene intacto y guarda su birrefringencia.

La proteína más importante de la harina es el gluten, cuyo contenido en las harinas para industria galletera es bajo (7-9%) (HadiNezhan, 2009). Una proporción adecuada de agua y harina, como ocurre en la fabricación de pan, hace que el gluten forme una masa viscoelástica (Pareyt et al., 2008). Sin embargo, en el caso de las galletas de masa corta, donde hay poca cantidad de agua y sustancias que interfieren como la grasa o el azúcar, el gluten no es capaz de hidratarse (Gaines 1990). Aun así, la presencia de gluten es uno de los factores que más afecta al diámetro de las galletas. De hecho, en la galleta el contenido en gluten se relaciona con el diámetro final de la misma, de tal forma que el diámetro de las galletas disminuye conforme aumenta el contenido de gluten (Pareyt et al., 2008b; Kaldy et al., 1993).

3.1.2. Grasa

La grasa es un ingrediente esencial en la fabricación de galletas y es el segundo componente en peso por detrás la harina (Sai Manohar et al., 1999b). El uso de grasa en la masa de galleta hace que la cantidad de agua necesaria para hacer la masa sea menor (Wade, 1988; Sai Manohar et al., 1999b), siendo la grasa el ingrediente responsable de la unión de todos los ingredientes (Pareyt et al., 2008). Además, tiene misión antiaglutinante y participa en el desarrollo de la textura (Manley 1998). Durante el amasado, la grasa actúa como lubricante y rodea la superficie de la harina inhibiendo la creación de una red cohesiva y extensible de gluten (Wade, 1988); además, la grasa presente en la masa de galleta rodea también los gránulos de almidón, rompe la continuidad de la estructura proteína-almidón (Ghotra et al., 2002) y afecta la textura de la masa, de forma que la masa es menos elástica y no encoge tras su laminación (Baltasavias, 1997b, Maache-Rezzoug et al., 1998). Por tanto, la grasa influye en las dimensiones, las propiedades finales de textura (Pareyt et al. 2009) y hace que la galleta sea más frágil (Maage-Rezzoug et al., 1998).

En la industria la grasa recibe el nombre de “shortening” debido a que su adición inhibe la formación de una masa elástica, la “corta” de ahí que en inglés se traduzca como “short”, confiriéndole propiedades texturales al producto final (Pareyt et al. 2008).

3.1.3. Azúcar

El azúcar mayoritariamente empleado en la elaboración de galletas es la sacarosa en forma cristalina, un disacárido no reductor (α -D-glucopyranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranosa).

Desde el punto de vista sensorial, en las galletas afecta al gusto, dimensiones, color y dureza (Gallagher, 2003). Además, la cantidad y el tipo de azúcar influyen durante todo el proceso, desde el amasado hasta el envasado. En el proceso de mezclado de ingredientes, el azúcar compite con la harina por el agua inhibiendo la formación de gluten (Gallagher, 2003) y afectando, por tanto, a la consistencia de la masa (Olewnik et al., 1984; Slade y Levine 1994), que es fundamental en el momento del laminado y corte. Durante el horneado, el azúcar también influye en la gelatinización del almidón (Spies et al., 1982), en las reacciones de pardeamiento (Kulp et al., 1991), en la movilidad del gluten (Pareyt et al., 2009), en la expansión de la galleta

y en el carácter crujiente (Kulp et al., 1991). En el horneado no hay suficiente agua para disolver el azúcar añadido (Manley, 2000; Pareyt et al., 2008) ya que el calor no se distribuye homogéneamente en toda la masa de galleta, de forma que el azúcar en el centro de la galleta se puede observar en forma amorfa y en forma cristalina, mientras que el azúcar en la superficie únicamente está en forma cristalina debido a que en la superficie el agua se evapora rápidamente en el proceso de horneado Chevallier et al. (2000).

3.2. Ingredientes minoritarios: agua, bicarbonato, leche

3.2.1. Agua

El agua es un ingrediente clave durante el proceso de fabricación de las galletas, a pesar de ser un ingrediente minoritario en el proceso de fabricación y ser casi totalmente eliminado durante el horneado (Pareyt et al., 2008).

En la galleta, el agua actúa como plastificante y disolvente; además influye en la viscosidad de la masa y en la textura una vez horneada. En la primera parte del amasado, el agua actúa disolviendo algunos de los ingredientes y llega a dispersarse en la grasa; por eso la mezcla de masa final tiene un color crema claro y una consistencia blanda (Wade 1988), de ahí el nombre de “punto pomada”. Las masas con más agua, son más cohesivas y adhesivas que las masas que tienen una baja humedad (Sai Manohar et al. 1999).

La cantidad de agua final influye en la consistencia final de la galleta, de forma que, las galletas de baja humedad son más frágiles, y a medida que se aumenta la cantidad de humedad, el punto de fractura de la galleta disminuye, revelando una mayor elasticidad y deformabilidad (Baltsavias et al 1999).

3.2.2. Sal

El cloruro sódico o sal común se utiliza fundamentalmente por su sabor y por su propiedad de potenciar sabores. Su concentración más eficaz en las galletas es de 1-1,5% del peso de la harina, ya que a niveles superiores a 2,5% se hace desagradable (Manley 1998).

3.2.3. Leche en polvo

La leche contribuye a la textura, gusto, color de superficie y le aporta un valor nutricional extra. La presencia de aminoácidos provenientes de la leche favorece las reacciones de pardeamiento durante el horneado, contribuyendo a la obtención del color y el aroma deseado (Wade 1988).

Actualmente la mayoría de la leche utilizada es en polvo, dada su facilidad de manejo y bajo contenido en humedad, lo que prolonga la vida útil de la galleta (Manley 1998).

3.2.4. Agentes leudantes

- Bicarbonato sódico (CO_3HNa)

En presencia de humedad, el bicarbonato reacciona con el agua produciendo anhídrido carbónico al formarse sal sódica y agua. Al calentarse, el bicarbonato libera algo de dióxido de carbono y permanece como carbonato sódico, actuando como esponjante; además controla el pH que puede afectar al esparcimiento de la masa y al color de la galleta (Manley 1998).

- Bicarbonato amónico ($\text{CO}_3(\text{NH}_4)$)

El bicarbonato amónico se descompone completamente por el calor desprendiendo anhídrido carbónico, amoniaco gaseoso y agua. Por tanto, se disuelve rápidamente produciendo un medio alcalino que hace que la masa sea muy blanda; al igual que el bicarbonato sódico, también actúa como esponjante (Manley 1998).

4. Importancia de la grasa y de su sustitución

La relación existente entre alimentación y salud es un hecho innegable, dado que la dieta es un factor determinante en la salud del individuo. Por tanto, el control de la dieta es la mejor prevención para un gran número de patologías (Vidal-García, 2009).

La OMS y la FAO recomiendan que el consumo de grasas sea menor al 30% de la ingesta de calorías totales y que de éstas menos de un 10% sean grasas saturadas (Dietary Guidelines Advisory Committee, 2005). Además, la Unión Europea, en su política de nutrición, sugiere que únicamente el 20-30% de la energía ingerida debe de ser proveniente de la grasa (O'Connor 1992), ya que existen evidencias de que una mayor ingesta está relacionada con enfermedades coronarias (LaRosa 1990), además de obesidad, cáncer y colesterol alto en sangre (Akoh 1998). Por todo ello, no cesa de crecer el interés por el desarrollo de productos con un menor contenido en grasa y, consecuentemente, en calorías (Sudha et al., 2007).

Según la Organización Mundial de la Salud, la industria alimentaria debería ejercer un rol fundamental en la promoción de una alimentación saludable promocionando las siguientes estrategias (WHO, 2013):

- Reducir el contenido en grasa, azúcar y sal de los alimentos procesados, elaborados industrialmente.
- Asegurar el acceso físico y económico, por parte de los consumidores a alimentos sanos y nutritivos.
- Practicar una comercialización responsable.
- Colaborar en la distribución de alimentos sanos y apoyar la práctica de actividad física en el lugar de trabajo.

En este sentido, se busca reformular las recetas tradicionales con ciertos ingredientes o categorías de ingredientes para satisfacer las necesidades del consumidor y la creciente preocupación por la salud. Puesto que la alimentación es el proceso educable, consciente y voluntario por el que se proporciona al organismo los alimentos que le son indispensables (Soriano-Del Castillo, 2005), la elección final se verá influenciada por toda una serie de factores a los que cada individuo otorga más o menos relevancia. Tan importantes son los factores que acompañan al producto, ya sea el precio, el tipo de envase y marketing, el sector poblacional al que van destinados (apto para celíacos, para intolerantes a la lactosa...), como las características nutricionales y organolépticas del mismo. El objetivo a alcanzar es que las propiedades organolépticas de un producto no sean afectadas por la reformulación del alimento.

Las galletas son un producto calórico, rico en grasas y muy habitualmente consumido, sometido a numerosas reformulaciones en los últimos años, más o menos exitosas, que han dado lugar incluso a productos comercializados. El sector de la galletería mueve más de 830 millones de euros al año en España, con una ingesta media por habitante de más de 5 kilos al año en 2012 (Magrama, 2013) y que sigue reforzándose y creciendo gracias a la estrategia del valor añadido: vincular la salud al placer (Magrama, 2009).

El alto contenido tradicional de grasa en galletas de masa corta y otros productos dulces horneados se explica en la medida en que ésta posee un gran número de funciones (Oreopoulou, 2006). Algunos de los papeles que desempeña la grasa son (Oreopoulou, 2006):

- Aireación: ayuda a retener aire durante el amasado contribuyendo al aumento del volumen final.
- Lubricación: evita que la masa se pegue en exceso a los equipos de procesado.
- Textura: confiere una textura característica, tierna pero resistente.
- Sabor: aporta un sabor propio (por ejemplo, a mantequilla) y ayuda a vehiculizar otros sabores añadidos (como chocolate).
- Sensación en boca: contribuye al efecto cremoso, suave y húmedo pero crujiente durante la masticación y deglución.

- Apariencia: ayuda a la formación de una superficie suave y brillante tras el horneado y una estructura interna con burbujas homogéneas.

En el proceso de fabricación de galletas se requiere el uso de suficientes lípidos con consistencia semisólida a sólida a temperatura ambiente. La fabricación de galletas no es posible con grasas con consistencia líquida a temperatura ambiente (aceites) ya que la masa se vuelve demasiado blanda, fluida y difícilmente manejable (Baltsavias et al., 1999). Las fuentes de grasa que más comúnmente se utilizan son grasas de origen animal (mantequilla), grasas de origen vegetal con un alto nivel de saturación (coco y palma) o aceites vegetales sometidos a un tratamiento de hidrogenación para saturar los ácidos grasos mediante adición de hidrógeno a los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados y solidificar su consistencia (Tarancón et al., 2013). Como ya se ha mencionado, la hidrogenación aumenta el contenido en grasas saturadas y genera ácidos grasos trans con el consiguiente efecto negativo para la salud cardiovascular del consumidor (FAO-FINUT, 2012).

Las tres herramientas principales para la reformulación de galletas y otros productos horneados son:

- Adición de fibra: habitualmente se ha utilizado salvado de cereal como fuente de fibra (de cebada, trigo, avena...), fibra de fruta (de manzana, plátano, mango...) o almidón resistente (Laguna, 2013). Aporta un valor añadido al producto final ya que éste podrá ser etiquetado y publicitado como alimento fuente de fibra o alimento con alto contenido en fibra, atendiendo a la legislación vigente (Reglamento (CE) No 1924/2006).
- Sustitución de azúcares: es complicado conseguir reemplazar el azúcar por un único ingrediente. Como sustitutos se emplean compuestos que actúan como edulcorante y como agente de carga a la vez, o bien se utilizan sustancias que sólo tienen función de agente de carga y por lo tanto se deben combinar con un edulcorante (Martínez-Cervera, 2013). Se ha trabajado en su sustitución con polioles, fructosa, inulina, xilosa y glucosa, arabinosilano, malitol o eritriol (Laguna, 2013).
- Sustitución de grasa: se clasifican en base a dos criterios. Por un lado, atendiendo a su funcionalidad, se habla de sustitutos por ser análogos a la grasa, grasas miméticas, barreras de grasa o extensores de grasa. Por otro lado, en función de su composición química, existen los sustitutos de grasa a base de hidratos de carbono, a base de proteínas o a base de grasa (Oreopoulou, 2006). Son habituales como sustitutos de grasa a base de hidratos de carbono las celulosas, las dextrinas y las maltodextrinas, la polidextrosa, las gomas, las fibras, el almidón resistente y el almidón modificado. Cuando se recurre a sustitutos a base de proteínas, se emplean proteínas de bajo peso molecular o proteínas modificadas, que presentan como gran desventaja el inconveniente de no poder ser sometidos a altas temperaturas por la desnaturalización proteica y consecuente coagulación (Oreopoulou, 2006). En cuanto a los sustitutos de grasa a base de grasa, se subdividen a su vez en dos categorías: los emulsionantes y los análogos de lípidos. La función de los primeros es la de dispersar la grasa en el medio acuoso, consiguiendo un mismo resultado organoléptico con una menor cantidad de grasa inicial (ADA, 2005). El ejemplo clásico de este efecto es la lecitina de soja. Por otro lado, existen los compuestos análogos de lípidos como el Salatrim (acrónimo del inglés short- and long-chain acyl tryglycerid molecule, es decir, molécula de triglicérido de cadena corta y larga) empleado como sucedáneo de aceite (FAO, 1997; ADA, 2005), cuyo interés radica en una mejora del perfil lipídico y un mejor aporte calórico en la medida en que se absorbe en baja cantidad a nivel del intestino delgado, aportando menos calorías.

La parte más compleja de la reformulación con sustitutos de grasa es siempre tratar de imitar la sensación en boca, la textura, el sabor y la lubricación equivalente a la que se consigue con los ingredientes tradicionales (Sudha et al., 2007).

5. Éteres de celulosa: HPMC y MC.

Según la bibliografía consultada, existen diferentes sustitutos de grasa a base de hidratos de carbono adecuados para reducir el contenido graso de productos horneados dulces y en concreto de galletas. Estos sustitutos de grasa se obtienen a partir de productos de origen vegetal e incluyen hidratos de carbono digeribles y no digeribles. Los carbohidratos digeribles aportan 4 kcal/g, mientras que los no digeribles aportan menos calorías y son considerados como fibra dietética (Yáñez y Biolley, 1999). Debido a que tienen capacidad de ligar agua, son espesantes y aportan una textura y una sensación agradable en boca que hace que puedan ser utilizados como sustitutos de grasa.

La celulosa en distintas variantes puede ser utilizada como sustituta de grasa en diferentes grupos de alimentos. La celulosa en polvo se obtiene directamente de la planta por molienda. A partir de ésta y mediante diferentes procesos se obtienen derivados de la celulosa como la celulosa microcristalina o la celulosa en gel que se obtiene por despolimerización química y desintegración mecánica húmeda y la carboximetilcelulosa sódica, metil celulosa e hidroxipropilmetilcelulosa que se obtienen por derivatización química (Akoh, 1998). Los derivados de la celulosa producen una red de gel que estabiliza espumas y emulsiones, modifica la textura, aumenta la viscosidad y aporta fibra dietética (Yáñez y Biolley, 1999).

La metilcelulosa (MC) e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) son hidrocoloides obtenidos por eterificación de la celulosa. Las estructuras moleculares de la celulosa, la MC y la HPMC se muestran en la figura 3.

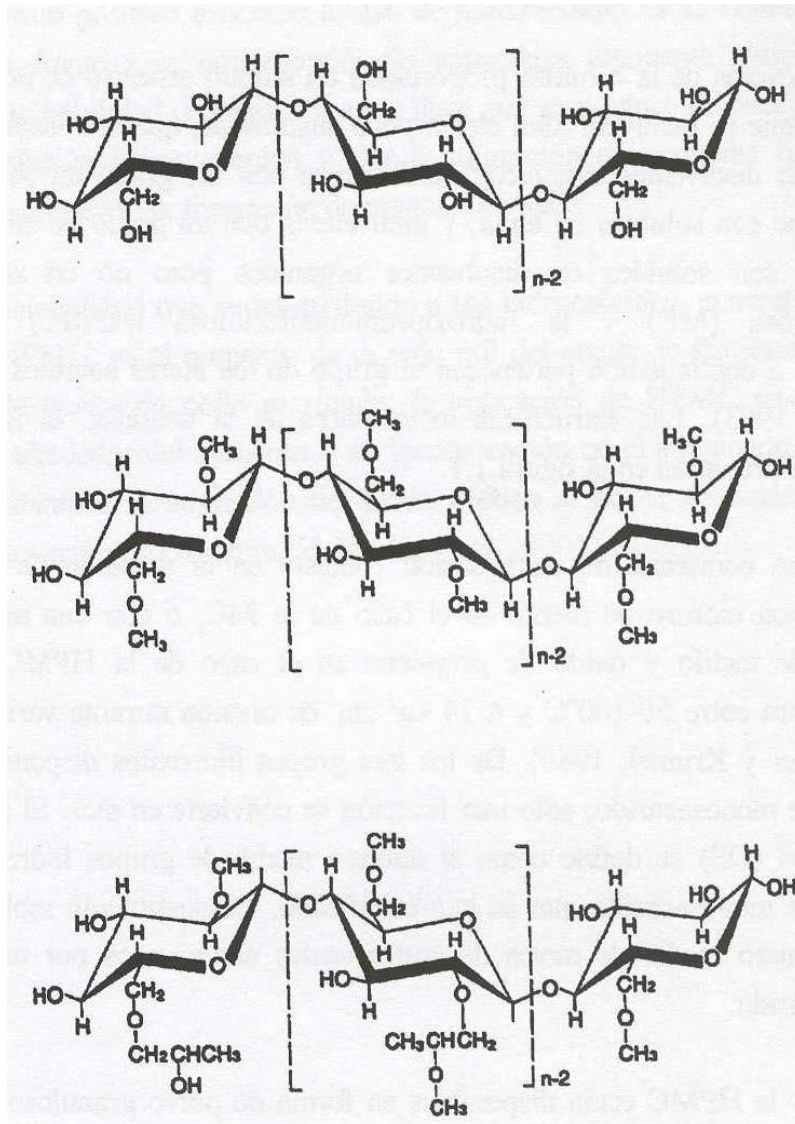


Figura 3. Estructuras moleculares de la celulosa, metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa, en ese orden.

Como vemos, la MC posee sustituciones de tipo metoxilo mientras que la HPMC tiene distintos ratios de sustituciones hidroxipropilo y metoxilo (The Dow Chemical Co., 1996).

Para conseguir un efecto satisfactorio como sustituto de grasa, las moléculas deben hidratarse adecuadamente, y para ello es necesaria una fase previa de dispersión del hidrocoloide, debido a su elevada hidrofiliya y actividad superficial. Según la aplicación que se le vaya a dar, existen diferentes métodos de dispersión del polvo de MC o HPMC: en agua caliente, en seco o en soluciones no acuosas (aceite, propilenglicol, glicerina). En caso de preparar una emulsión de aceite en agua, la técnica más adecuada es la dispersión del hidrocoloide en el aceite vegetal. Posteriormente, la fase de hidratación se realiza adicionando agua fría (en torno a 10°C) y mezclando (The Dow Chemical Co., 1996).

Los éteres de celulosa presentan una característica única: tienen la capacidad de termogelificar reversiblemente. Esto significa que, al igual que el resto de hidrocoloides, cuando se empieza a calentar una disolución de MC o HPMC, ésta sufre inicialmente una disminución en la viscosidad. Sin embargo, a medida que el calentamiento se eleva, forma un gel débil de consistencia entre sólido y líquido y vuelve a su estado inicial al disminuir la temperatura. Ésta y la propiedad de solubilidad en agua fría se deben a la presencia de los grupos metil e

hidroxipropil, que se introducen en la molécula haciendo reaccionar la celulosa alcalina con cloruro de metilo y óxido de propileno respectivamente (Burdock, 2007). Otra ventaja observada es que ciclos repetidos de enfriamiento y calentamiento no afectan a la capacidad de formación del gel ni a la estabilidad del gel formado. El mecanismo de gelificación se debe a la interacción hidrofóbica entre moléculas con grupos metoxilo. A baja temperatura, las moléculas están hidratadas y existe poca interacción entre las cadenas de polímeros, pero a medida que se calienta la emulsión, las moléculas pierden gradualmente el agua de hidratación y desciende la viscosidad. Cuando la temperatura de la emulsión alcanza la temperatura de formación de gel, la estructura de gel se desarrolla debido a las interacciones producidas entre los diferentes polímeros. Cuando la temperatura disminuye por debajo del punto crítico, el gel revierte y los polímeros vuelven a su estado original (Sarkar, 1979). La temperatura de formación del gel y la estructura característica de ese gel varía según el tipo de sustitución, el grado de sustitución (DS, por sus siglas en inglés) y la sustitución molar (MS, por sus siglas en inglés), como se muestra en la tabla 1. El DS es el número medio de grupos hidroxilo por unidad de monosacárido eterificado, mientras que la MS es el número medio de moles de sustituyentes adicionado por unidad de monosacárido (Sanz, 2003).

Tabla 1. Temperatura de formación de gel y tipo de gel en función del tipo y grado de sustitución de diferentes éteres de celulosa (Sarkar, 1979)

Tipo de éter de celulosa	Grado de metoxil sustitución (DS)	Hidroxipropil sustitución molar (MS)	Temperatura de formación del gel* (°C)	Estructura del gel*
MC	1,6 – 1,8	0	50 – 55	Firme
HPMC	1,6 – 1,8	0,1 – 0,2	58 – 64	Semi-firme
HPMC	1,65 – 1,9	0,2 – 0,3	62 – 68	Semi-firme
HPMC	1,1 – 1,4	0,1 – 0,3	70 – 90	Suave

*Solución acuosa al 2% a 20°C medido por The Dow Chemical Company según los métodos de referencia ASTM D1347 y ASTM D2363.

Como indica la tabla 1, para un mismo grado de metoxil sustitución, el aumento de la hidroxipropil sustitución produce un aumento en la temperatura de gelificación. Si se mantiene constante la hidroxipropil sustitución y el grado de metoxil sustitución disminuye, se produce un descenso en las interacciones hidrofóbicas que se traduce en un aumento de la temperatura de formación de gel.

Por otro lado, la temperatura de gelificación también depende de la concentración ya que a medida que ésta aumenta, se produce una disminución en la temperatura de gelificación.

Los éteres de celulosa tienen numerosas aplicaciones a nivel de la industria alimentaria, como por ejemplo en salsas y aliños de ensalada, helados, sopas, recubrimientos comestibles (Zúñiga et al., 2012), tempuras para rebozados (Sanz, 2003) y reducción del contenido de grasa en productos de bollería y horneados (Tarancón, 2013; The Dow Chemical Co., 2014).

6. Aplicación de la emulsión de éteres de celulosa como sustituta de grasa en galletas. Influencia del glicerol.

Así pues, en un contexto en el que el consumidor demanda productos con menos grasas, calorías y/o mejor perfil lipídico, una solución para el caso de las galletas sería sustituir la grasa por aceite sin necesidad de hidrogenarlo e incluso usar una cantidad inferior. Co y Marangoni (2012) propusieron dotar a los aceites vegetales con bajo nivel de saturación de consistencia sólida, atrapándolos en una red de gel de manera que adquirieran una consistencia similar a las de las grasas a temperatura ambiente. Todavía existen poco trabajos en los que se haya estudiado la aplicación de emulsiones u oleogeles como herramienta para sustituir la grasa saturada (Jiménez-Colmenero, 2013). De hecho, se pensaba que la etilcelulosa era el único polímero que permitía la gelificación de aceites vegetales en una emulsión (Co y Marangoni, 2012). Sin embargo, recientemente se ha puesto a punto una emulsión, de tipo aceite en agua,

formulada con otros derivados de la celulosa (metilcelulosa o hidroxipropilmetilcelulosa) con la que se ha conseguido sustituir el 100% de la grasa convencional de la receta tradicional de galletas de masa corta (Tarancón et al., 2013). En el estudio se evaluaron cuatro tipos de emulsiones compuestas por aceite de girasol, agua y diferentes éteres de celulosa (HPMC K, HPMC E, HPMC F y MC A) frente a un control con mantequilla. Dicha emulsión sustituta de grasa, la cual se pretende caracterizar en este trabajo, es una invención actualmente protegida por una patente (Sanz et al., 2013). La protección se refiere tanto a la emulsión, al proceso de obtención de la emulsión, a la masa para la obtención de un alimento que comprende dicha emulsión y al uso, de la emulsión y de la masa, en aplicaciones alimentarias.

Tarancón et al. (2013) evaluaron el efecto de la incorporación de la emulsión en las características de masa cruda de galletas, la galleta final horneada y la aceptación por parte de los consumidores. De la evaluación de la textura instrumental se dedujo que la adición de la emulsión a la masa altera significativamente las propiedades reológicas de ésta, haciéndola más suave, elástica y cohesiva, sin diferencias entre los cuatro tipos de éteres de celulosa (gracias a *los ensayos de corte con hilo y de doble compresión*). Respecto a las galletas horneadas, cuando contienen la emulsión son significativamente más grandes (en diámetro y espesor) y poseen un porcentaje de humedad mayor. No se observó variación significativa en la actividad de agua (aw) debido a que se añadió glicerol a la masa de las formulaciones con emulsión para controlar este parámetro y mantenerlo por debajo del límite permitido a partir del cual hay crecimiento de microorganismos y aparecen reacciones de oxidación enzimática. Tampoco aparecieron diferencias significativas entre la galleta control y las galletas con emulsiones en cuanto al análisis de la textura, valorándose tanto la fuerza necesaria para partir la galleta por la mitad (usando un *ensayo de quiebre de tres puntos*) como la fuerza necesaria para masticarla. Finalmente, el análisis sensorial mostró que la galleta control presentó puntuaciones ligeramente más altas para textura, sabor, dulzor y opinión general, pero no para aspecto ni color. Sin embargo, la puntuación media de todas las galletas con emulsión siempre fue superior a 5, indicando que las galletas eran aceptadas por el consumidor. Además, según otro trabajo de la misma línea de investigación, para un contenido de grasa del 15,6% la sustitución es posible sin que se vea afectada la aceptabilidad del producto (Tarancón et al., 2014).

Con todo, esta emulsión consigue imitar la textura de las grasas y su uso permite reemplazar por completo las grasas animales y vegetales, incluso cuando el producto se deba someter a un proceso de horneado como en el caso de la galleta. Pese a que la masa sea, inicialmente, significativamente más elástica, tras la cocción no hay grandes cambios, por lo que la emulsión a base de celulosa se puede considerar adecuada como sustituto de grasa con un perfil de ácidos grasos saludable, reduciendo además el contenido final en grasa de la galleta en un 33% (Tarancón et al., 2013). Sin embargo, este satisfactorio resultado ha sido obtenido en parte gracias a la adición de glicerol a la masa cuando se iba a sustituir la mantequilla por la emulsión. En efecto, el nivel de agua en las galletas cuando se preparan con emulsión es muy alto, pero en la medida en que la dureza de la galleta no aumenta significativamente se puede afirmar que la red de gluten no se ha desarrollado, y por ende, que el agua no se encuentra disponible para la hidratación de las proteínas (Tarancón et al., 2013).

El glicerol, también conocido como glicerina, es un poliol (1,2,3-propanetriol) de aspecto líquido, claro, incoloro, higroscópico y viscoso, que tiene un ligero olor característico no muy fuerte ni desagradable (Reglamento (UE) nº231/2012). Se encuentra presente de forma natural en la estructura de los triglicéridos, que son éteres de ácidos grasos de este alcohol, aunque se comporta como un carbohidrato cuando se metaboliza en el organismo y está libre de colesterol (The Dow Chemical Co., 1999). Los tres grupos hidroxilo del glicerol son responsables de su solubilidad en agua. En EE.UU., la Food and Drug Administration (FDA) lo ha clasificado como compuesto GRAS (generalmente reconocido como seguro, por sus siglas en inglés) (The Dow Chemical Co., 2008), mientras que en la Unión Europea, está autorizado como aditivo alimentario en la categoría de agentes de textura con el número E-422 (Reglamento (UE) nº 1130/2011). En el sector agroalimentario, la importancia del glicerol radica en su propiedad humectante, endulzante (tiene un poder edulcorante equivalente al 75% del de la sacarosa),

disolvente de aromatizantes y colorantes, agente reductor de la actividad de agua, emulsionante, agente suavizante y medio de transferencia de calor para productos congelados (The Dow Chemical Co., 1999). Tiene una densidad calórica similar a la sacarosa, pero un índice glucémico menor y una ruta metabólica en el organismo distinta, por lo que se puede llegar a aceptar el glicerol como endulzante en dietas bajas en hidratos de carbono.

Por tanto, es importante el estudio de las propiedades de los diferentes tipos de éteres de celulosa (HPMC y MC) para ver cual se ajusta mejor a los perfiles tecnológicos y sensoriales de la grasa, para elaborar galletas con menor contenido graso, además de observar la influencia del glicerol en los distintos tipos de masas y galletas.

OBJETIVOS

El principal objetivo del presente trabajo es evaluar la idoneidad de emulsiones elaboradas con distintos éteres de celulosa como sustitutos de grasa en galletas, observando la influencia que el glicerol ejerce sobre ellas.

Para cumplir este objetivo general se propusieron los siguientes objetivos parciales:

- Evaluar las propiedades calorimétricas de las masas preparadas con emulsiones elaboradas con éteres de celulosa como sustitutos de la grasa y comparar los resultados con la masa o galleta control correspondiente formulada con mantequilla.
- Evaluar la textura de las masas y de las galletas preparadas con emulsiones elaboradas con éteres de celulosa como sustitutos de la grasa y comparar los resultados con la masa o galleta control correspondiente formulada con mantequilla.
- Observar los cambios microscópicos de las masas y de las galletas elaboradas con los éteres de celulosa respecto a su correspondiente masa o galleta control elaborada con mantequilla.
- Estudiar la aceptabilidad de las galletas elaboradas con los éteres de celulosa respecto a su correspondiente masa o galleta control elaborada con mantequilla con un panel de consumidores.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Preparación de la emulsión

Se comenzó con la preparación de la emulsión sustituta de la grasa, para ello se mezcló aceite vegetal (girasol), agua y un éter de celulosa. Se utilizaron tres tipos de éteres de celulosa con diferente capacidad de termogelificación: una hidroxipropilmetilcelulosa (F4M), una metilcelulosa (A4M) y una metilcelulosa de alto grado de metoxilación (MX). En la tabla 2 se muestran las composiciones centesimales de las emulsiones.

Tabla 2. Formulación centesimal de las emulsiones

Aceite (%)	47
Agua (%)	51
Éter de celulosa (%)	2

En la tabla 3 se presentan los niveles de sustitución metoxil e hidroxipropil para cada tipo de éter de celulosa. La viscosidad de los éteres de celulosa A4M (metilcelulosa) y F4M (hidroxipropilmetilcelulosa) es de 4.000 mPa.s-1 (en solución acuosa al 2% a 20°C medido por The Dow Chemical Company siguiendo los métodos de referencia ASTM D1347 y ASTM D2363), mientras que la viscosidad del éter de celulosa MX (metilcelulosa “supergelificante”) es muy superior, 50.000 mPa.s-1. El porcentaje de sustitución de grupos metoxil e hidroxipropil de la celulosa MX se desconoce, ya que al tratarse de un producto de desarrollo reciente la empresa comercializadora únicamente proporciona su peso molecular e informa de que posee un nivel de metoxil sustitución superior a la celulosa A4M.

Tabla 3. Grado de metil e hidroxipropilsustitución en los éteres de celulosa utilizados.

Nombre comercial	Tipo celulosa	% metoxilo	% hidroxipropilo
A4M	Metilcelulosa	30,0	0,0
F4M	Hidroxipropilmetilcelulosa	29,0	6,8
MX	Metilcelulosa “supergelificante”	-	-

El aceite vegetal utilizado es un aceite refinado de girasol con alto contenido en ácido oleico (65%) (Carrefour, Madrid, España). El glicerol utilizado lo suministró la empresa Vedeqsa S.A. (Terrasa, España). El equipo instrumental utilizado consiste en un agitador (Heidolph RZR 1, Schwabach, Alemania) y un homogenizador (Ultra Turrax, IKA, T18-ba ic, Staufen, Alemania).

La preparación de la emulsión se ha realizado según el protocolo desarrollado en el laboratorio del IATA-CSIC. El proceso general se muestra esquematizado en la figura 4. El éter de celulosa se dispersó en el aceite con la agitación más suave posible, a continuación se añade agua muy fría (10°C) y se procede finalmente a realizar la emulsión con un homogenizador Ultra Turrax.

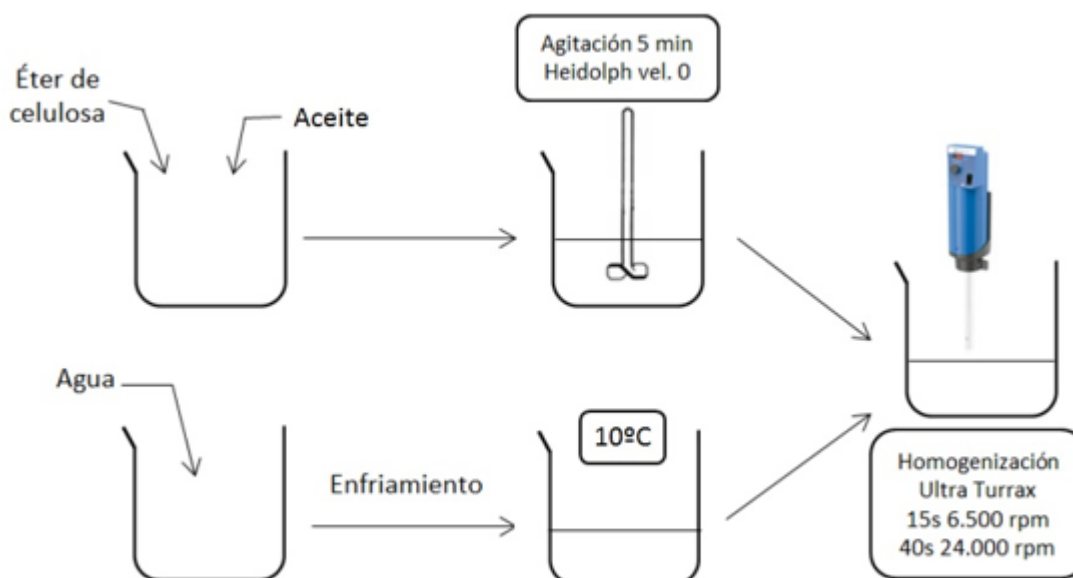


Figura 4. Proceso de elaboración de la emulsión.

2. Elaboración de la galleta

Los ingredientes utilizados para la elaboración de las diferentes formulaciones de galletas se muestran en la tabla 4. La grasa utilizada para la elaboración de las galletas control fue mantequilla (Crema Saint Auvent, Diexpa, Valencia), mientras que para las muestras restantes se utilizó la emulsión elaborada con los distintos éteres de celulosa como sustituto de la grasa. Además, se evaluó la presencia de glicerol (E-422, Panreac) con el objetivo de controlar la actividad de agua (0% y 3%). El resto de ingredientes utilizados es común en todas las formulaciones.

Tabla 4. Formulación de las galletas

INGREDIENTES	CANTIDAD (g)		
	Control	F4M, A4M, MX (sin glicerol)	F4M, A4M, MX (con glicerol)
Harina	500	500	500
Mantequilla	175	-	-
Emulsión	-	175	175
Azúcar	125	125	125
Leche en polvo	9	9	9
Sal	5	5	5
Bicarbonato de sodio	2	2	2
Bicarbonato amónico	1	1	1
Agua	45	45	45
Glicerol	-	-	15

La preparación de la masa se realizó en una amasadora modelo Kenwood Major Classic (Kenwood Ltd., Reino unido) y se llevó a cabo en dos etapas. En la primera etapa se amasaron todos los ingredientes, a excepción de la harina, a velocidad mínima durante 30 segundos y, a continuación, a velocidad 3 durante 3 minutos. En la segunda etapa se añadió la harina a la mezcla y se amasó a velocidad máxima durante 1 minuto. Una vez realizada la masa, ésta se

laminó utilizando una laminadora (Parber, Vizcaya, España) (figura 5) con el objetivo de obtener siempre masas homogéneas y con el mismo espesor (3,4 mm) en todas las muestras.



Figura 5. Laminadora

Con la masa laminada se dio forma a las galletas con un molde de 50 mm de diámetro y se dispusieron las galletas en una bandeja de horno perforada. A continuación, se colocó la bandeja en la posición intermedia de un horno doméstico convencional (De Dietrich) y se procedió al horneado de las galletas a 200 °C durante 15 minutos (12 minutos para las control) 6/7,5 minutos de un lado y 6/7,5 minutos del otro lado para asegurar un horneado homogéneo. Tras el horneado, las galletas se dejaron enfriar hasta llegar a temperatura ambiente y se envasaron en bolsas de polipropileno metalizado termoselladas (Sealboy 320, Audion Elektro) y se almacenaron a 20°C. Todos los análisis se realizaron a las 24 horas de la elaboración de las galletas, excepto la microscopía.

3. Textura

Con el fin de estudiar los diferentes parámetros que caracterizan a cada una de las masas y las galletas se realizaron diferentes ensayos de textura. Para ello se utilizó un texturómetro TA.XT.plus (Stable Microsystems, Godalming, UK) asociado al software Texture exponent (versión 2.0.7.0).

3.1. Textura de la masa

Para estos ensayos la masa se cortó en cilindros de 50 mm de diámetro y un espesor de 3.4 cm. Se realizaron 6 repeticiones de cada muestra.

3.1.1. Ensayo de Análisis de Perfil de Textura (TPA)

Este análisis consiste en una doble compresión del 30% de la altura de la muestra con una sonda cilíndrica plana de 75mm de diámetro (P/75) a la velocidad de 1mm/s y con un tiempo de espera entre ambos ciclos de 5s. Los parámetros que se obtuvieron a partir de los perfiles de las curvas fueron: dureza (el pico de fuerza máxima durante el primer ciclo de compresión), elasticidad (la altura que se recupera durante el tiempo de espera entre el final del primer ciclo y el comienzo del segundo) y la cohesividad (la relación entre la segunda área positiva y la primera), como parámetros primarios de textura; y la masticabilidad (dureza x elasticidad x cohesividad) como parámetro secundario de textura.



Figura 6. Ensayo de Análisis de Perfil de Textura TPA

3.1.2. Ensayo de penetración

Este ensayo representa el efecto de la primera mordida que se produce en la galleta con los dientes incisivos y se registra la fuerza necesaria para atravesar la muestra. La sonda utilizada fue la *Volodkevich Bite Jaw* (VB) y se penetró la masa una distancia de 2.5 mm sobre el centro de la misma a una velocidad de 1mm/s. Se registró la máxima fuerza (N) de penetración y la distancia a la que se produce dicha fuerza (mm).

3.2. Textura de la galleta

Las galletas tenían un espesor de 3,4 mm y un diámetro de 50mm aproximadamente . Se realizaron 10 repeticiones de cada muestra.

3.2.1. Ensayo de penetración

Este ensayo representa el efecto de la primera mordida que se produce en la galleta con los dientes incisivos y se registra la fuerza necesaria para atravesar la muestra. Al igual que en el caso de la masa, la sonda utilizada fue la *Volodkevich Bite Jaw* (VB) y la galleta se penetró una distancia de 2.5 mm sobre el centro de la galleta a una velocidad de 1mm/s. Se registró la máxima fuerza (N) de penetración y la distancia a la que se produce dicha fuerza (mm).

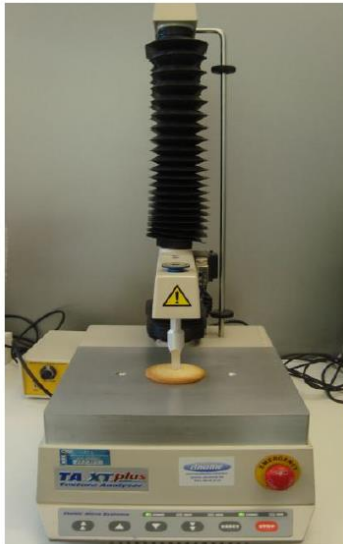


Figura 7. Ensayo de penetración

4. Propiedades calorimétricas

Para la medida de las propiedades calorimétricas se utilizan técnicas de calorimetría diferencial de barrido (DSC) donde la muestra y una referencia se calientan de forma independiente midiéndose la diferencia en el flujo de calor para mantener una temperatura igual en ambas muestras. Estas medidas se realizaron con un calorímetro diferencial de barrido Q-2000 (T.A. Instruments) (Figura xx) equipado con un sistema de enfriamiento (RCS90). Antes de la medida de las muestras, el equipo se calibró con indio ($T_{\text{onset}}=155.74^{\circ}\text{C}$ and $\Delta H=28.69$ J/g). Se usaron cápsulas de alto volumen y se pusieron entre 40-50 mg de la masa de galleta. Las muestras se calentaron de 10°C a 130°C a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y como gas de purga se utilizó nitrógeno seco con un flujo de $50\text{ml}/\text{min}$. Se utilizó una cápsula vacía como referencia.



Figura 8. DSC Q 2000.

5. Microscopia

5.1. Microscopía Láser Confocal de Barrido (CLSM)

Las observaciones por Microscopía láser confocal de barrido (CLSM) de las diferentes muestras de masas y emulsiones se realizaron mediante un microscopio láser confocal Nikon C1 acoplado a un microscopio óptico Nikon Eclipse E800 V-PS100E (Nikon, Tokio, Japón) (Figuras 9 y 10).

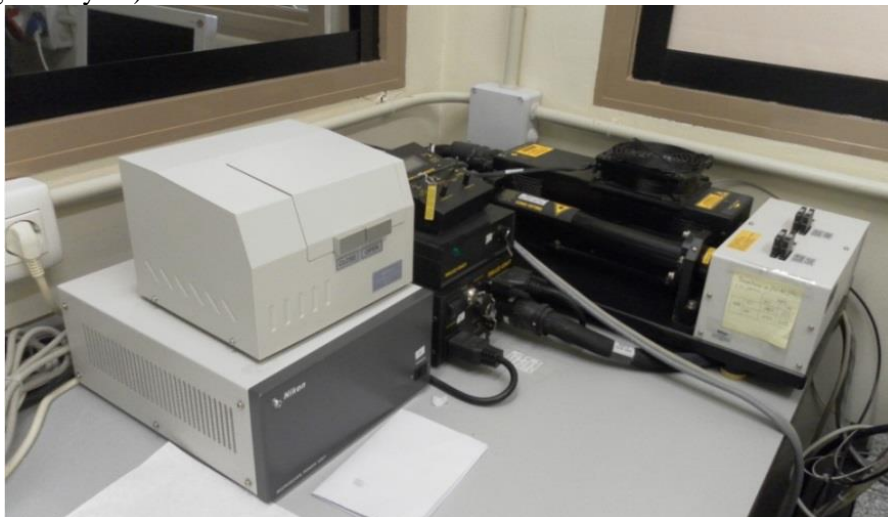


Figura 9. Microscopio láser confocal Nikon C1.

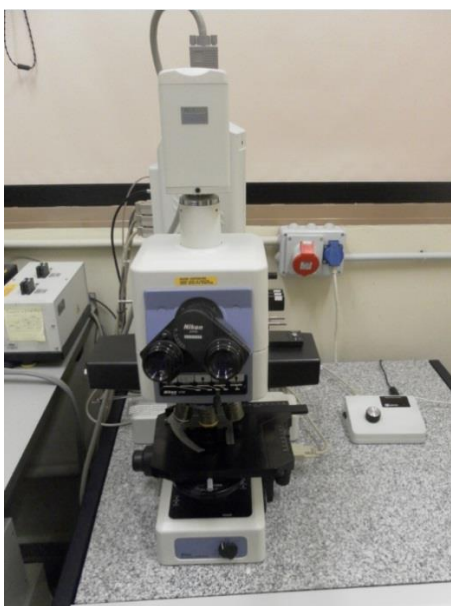


Figura 10. Microscopio óptico Nikon Eclipse E800 V-PS100E.

El láser empleado era de argón, con una longitud de onda de excitación máxima ($\lambda_{\text{ex máx}}$) a 488 nm. Para visualizar las muestras se utilizaron objetivos 40x y 60x, este último con aceite de inmersión, y se obtuvieron imágenes con una resolución de 1024x1024 píxeles. Las tinciones empleadas fueron Nile Red (0.1 g/L en PEG 200) y Rodamina B (0.2 g/L en agua). El Nile Red tiene una longitud de onda de excitación máxima ($\lambda_{\text{ex máx}}$) de 488 nm y una longitud de onda de emisión máxima ($\lambda_{\text{em máx}}$) de 515/30 nm y se utiliza como agente de tinción para grasa. La Rodamina B tiene una $\lambda_{\text{ex máx}}$ 488 nm y una $\lambda_{\text{em máx}}$ de 580 nm. Este fluorocromo se utiliza para

teñir proteínas y carbohidratos. En primer lugar se aplican 10 μL de Nile Red sobre la muestra, se agita para asegurar la tinción de toda la muestra y se deja reposar durante 10 min. En segundo lugar se realiza el mismo procedimiento con la Rodamina B.

Se observó una pequeña cantidad de muestra de cada uno de los tipos de muestra elaborados sobre un portaobjetos, combinando los dos tipos de tinciones.

5.2. Microscopía Electrónica de Barrido a Baja Temperatura (Cryo-SEM)

Las muestras se sumergieron en N_2 nieve a temperatura ≤ -210 °C, y se transfirieron a un Cryo-Trans System CT 1500 C acoplado a un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 5410 que trabaja en condiciones de vacío (7×10^{-4} Pa) a una temperatura de -130 °C (Figura 11).

En el Cryo-Trans la muestra se fracturó a -180 °C con la ayuda de un pequeño punzón, tras lo cual, la muestra se introdujo en la cámara del microscopio para ser sublimada a -85 °C, con el fin de eliminar el posible exceso de escarcha superficial.

El último paso a seguir antes de la observación de la muestra en el microscopio fue una metalización de la misma con oro (0,2 kPa, 30 s), proceso que se produce en el mismo Cryo-Trans. La observación de la muestra se realizó a 15 kV y 15 mm de distancia de trabajo.



Figura 11. Microscopio Electrónico de Barrido a Baja Temperatura JEOL JSM 5410.

6. Análisis Sensorial

Se realizó un análisis sensorial hedónico con consumidores donde se determinó la aceptabilidad de las galletas elaboradas. En este estudio participaron 83 personas (56 mujeres y 27 hombres) que tenían que puntuar la aceptabilidad de las galletas en una escala hedónica de nueve puntos que van desde 1 (no me gusta nada) a 9 (me gusta mucho) evaluando los atributos de olor, color, dureza, carácter crujiente, sabor, dulzor y agrado general.

La evaluación sensorial se llevó a cabo en una sala de catas estandarizada con cabinas individuales (ISO, 2007) y las muestras galletas fueron servidas en platos de plástico blanco con un código de tres dígitos de manera aleatoria siguiendo el diseño de Williams. La adquisición de los datos se realizó con el programa Compusense five release 5.0 (Compusense Inc., Guelph, ON, Canada).

7. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa XLStat 2009 y se realizó un análisis de la varianza de un factor, tanto en los parámetros instrumentales como sensoriales, para evaluar los cambios que se producen cuando se utilizan las distintas celulosas o la presencia de glicerol.

Para determinar las diferencias entre las muestras se utilizó el test de Tukey a un nivel de significación del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Masa

1.1. Textura

1.1.1. Ensayo de Penetración

Las figuras 12 y 13 muestran el perfil de las curvas de textura obtenidos con este ensayo. La figura 12 representa el perfil de textura de todas las masas con glicerol comparadas con las masas control, mientras que en la figura 13 se pueden observar las masas sin glicerol frente a la masa control. El valor de fuerza máxima coincide con la fuerza necesaria para producir la rotura de la galleta en la primera mordedura.

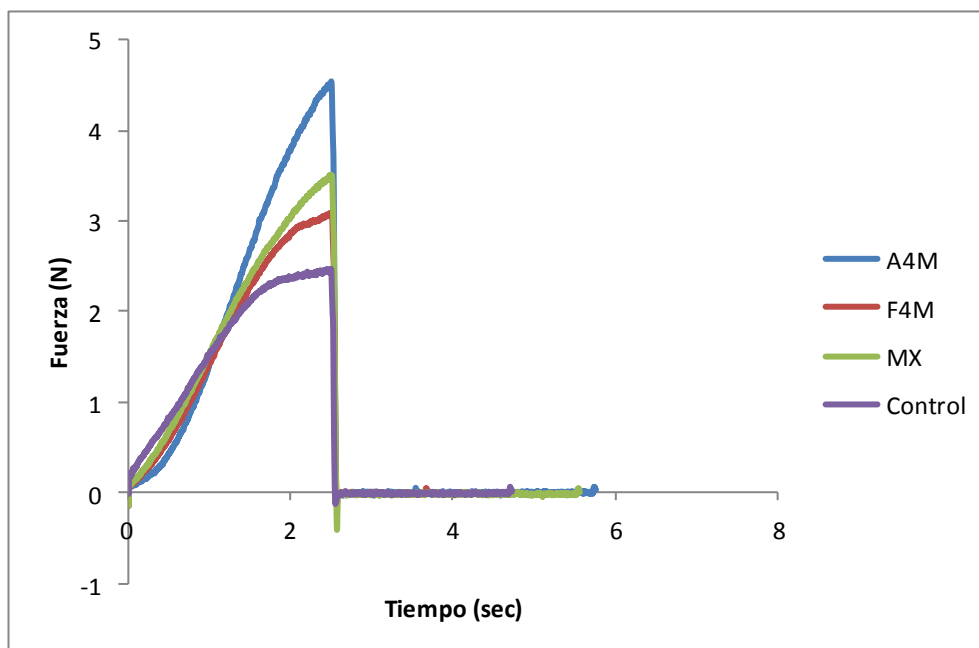


Figura 12. Curvas de textura de las masas elaboradas con celulosas y glicerol frente a la masa control obtenidas por el ensayo de penetración.

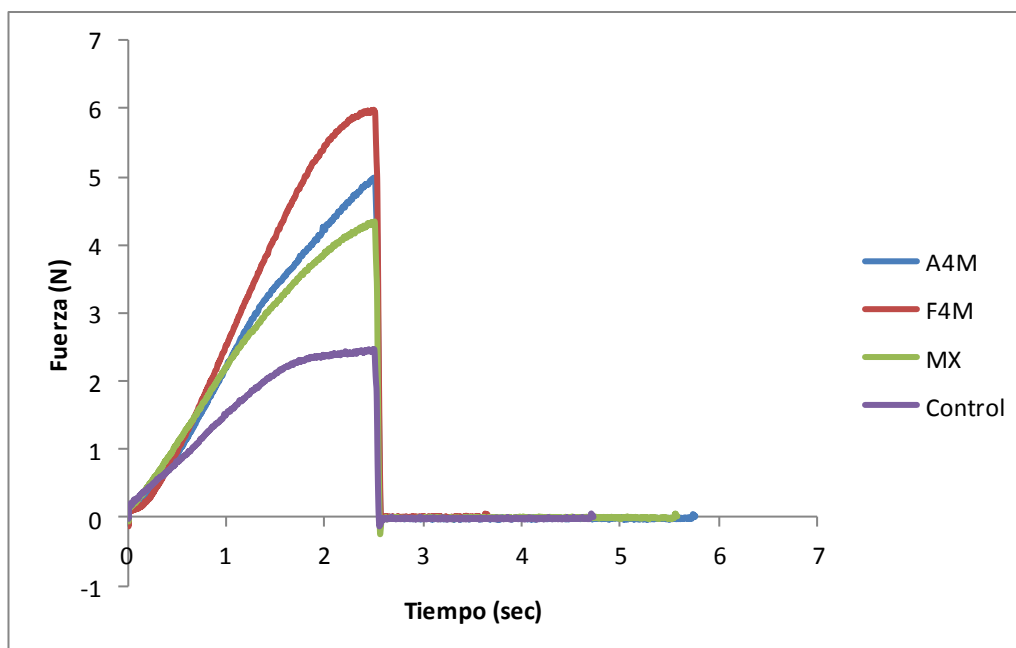


Figura 13. Curvas de textura de las masas elaboradas con celulosas sin glicerol frente a la masa control obtenidas por el ensayo de penetración.

Tal y como se observa en las figuras 12 y 13, el valor de fuerza máxima disminuye al incluir glicerol en la formulación de las masas, lo que hace que obtengamos unas masas más manejables que las que no tienen glicerol en su formulación. Esto también se puede apreciar en la tabla 5, donde observamos que en los valores de fuerza máxima se encuentran diferencias significativas entre las masas con y sin glicerol (excepto en el caso de la celulosa MX), siendo menos duras y más manejables las masas con glicerol. Respecto a las galletas control, todas las formulaciones poseen diferencias significativas con el control, aunque las masas elaboradas con glicerol se aproximan más a ella, especialmente la F4M y MX. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre las distintas formulaciones de masa en el tiempo/distancia a la que se produce la rotura.

Tabla 5. . Fuerza máxima y tiempo que se tarda en provocar la rotura de la masa en el primer mordisco calculados en el ensayo de penetración.

	Fuerza (Newtons)		Tiempo (segundos)	
	Con glicerol	Sin glicerol	Con glicerol	Sin glicerol
A4M	4,382c (0,276)	5b (0,219)	2,45a (0,076)	2,465a (0,037)
F4M	3,102d (0,064)	5,948a (0,105)	2,461a (0,061)	2,493a (0,006)
MX	4,382c (0,215)	4,34c (0,011)	2,491a (0,011)	2,491a (0,013)
CONTROL		2,459e (0,092)		2,487a (0,014)

Valores entre paréntesis indican las desviaciones estándar.

abc...letras diferentes para cada parámetro indican diferencias significativas según el test de Tukey ($p < 0,05$).

1.1.2. Ensayo de Análisis de la Textura (TPA)

Las figuras 14 y 15 muestran los valores de fuerza obtenidos en función del tiempo de las distintas masas en el ensayo de doble compresión para las masas elaboradas con las emulsiones de los distintos éteres de celulosa con y sin glicerol respecto a los valores de la masa control.

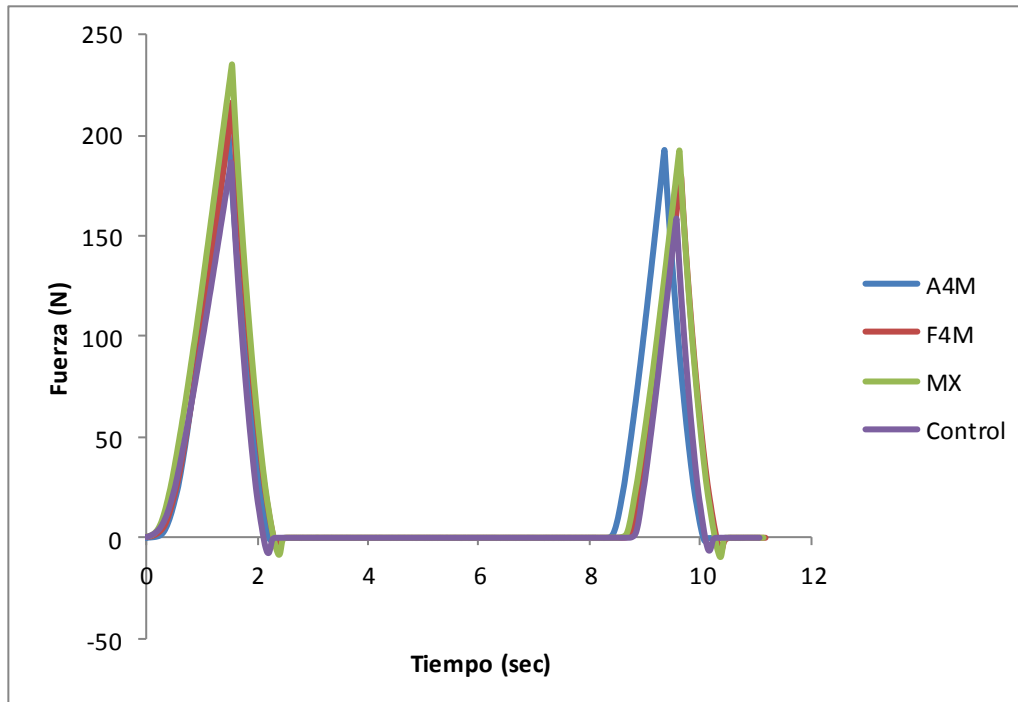


Figura 14. Perfil de textura en el ensayo de doble compresión (TPA) de las diferentes masas de galleta elaboradas con glicerol respecto a la masa control.

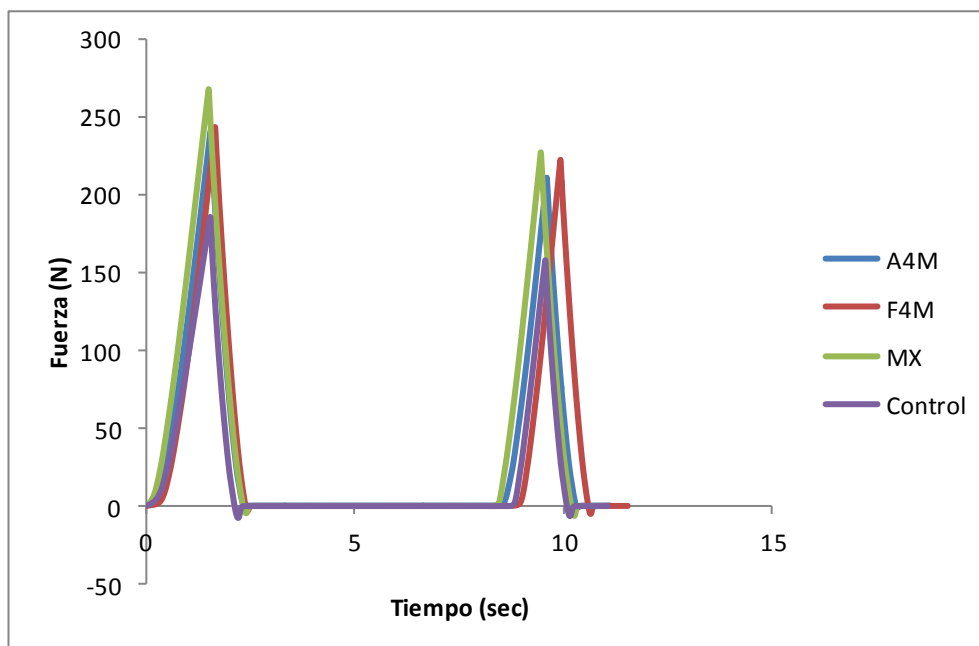


Figura 15. Perfil de textura en el ensayo de doble compresión (TPA) de las diferentes masas de galleta elaboradas sin glicerol respecto a la masa control.

En estos casos, no se observaron diferencias en los perfiles entre las masas elaboradas con las emulsiones de celulosas y la masa control. Para poder observar si hay diferencias significativas entre los distintos tipos de masa, se calcularon los parámetros de dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad para cada una de las masas. (Tabla 6)

Tabla 6. Valores de dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad de las masas de galleta obtenidos por ensayo de análisis de la textura (TPA).

	Dureza (Newtons)		Elasticidad		Cohesividad		Masticabilidad	
	Con glicerol	Sin glicerol	Con glicerol	Sin glicerol	Con glicerol	Sin glicerol	Con glicerol	Sin glicerol
A4M	202,98bc (18,759)	235,421ab (10,163)	0,731b (0,028)	0,784ab (0,061)	0,741a (0,033)	0,739ab (0,016)	110,131bc (14.233)	136,491ab (14.932)
F4M	211,371bc (16,847)	259,784a (36,152)	0,688bc (0,067)	0,729b (0,073)	0,691bc (0,03)	0,733ab (0,025)	101,028c (17.417)	139,928ab (31.377)
MX	229,678ab (11,249)	254,961a (15,305)	0,743b (0,032)	0,854a (0,08)	0,665c (0,022)	0,71ab (0,025)	113,651bc (9.553)	154,675a (18.312)
CONTROL		186,307c (17,114)		0,584c (0,068)		0,589d (0,024)		64852d (15.207)

Valores entre paréntesis indican las desviaciones estándar.

abc...letras diferentes para cada parámetro indican diferencias significativas según el test de Tukey ($p < 0,05$).

Como se puede observar, prácticamente no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros de textura con respecto a la presencia de glicerol ni entre las celulosas estudiadas. Sin embargo, comparando las masas sin glicerol con la masa control se encontraron mayores valores de dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad en las masas con celulosas.

1.2. Propiedades calorimétricas

La calorimetría diferencial de barrido ha sido utilizada como técnica para la caracterización de los cambios térmicos asociados al almidón, los cuales poseen un gran impacto en la textura de los alimentos que lo contienen. Aunque el almidón de las galletas está prácticamente todo gelatinizado con este estudio se pretenden ver si hay cambios en la temperatura de gelatinización de las masas estudiadas sobre todo debido a que las masas elaboradas con las emulsiones de celulosa tienen una mayor cantidad de agua que la masa control.

En primer lugar se presentan las curvas calorimétricas de cada una de las masas sin y con la presencia de glicerol en la formulación para ver si afecta a la gelatinización del almidón (figuras 16, 17 y 18).

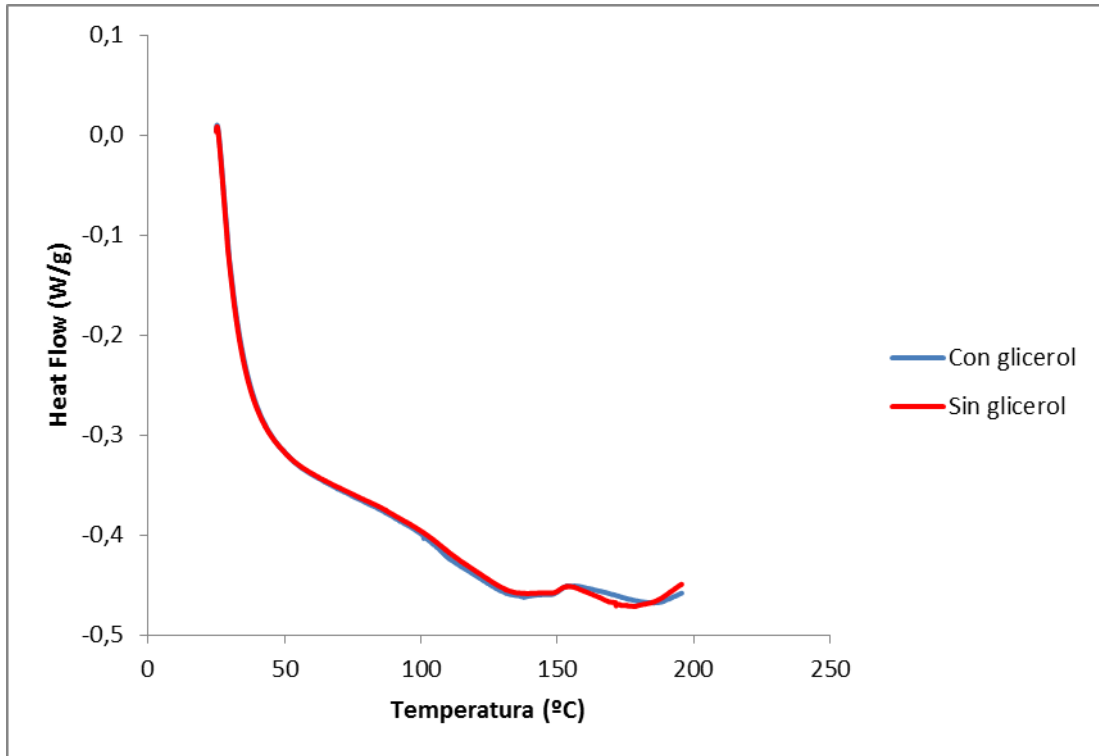


Figura 16. Curvas del DSC de la masa elaborada con la celulosa A4M.

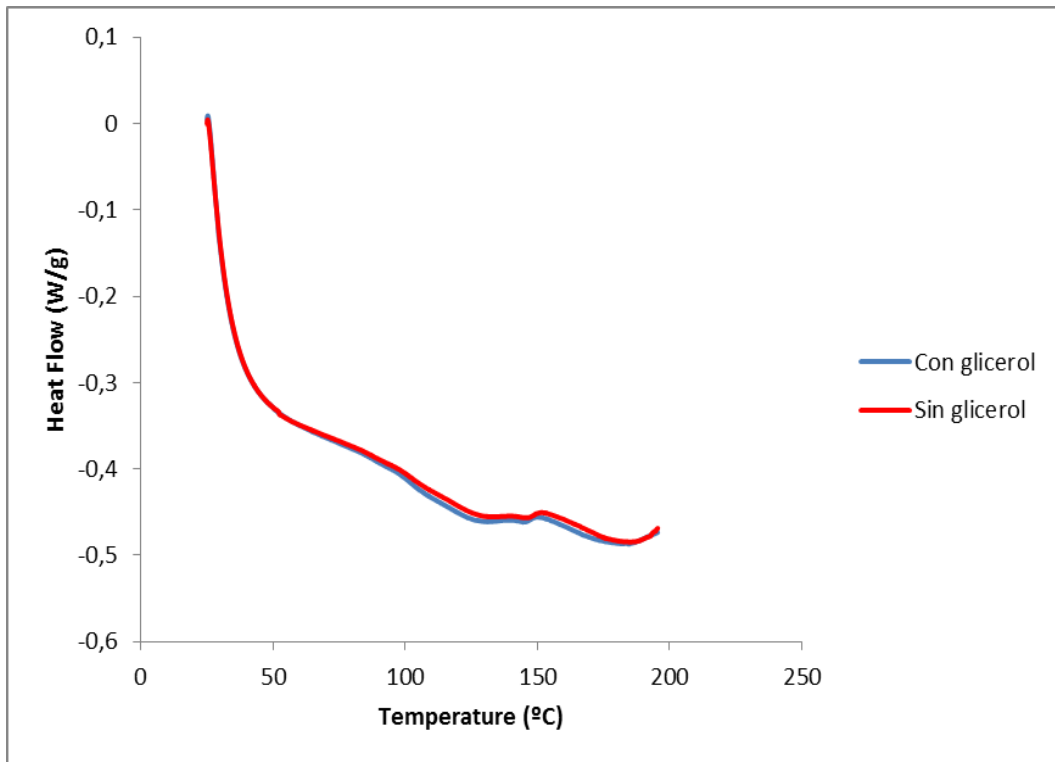


Figura 17. Curvas del DSC de la masa elaborada con la celulosa F4M.

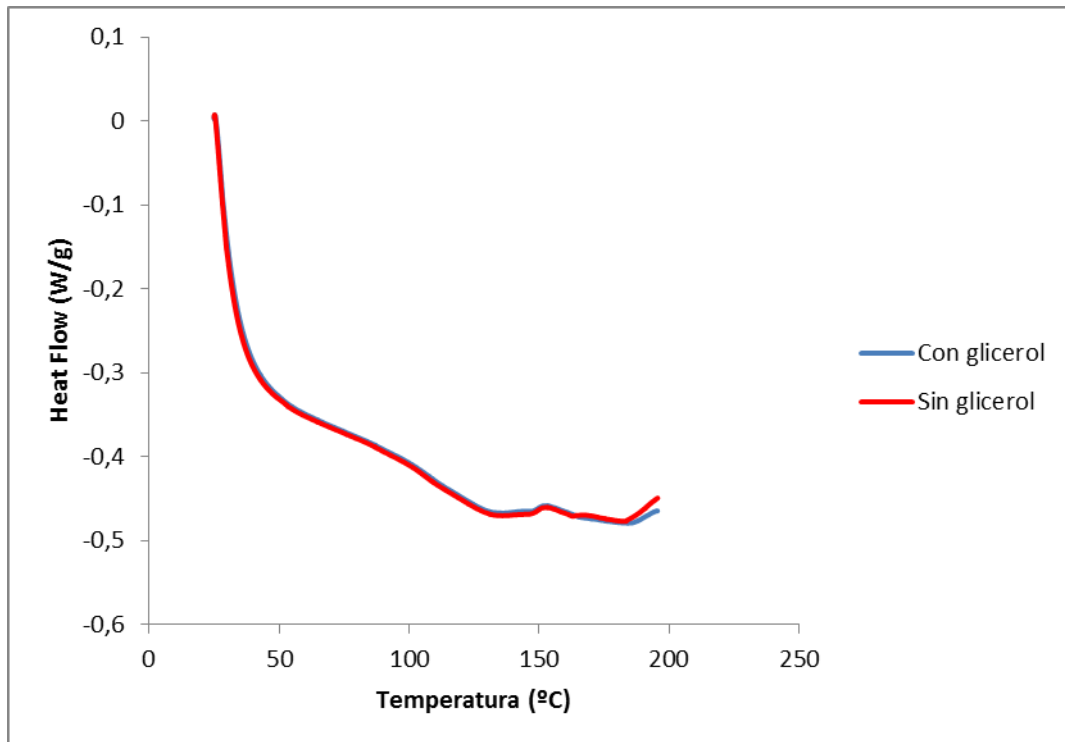


Figura 18. Curvas del DSC de la masa elaborada con la celulosa MX.

Se puede observar como prácticamente el perfil de las curvas calorimétricas obtenidas con y sin la presencia de glicerol es prácticamente igual con lo que el glicerol no afecta a la gelatinización del almidón. Esto puede deberse a que el agua que lleva la emulsión no está libre y disponible para el almidón presente en la harina sino que está retenida por el gel de celulosa.

Por otro lado, para ver si se aprecian cambios con la masa control se representan en la figura 19 las curvas calorimétricas de esta muestra y de las masas elaboradas con las emulsiones de celulosas sin glicerol.

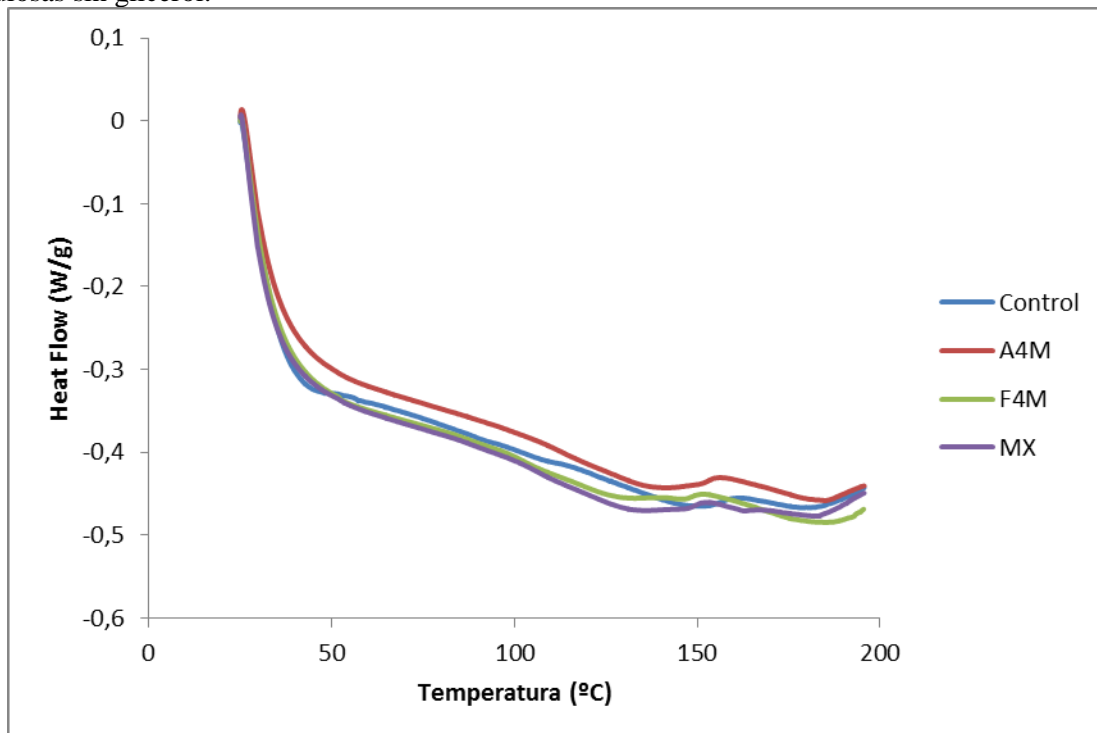


Figura 19. Curvas del DSC de todas las masas elaboradas.

Observando los perfiles de las curvas no se aprecian diferencias entre la muestra control y las muestras elaboradas con las emulsiones de celulosa.

1.3. Microscopía

1.3.1. Microscopía Láser Confocal de Barrido (CLSM)

La figura 20 muestra las micrografías de las emulsiones F4M, A4M y MX con los glóbulos grasos teñidos en verde y la fase continua (éter de celulosa y agua) en rojo.

La microestructura muestra una densa matriz de glóbulos grasos estables que corresponde a la fase dispersa, inmersos en una fase continua constituida por celulosa hidratada con agua. Se trata por lo tanto de una emulsión de tipo aceite en agua, como lo sería también la nata o la mayonesa. Esta emulsión cumple la regla de Bancroft, que afirma que la fase continua es aquella que solubiliza al agente emulsionante (Aranberri et al., 2006) independientemente de los porcentajes relativos de aceite o agua en la formulación de la emulsión. En este caso, el agente emulsionante es el éter de celulosa, que es solubilizado en agua fría, aunque previamente se haya dispersado en aceite. Las largas cadenas de polímeros, de metilcelulosa o de hidroxipropilmetilcelulosa, forman una red tridimensional en la fase continua (acuosa) que inmoviliza los globulos de aceite de la fase dispersa. Al impedir el movimiento de las partículas grasas, es poco probable que dos gotas se acerquen y se agreguen o fusionen (Aranberri et al., 2006), evitando mecanismos de descomposición de las emulsiones como la floculación o la coalescencia (Piorkowski y McClements, 2013). De este modo, las gotas dispersas quedan obligatoriamente suspendidas en el medio (Aranberri et al., 2006).

En la figura 20 se puede observar como las emulsiones tienen glóbulos grasos de distinto tamaño, siendo la emulsión MX la que mayor tamaño de gota de grasa posee. Las emulsiones F4M y A4M son más similares entre sí, aunque la emulsión F4M tiene los glóbulos de grasa mucho más definidos, ya que en las emulsiones A4M y MX estos son mucho más irregulares.

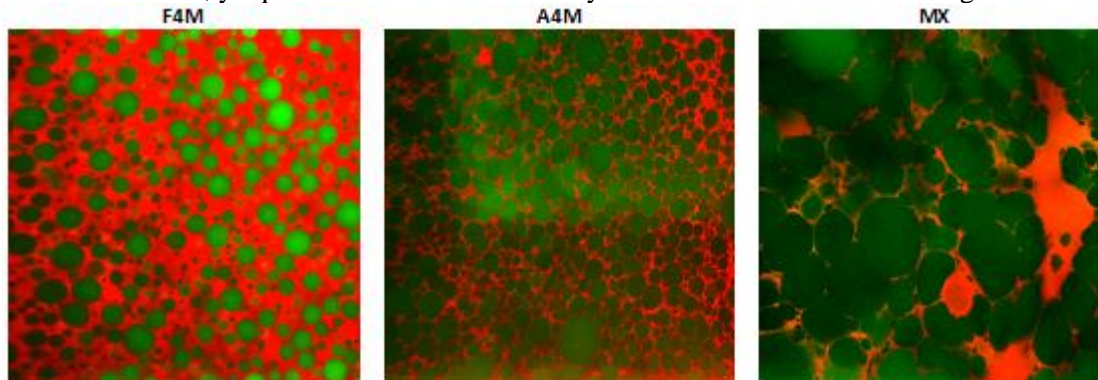


Figura 20. Microscopía confocal laser de barrido (CLSM). Imagen de las emulsiones F4M, A4M y MX. Magnificación (60x).

Con esta técnica, además, se puede conocer la distribución de los ingredientes en la estructura de la masa de las galletas. Al tratar la muestra con los agentes de tinción Rhodamine y Nile Red, se observan las proteínas y los hidratos de carbono en rojo, la grasa en verde y el almidón en negro (Figura 21). En las micrografías de las masas control se observa una matriz continua teñida en rojo- naranja y formada principalmente por gluten, proteína de la leche y carbohidratos; los gránulos de almidón, en negro, se encuentran dispersos en esta matriz. La grasa, en verde, se distribuye de forma reticular alrededor de los gránulos de almidón y formando bloques independientes mayoritariamente. Esta estructura es semejante a la descrita previamente por Chevallier et al (2000).

Como se observa en la figura 21, en las masas F4M (formuladas con HPMC), la emulsión, que se observa como pequeños glóbulos verdes o negros dispersos en la matriz, está más homogéneamente distribuida que en las masas elaboradas con las metilcelulosas. En estas últimas, la emulsión se observa como unas manchas negras distribuidas irregularmente en la

masa. Si se comparan las dos masas elaboradas con metilcelulosas, en las formuladas con la emulsión MX la grasa se observa más libre (se aprecian más globulos de grasa libre teñidos en verde) mientras que en las A4M está más emulsionada. Esto tiene una alta relación con los resultados de textura obtenidos, en los que las masas elaboradas con la emulsión MX eran más blandas que las elaboradas con las otras emulsiones, lo que puede deberse a la propiedad texturizante de la grasa, es decir, al encontrarse la grasa más libre, ésta tiene más posibilidades de actuar como lubricante y rodear los gránulos de almidón impidiendo que el gluten se desarrolle y forme una red cohesiva y extensible, provocando una textura más blanda. En general, no se aprecian diferencias entre las masas elaboradas con y sin glicerol.

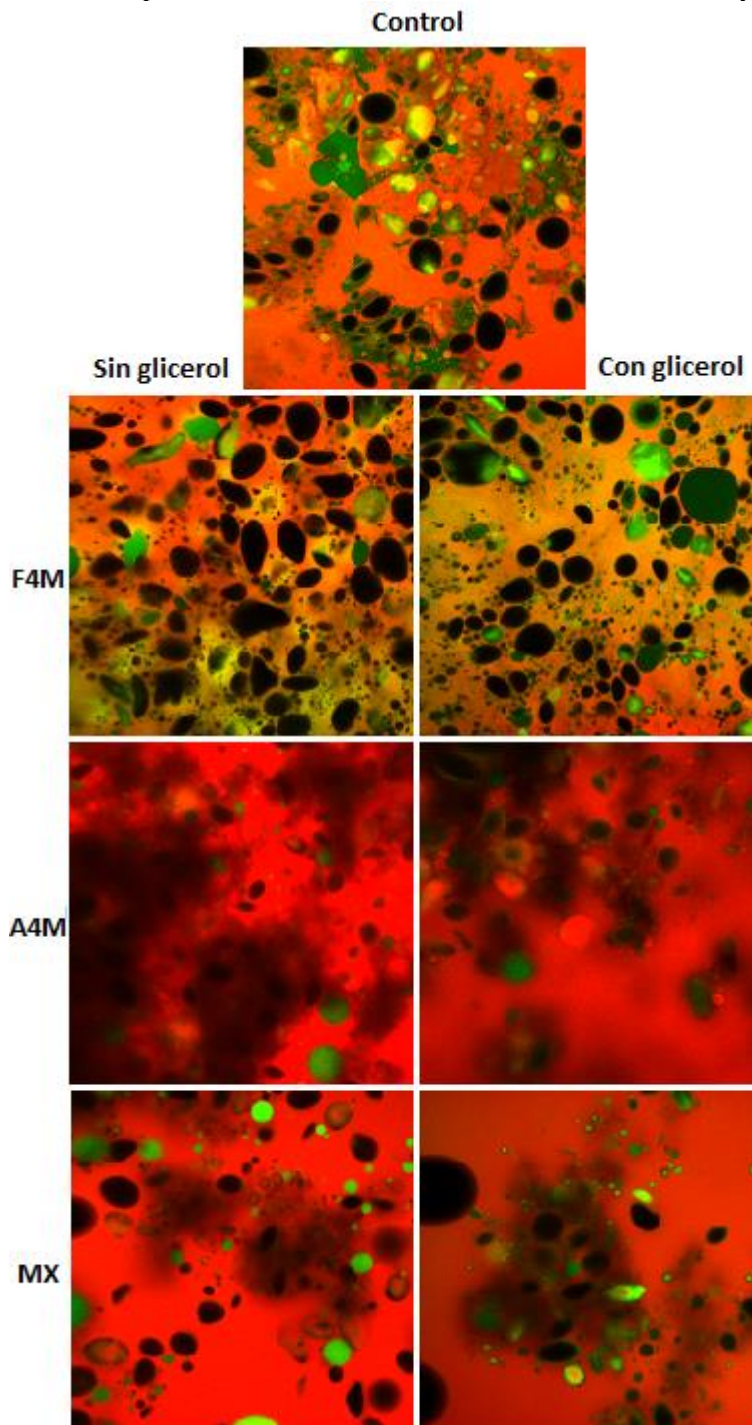


Figura 21. Microscopía confocal laser de barrido (CLSM). Imagen de las masas control y las elaboradas con las emulsiones F4M, A4M y MX, con y sin glicerol. Magnificación (60x).

1.3.2. Microscopía Electrónica de Barrido a Baja Temperatura (Cryo-SEM)

La Figura 22 muestra las imágenes de la microestructura de la zona interior de la masa de galleta obtenidas por Cryo-SEM. En la masa control podemos observar cómo los gránulos de almidón se encuentran embebidos dentro de un sistema proteico-azucarado.

Por lo que respecta a las masas elaboradas con las distintas celulosas, se puede observar cómo la presencia de glicerol hace que la masa tenga una matriz mucho más unida y uniforme; esto se aprecia mayormente en las masas elaboradas con las emulsiones F4M y A4M, siendo la masa MX en la que menos se aprecia esta diferencia. También se puede observar cómo en la masa elaborada con la emulsión MX la grasa está mucho más combinada con los gránulos de almidón y lubricando la masa que en las otras muestras, en las que la grasa se encuentra emulsionada, lo que afecta a su textura obteniendo una masa más blanda como ya se ha explicado anteriormente. Las masas F4M y A4M son más similares, teniendo ambas los gránulos de almidón embebidos en la red proteico-azucarada. Estos resultados concuerdan con observaciones microscópicas de otros autores, tal y como explicaron Baltsavias et al. (1999) en su trabajo, la estructura de la masa corta de galletas consiste en una mezcla de proteínas y almidones, y la grasa actúa como relleno cuando está en bajas concentraciones.

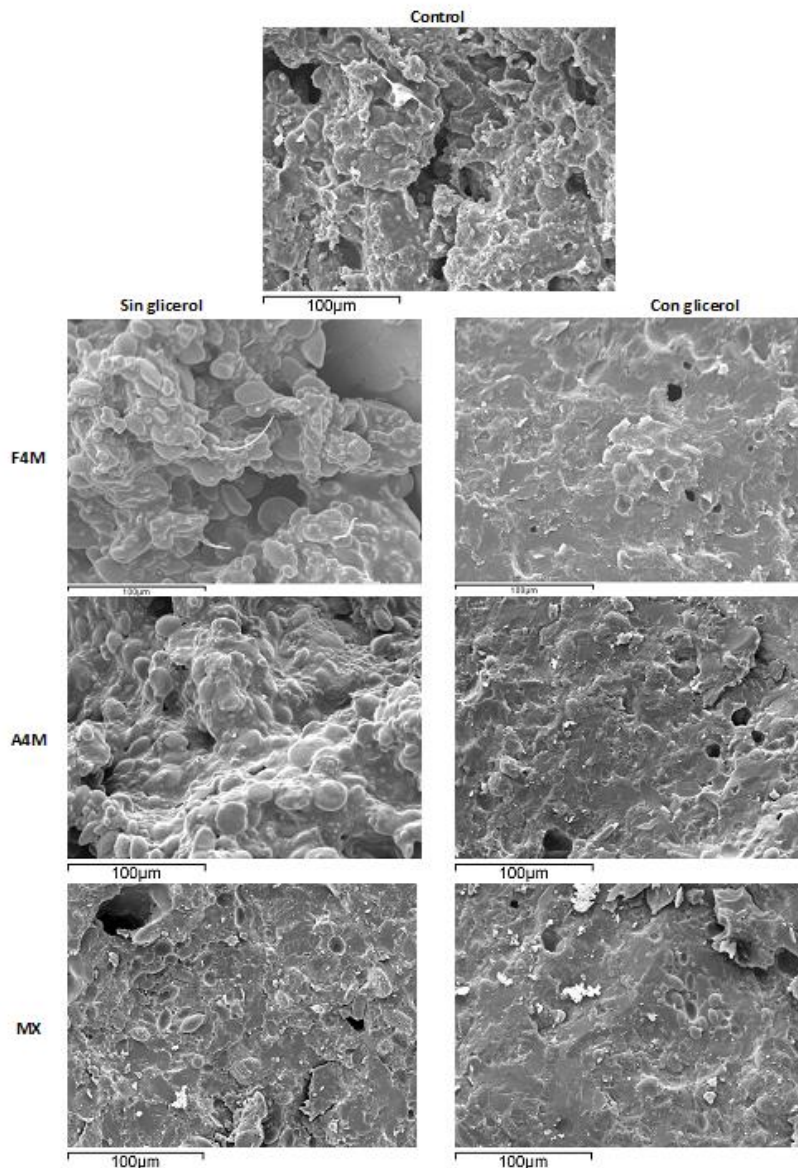


Figura 22. Microscopía Electrónica de Barrido a Baja Temperatura (Cryo-SEM). Imagen de las masas control y las elaboradas con las emulsiones F4M, A4M y MX, con y sin glicerol. Magnificación (500x).

2. Galleta

2.1. Textura

En las figuras 23 y 24 se muestran los valores medios de la fuerza máxima de penetración obtenidos, que se corresponden, con la fuerza necesaria empleada en el primer bocado de la galleta. En la figura A, se pueden observar todas las muestras de galletas elaboradas con las distintas emulsiones y glicerol junto a la galleta control; mientras que en la figura B se aprecian las mismas muestras pero esta vez elaboradas sin glicerol.

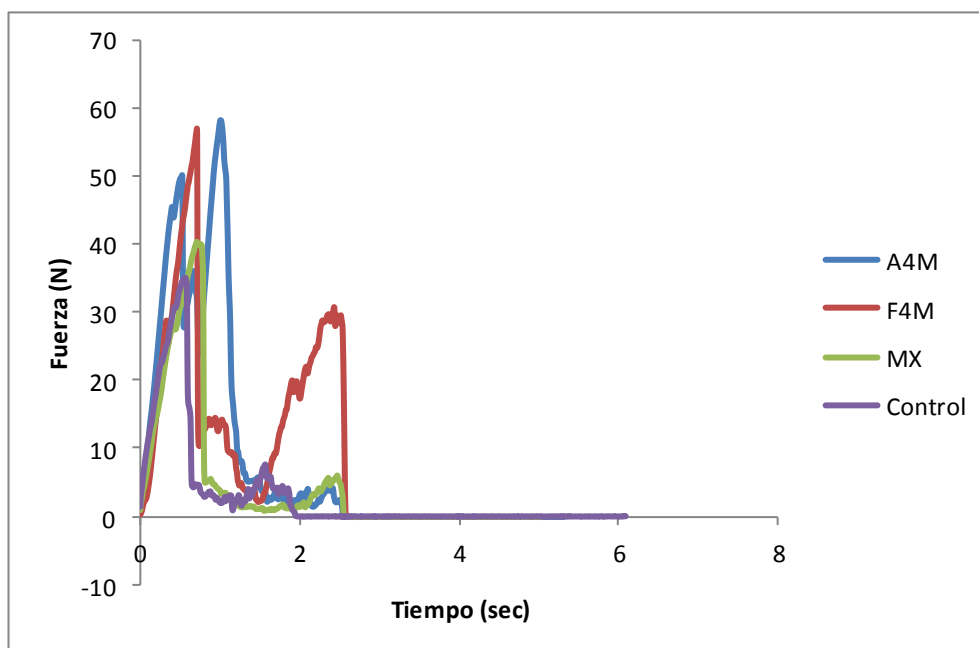


Figura 23. Curvas de textura de las galletas elaboradas con celulosas y glicerol frente a la galleta control obtenidas por el ensayo de penetración.

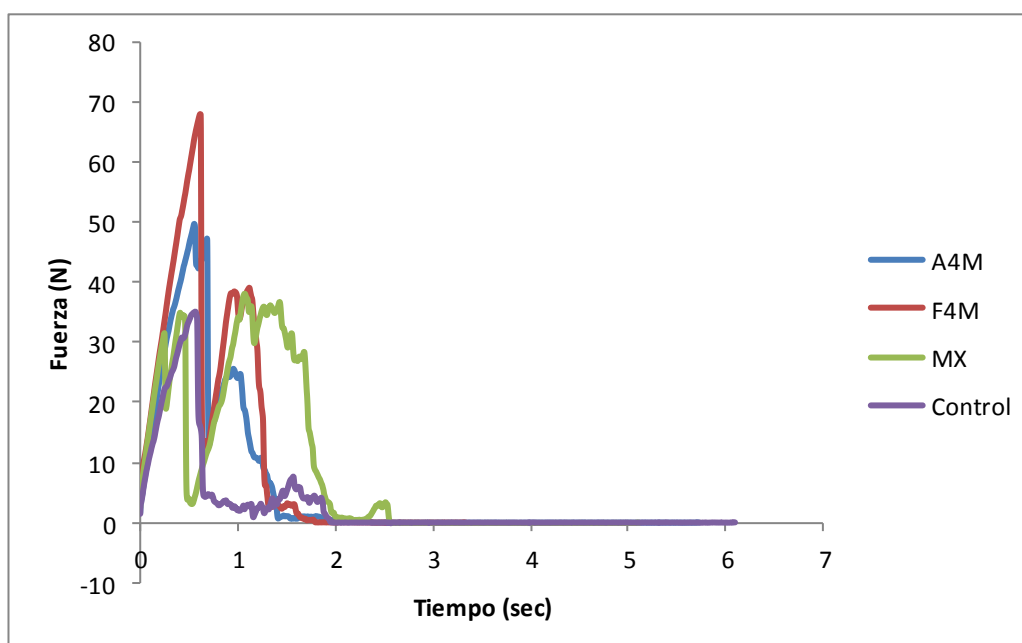


Figura 24. Curvas de textura de las galletas elaboradas con celulosas sin glicerol frente a la galleta control obtenidas por el ensayo de penetración.

Como se puede observar en las figuras, se corroboran los resultados que se obtuvieron en el análisis de textura de la masa, siendo las galletas elaboradas sin glicerol más duras que las que no lo tenían en su composición; esto puede deberse a que el glicerol actúa unificando la matriz como ya hemos visto en microscopía. Esta diferencia puede observarse especialmente en la galleta F4M. Tanto con o sin la presencia de glicerol, la masa control es la galleta más blanda. La galleta MX es la que más se asemeja a la galleta control en cuanto a dureza y carácter crujiente se refiere, especialmente la formulada con glicerol.

En la tabla C se han calculado los valores medios de fuerza máxima y tiempo obtenidos en los ensayos de penetración de galletas. Estos valores confirman lo anteriormente dicho con lo que la galleta elaborada con la celulosa MX es la que más se asemeja en cuanto a textura a la galleta control.

Tabla 7. Valores de fuerza máxima y tiempo obtenidos en el ensayo de penetración de galletas.

	Fuerza (Newtons)		Tiempo (segundos)	
	Con glicerol	Sin glicerol	Con glicerol	Sin glicerol
A4M	60,805ab (12,138)	51,185b (9,02)	0,612ab (0,168)	0,607ab (0,148)
F4M	57,193b (4,875)	74,54 ^a (9,687)	0,605ab (0,107)	0,805a (0,214)
MX	45,917bc (3,678)	37,647c (4,501)	0,743ab (0,15)	0,476b (0,189)
CONTROL		34,576c (0,773)		0,490ab (0,163)

Valores entre paréntesis indican las desviaciones estándar.

abc... letras diferentes para cada parámetro indican diferencias significativas según el test de Tukey ($p < 0,05$).

2.2. Microscopía

2.2.1. Microscopía Electrónica de Barrido a Baja Temperatura (Cryo-SEM)

La microestructura de las galletas se presenta en la Figura 25. La diferencia fundamental de la microscopía de las masas respecto a la de las galletas es que en éstas últimas, se observa la presencia de aire, gracias a la acción de los agentes leudantes.

En las micrografías de Cryo-SEM se observa que las galletas están formadas por una matriz proteico-azucarada donde los gránulos de almidón están embebidos. La grasa durante el horneado se funde y recubre las partículas de harina, dificultando así su hidratación y formación de enlaces entre ellas. Debido a la elevada cantidad de azúcar en la formulación y la insuficiente cantidad de agua, muchos de los gránulos de almidón no gelatinizan, como también señalan Pareyt y Deolcour (2008) en su estudio sobre la influencia de los distintos componentes de la harina en la calidad de galletas.

En el caso de las galletas podemos observar cómo la presencia o no de glicerol no causa una diferencia llamativa en las distintas formulaciones. En la galleta elaborada con la emulsión MX la matriz está mucho más unida que en las otras galletas, con unos poros más pequeños, lo que ocasiona que en textura la galleta tenga un perfil diferente. Como en el caso de las masas, las galletas elaboradas con las emulsiones F4M y A4M son más similares entre sí.

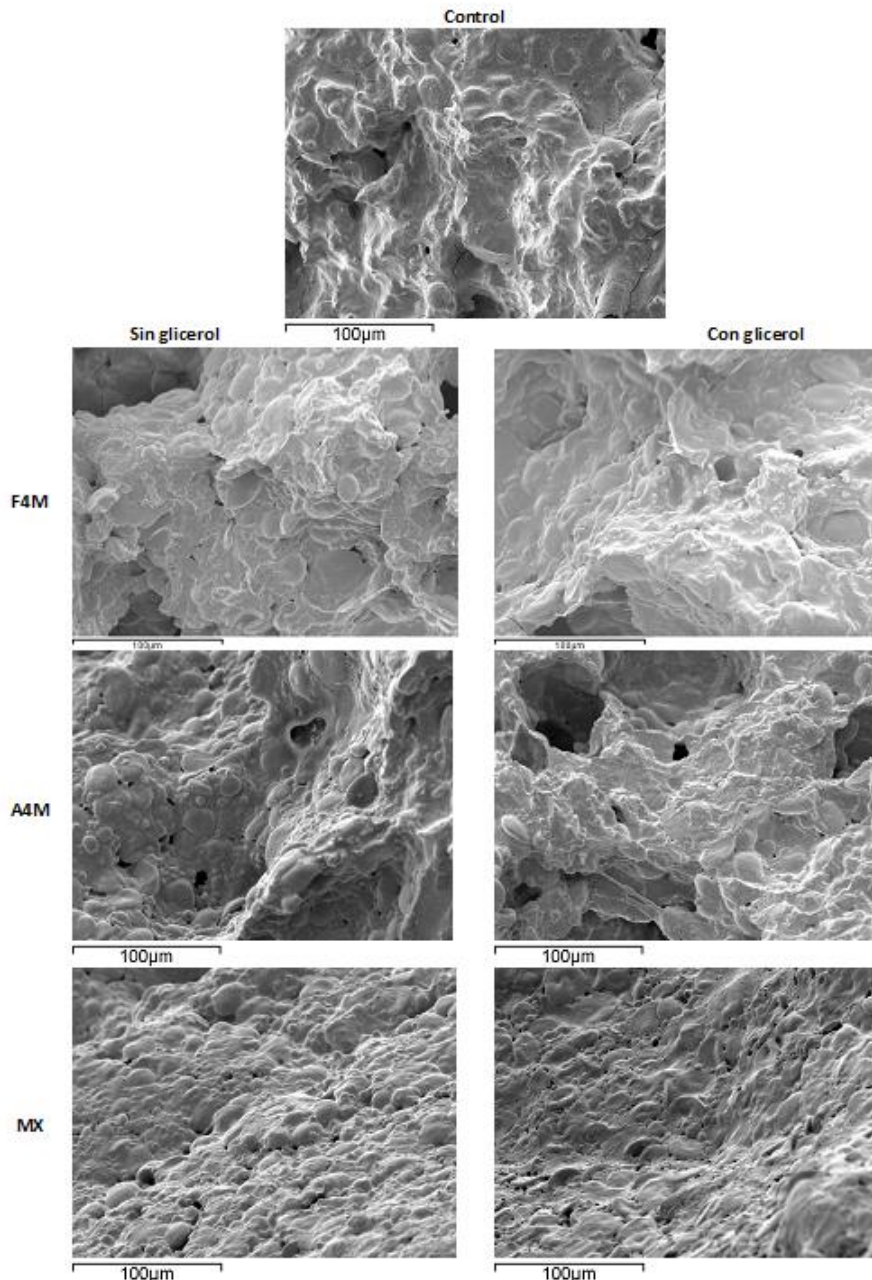


Figura 25. Microscopía Electrónica de Barrido a Baja Temperatura (Cryo-SEM). Imagen de las galletas control y las elaboradas con las emulsiones F4M, A4M y MX, con y sin glicerol. Magnificación (500x).

2.3. Análisis sensorial

En la figura 26 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de la aceptabilidad de las muestras. Tras los estudios instrumentales de textura realizados se llegó a la conclusión de que la presencia de glicerol no afectó prácticamente a las propiedades de las galletas aunque la presencia de glicerol en la formulación de las galletas con emulsiones de celulosa dio lugar a una disminución de la dureza de las muestras asemejándola más a la galleta control. Por otro lado, también se observó que los perfiles de textura de las galletas elaboradas con la emulsión MX fueron los más parecidos a la galleta control, tanto sin glicerol como adicionado glicerol a la formulación, por tanto, para el análisis sensorial de aceptabilidad se decidió presentar las tres emulsiones con celulosa y glicerol más la galleta con la emulsión de la celulosa MX sin glicerol

y la galleta control. Como se puede observar, se encontraron diferencias significativas en la aceptabilidad de todos los atributos evaluados. En concreto, con respecto al olor y al color característico de galleta se encontraron diferencias significativas entre las muestras siendo las galletas con celulosas las más preferidas, sin diferencias entre ellas, mientras que la galleta control fue la que menos gustó. Sin embargo, la galleta más aceptable por su dureza es la galleta control y la que menos gustó es la galleta con la celulosa A4M, probablemente debido a que esta galleta es la que mayor dureza tenía. Resultado similar se encontró en la aceptabilidad del carácter crujiente, donde las más aceptables fueron la galleta control y la de la celulosa MX sin glicerol. No se encontraron apenas diferencias significativas en la aceptabilidad del dulzor de todas las galletas. Por último, las galletas con celulosas fueron las que mayor aceptabilidad en sabor y en general tuvieron respecto de la galleta control que fue la peor valorada. Por tanto, a la vista de los resultados se puede decir que las galletas formuladas con celulosas fueron más aceptables por los consumidores que las galletas control, con excepción de la dureza, y además son más saludables ya que contienen menos grasa que las galletas control (un 40% menos de grasa, aproximadamente).

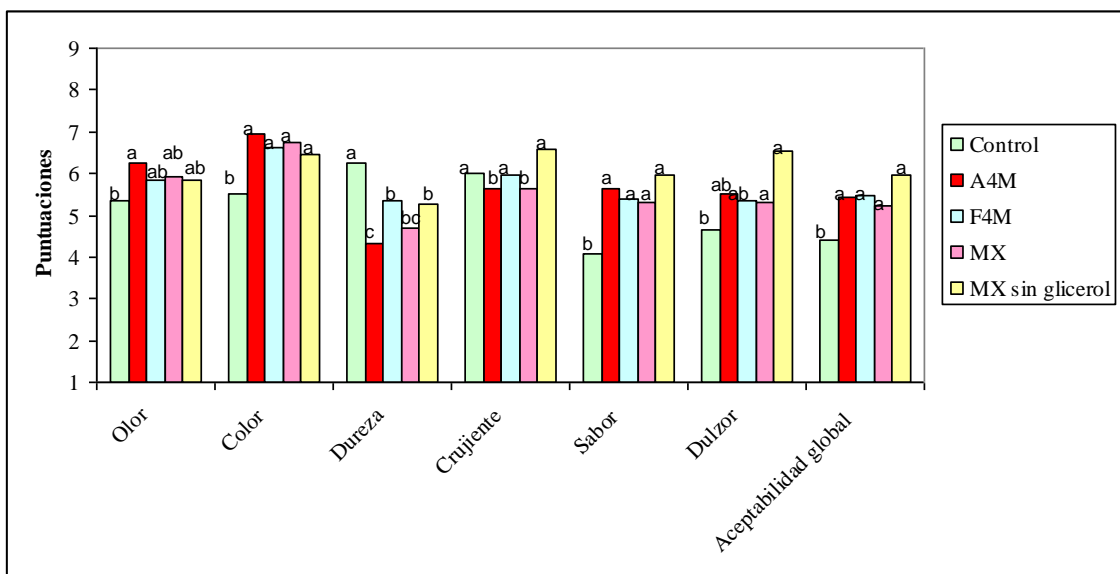


Figura 26. Puntuaciones de la aceptabilidad de los atributos sensoriales evaluados de las distintas galletas elaboradas.

(a,b,c.... letras diferentes para cada atributo indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) según el test de Tukey).

CONCLUSIONES

Las emulsiones elaboradas con éteres de celulosa constituyen una óptima opción para reducir el contenido en grasa de galletas, ya que presentaron unas características tecnológicas muy parecidas a la masa control, además, fueron sensorialmente aceptadas.

En la textura se observó que la presencia de glicerol disminuyó la dureza de las masas, haciendo que éstas sean menos duras, más elásticas, cohesivas y manejables. No obstante, ninguna de las masas presentó problemas para su amasado, laminado y corte. Esta disminución de dureza con la presencia de glicerol también se pudo observar en las galletas, siendo en ambos casos la galleta o masa control la que menos dureza presentó. En las galletas se observó cómo la galleta elaborada con emulsión MX tenía un carácter crujiente más parecido a la galleta control que las galletas elaboradas con las demás emulsiones, lo que después se confirmó en el análisis sensorial, siendo la galleta MX sin glicerol la preferida, incluso por encima de la galleta control.

Las propiedades calorimétricas no presentaron diferencias importantes ni en el tipo de emulsión ni en la presencia o no de glicerol. Esto indica que la sustitución de grasa por éteres de celulosas y la presencia del glicerol no afectó a la gelatinización del almidón, lo que seguramente se debe a que la cantidad de agua libre en la masa no aumente, debido a que ésta está formando parte de la emulsión retenida por el gel del éter de celulosa.

Por lo que respecta a la parte microscópica, en la microscopía laser confocal de barrido (CLSM) se observaron los componentes de la masa mucho más homogéneamente distribuidos en la masa F4M que en las demás masas elaboradas con los distintos éteres de celulosa. En la masa MX la grasa se encuentra más libre en la matriz que en las otras masas elaboradas con celulosas, lo que puede ser la causa de que en la microscopía electrónica de barrido a baja temperatura (Cryo-SEM) esta masa se vea mucho más uniforme, ya que durante el amasado parte de la grasa se funde y recubre la matriz, lo que también ocurre al observar la galleta en el Cryo-SEM. La presencia de glicerol no influye de manera especial en el reparto de componentes ni en la masa ni en la galleta, aunque sí que se puede apreciar alguna diferencia en el Cryo-SEM de la masa.

Sensorialmente, las galletas más aceptadas fueron las elaboradas con éteres de celulosa, especialmente la galleta MX sin glicerol.

Analizando los resultados obtenidos, el éter de celulosa MX (metilcelulosa con alto grado de metilación) podría ser la opción más adecuada para sustituir la grasa en galletas, ya que es la que a pesar de ser la más diferente microscópicamente, su comportamiento tecnológico y aceptabilidad entre los consumidores mejor se valora. Además, no haría falta la presencia de glicerol, para así poder mantener el carácter crujiente de la galleta con la clásica formulación de mantequilla.

BIBLIOGRAFIA

- Akoh C.C. (1998). Fat replacers. *Food Technology* 52, 3, 47-53.
- American Dietetic Association (ADA). Position of the American Dietetic Association: Fat replacers. *Journal of the American Dietetic Association* 2005, 105(2), 266-75.
- Baltsavias, A., Jurgens, A. (1997). Factors affecting fracture properties of Short-dough biscuits. *Journal of Texture Studies* 28, 205-219.
- Baltsavias, A., Jurgens, A., van Vliet T. (1999a). Fracture Properties of Short-Dough Biscuits: Effect of Composition *Journal of Cereal Science* 29,235–244
- Baltsavias, A., Jurgens, A., van Vliet T.(1997b). Rheological properties of short doughs at small deformation. *Journal of Cereal Science* 26:289-300.
- Baltsavias, A., Jurgens, A., van Vliet, T. (1999b). Large deformation properties of short doughs: effect of sucrose in relation to mixing time. *Journal of Cereal Science* 29, 43-48.
- Burdock GA. Safety assessment of hydroxypropyl methylcellulose as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology* 2007, 45(12), 2341-51.
- Burt, D.J., Fearn T. (1983). A quantitative study of biscuit microstructure. *Starch* 35(10), 351-354.
- Cauvain, S., Young, L. (2006). Baked products: science, technology and practices. Blackwell Publishing, Ames, USA.
- Chevallier S., Della Valle G., Colonna P., Broyart B., Tryatram G. (2002). Structural and Chemical Modifications of Short Dough During Baking. *Journal of Cereal Science* 35, 1-10.
- Chevallier, S., Colonna, O., Buleón, A., Lourdin, D. (2000b). Contribution of major ingredients during baking of biscuit dough systems. *Journal of Cereal Science* 31:241-252.
- Chevallier, S., Colonna, P., Buleón, A., Della Valle, G. (2000). Physicochemical behaviors of sugars, lipids and gluten in short dough and biscuit. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 48, 1322-1326.
- Co ED, Marangoni AG. Organogels: an alternative edible oil-structuring method. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 2012, 89, 749–80.
- Doescher, L.C., Hosney, T.C., Milliken, G.A. (1987). A mechanism for cookie dough setting. *Cereal Chemistry* 64, 158-163.
- FAO. Salatrim, 1997. Consenso de la JEFCA. Accesible en la web: <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/Additive-382.pdf> (Último acceso: junio 2015).
- FAO-FINUT. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana, 2012. Consulta de expertos. Granada: FAO-FINUT. 175 pp.

Flint, O., Mos, R., Wade, P.A. (1970). A comparative study of the microstructure of different types of biscuits and their doughs. *Food Trade review* 40, 32-39.

Fustier P., Castigne F., Turgeon S.L., Biliaderis C.G. (2008). Flour constituent interactions and their influence on dough rheology and quality of semi-sweet biscuits: a mixture desing approach with reconstituted blends of gluten, water-solubles and starch fractions. *Journal of Cereal Science* 48, 144-158.

Gaines, C.S. (1990). Influence of chemical and physical modification of soft wheat protein on sugar-snap cookie dough consistency, cookie size, and hardness. *Cereal Chemistry* 67, 73-77.

Gallagher, E., O' Brien, C.M., Scannell, A.G.M., Arendt E.K. (2003). Evaluation of sugar replacers in short dough biscuit production. *Journal of Food Engineering* 56, 261-263

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

HadiNezhad M., Butler F. (2009). Association of glutenin subunit composition and dough rheological characteristics with cookie baking properties of soft wheat cultivars. *Cereal Chemistry* 86(3), 339-349.

Hoseney, R.D. (1994). Principles of Cereal Science and Technology, second ed. AACC, St-Paul, Minnesota, USA.

Hutchinson, P.E. (1978). Emulsifiers in Cookies- Yesterday, Today and Tomorrow 53rd annual Biscuit and Cracker Manufacturers Association Technologists Conference.

Jiménez Colmenero, F. (2013) Emulsiones multiples: compuestos bioactivos y alimentos funcionales. *Nutrición hospitalaria: Órgano oficial de la Sociedad española de nutrición parenteral y enteral*, ISSN 0212-1611, Vol. 28, N°. 5, 2013, págs. 1413-1421.

Kaldy, M.S., Kereliuk, G.R., Kozub, G.C. (1993). Influence of gluten components and flour lipids on soft white wheat quality. *Cereal Chemistry* 70, 77-80.

Kulp, K., Olewnik, M., Lorenz, K. (1991). Starch Functionality in Cookie Systems. *Starch*, 43, 53-57.

Laguna L. Reformulación de galletas de masa corta: cambios en reología, textura y propiedades sensoriales. Tesis doctoral, 2013. Universitat Politècnica de València. Accesible en la [web: http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/28584/Reformulaci%C3%B3n%20de%20galletas%20de%20masa%20corta_5634_5635.pdf?sequence=11&isAllowed=y](http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/28584/Reformulaci%C3%B3n%20de%20galletas%20de%20masa%20corta_5634_5635.pdf?sequence=11&isAllowed=y) (Último acceso: junio 2015).

LaRosa, J.C., Hunninghake, D., Bush, D., Criqui, M.H., Getz, G.S., Gollo A.M., Grundy S.M., Rakita L., Robertson R.M., Weisfelt M.L., Cleeman J.I. (1990). The Cholesterol Facts. A summary of the evidence relating dietary fats, serum cholesterol and coronary heart disease. *Circulation* 81, 1721-1733.

Maache-Rezzoug, Z., Bouvier, J.M., Allaf, K., Patras C. (1998) Effect of principal ingredients on rheological behaviour of biscuit dough and on quality of biscuits. *Journal of Food Engineering* 35 (1), 23-42.

Magrama. Base de Datos de Consumo en Hogares, 2013. Accesible en la web: <http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/panel-de-consumo-alimentario/base-de-datos-de-consumo-en-hogares/consulta10.asp> (Último acceso: junio 2015).

Magrama. Guía marco de prácticas correctas en el sector de fabricación de galletas, 2009. Accesible en la web: http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/industria-agroalimentaria/Gu%C3%ADa_Marco_Pr%C3%A1cticas_Fabricaci%C3%B3n_de_galletas_tcm7-203291.pdf (Último acceso: junio 2015).

Manley, D. J. R. (1989). Tecnología de la industria galletera. Galletas, crackers y otros horneados. Segunda Edición. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

Manley, D. J. R. (1991). Classification of biscuits. In 'Technology Gelatinization of wheat starch in the presence of sucrose of Biscuits, Crackers and Cookies' 2nd edn., Ellis Horwood, Chichester pp 231–237.

Manley, D. J. R. (1998) Baking and cooling of biscuits: what happens in a baking oven, types of oven, post-oven processing, cooling, handling, troubleshooting tips. Woodhead Publishing, Cambridge, UK.

Manley, D. J. R. (2000) Technology of Biscuits, Crackers, and Cookies. Third Edition. Woodhead Publishing, Cambridge, UK.

Martínez-Cervera S. Reemplazo de grasa y azúcar en magdalenas. Efecto sobre las propiedades reológicas, térmicas, de textura y sensoriales. Tesis doctoral no publicada, 2013. Universitat Politècnica de València.

O'Connor, M. (1992). Europe and Nutrition. *British Medical Journal* 304, 178-182.

Olewnik, M.C., Kulp, K. (1984). The effect of mixing time and ingredient variation on farinograms of cookie doughs. *Cereal Chemistry* 61, 532-537.

Oreopoulou V. 2006. Fat replacers. En: Bakery products: science and technology. 1ª Ed. Hui YH (editor). Ed Blackwell Publishing. Iowa. Capítulo 10 pp 193-210.

Pareyt, B., Brijs, K., Delcour, J.A. (2009). Sugar-snap cookie dough setting: the impact of sucrose on gluten functionality. *Journal Agriculture and Food Chemistry* 57, 7814-7818.

Pareyt, B., Delcour, J.A. (2008). The role of wheat flour, constituents, sugar and fat in low moisture cereal based products: a review on Sugar-snap cookies. *Critical review in food science and nutrition* 48, 824-839.

Pareyt, B., Wilderjans, E., Goesaert, H., Brijs, K., Delcour, J.A. (2008b). The role of gluten in a sugar-snap cookie system: a model approach based on gluten-starch blends. *Journal of Cereal Science* 48, 863-869.

Real Decreto 1124/1982, de 30 de abril, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la Elaboración Fabricación, Circulación y Comercio de Galletas. Publicado en el BOE num.133, de 4 de junio de 1982, páginas 15069 a 15072.

Reglamento (CE) N° 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. 30 de diciembre de 2006, L: 9-25 (2006).

Reglamento (UE) n° 231/2012 de la Comisión, de 9 de marzo de 2012, por el que se establecen especificaciones para los aditivos alimentarios que figuran en los anexos II y III del Reglamento (CE) n° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo. 22 de marzo de 2012. L: 1-295 (2012).

Reglamento (UE) n°1 1130/2011 de la Comisión, de 11 de noviembre de 2011, por el que se modifica el Reglamento (CE) n° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre aditivos alimentarios para establecer una lista de aditivos alimentarios de la Unión autorizados para ser empleados en aditivos alimentarios, enzimas alimentarias, aromas alimentarios y nutrientes. 12 de noviembre de 2011. L: 178-204. (2011).

Rodríguez-García, J., Laguna, L., Puig, A., Salvador, A., Hernando, I. 2012. Effect of fat replacement by inulin on textural and structural properties of short dough biscuits. *Food and Bioprocess Technology* DOI 10.1007/s11947-012-0919-1.

Sai Manohar, R., Haridas Rao, P. (1999). Effects of water on the rheological characteristics of biscuit dough and quality of biscuits. *European Food Research and Technology* 209, 281-285.

Sai Manohar, R., Haridas Rao, P. (1999b). Effect of emulsifiers, fat level and type on the rheological characteristics of biscuit dough and quality of biscuits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1223-1231.

Sanz T. Proceso innovador de fabricación de alimentos rebozados congelados que evita la etapa de prefrutura industrial. Tesis doctoral no publicada, 2003. Universitat de València.

Sanz T, Salvador A, Fiszman S.M., y Laguna L. (2011). Fabricación y aplicación de emulsión sustituta de grasa. Patente Española ES2408690B1

Sarkar N. Thermal gelation properties of methyl and hydroxypropyl methylcellulose. *Journal of applied polymer science*, 1979, 24, 1073-87.

Slade, L., Levine, H. (1994). Structure-function relationships of cookie and cracker ingredients. In *'The Science of Cookie and Cracker Production'*. (H.Faridi, ed.), Chapman&Hall, New York 99, 23-24.

Soriano-Del Castillo JM. 2006. Conceptos y evolución histórica de la nutrición. En: *Nutrición básica humana*. 1ª ed. Soriano-Del Castillo JM (editor). Ed. Publicaciones de la Universidad de Valencia. Valencia. Capítulo 1, pp 23-29.

Spies, R.C., Hosney R.C. (1982). Effect of sugars on starch gelatinization. *Cereal Chemistry* 59, 128-131.

Sudha ML, Srivastava AK, Vetrmani R. Leelavathi K. Fat replacement in soft dough biscuits: Its implications on dough rheology and biscuit quality. *Journal of Food Engineering* 2007, 80, 922-30.

Tarancón P, Salvador A., Sanz T. Sunflower oil–water–cellulose ether emulsions as trans-fatty acid-free fat replacers in biscuits: texture and acceptability study. *Food and Bioprocess Technology*, 2013, 6, 2389-98.

Tarancón P, Sanz T, Fiszman S, Tárrega A. Consumers' hedonic expectations and perception of the healthiness of biscuits made with olive oil or sunflower oil. *Food Research International*, 2014, 55, 197-206.

Thacker, D. (1993). Evaluation of flour for biscuit making. In: Turner, A., (Ed.), *Food Technology International Europe*, Sterling Publications, London, pp. 154–158.

The Dow Chemical Company. A food technologist's guide to Methocel food grade gums. 1996.

The Dow Chemical Company. A food technologist's guide to Methocel food grade gums. 2014.

The Dow Chemical Company. Discover the origins of some of the world's most consistently pure products: synthetic glycerine products. 1999. Accesible en la web: <http://goo.gl/mFGYbi> (Último acceso: junio 2015).

The Dow Chemical Company. Product safety assessment: glycerine. 2008. Accesible en la web: <http://goo.gl/CdpWLE> (Último acceso: junio 2015).

Vidal-García. 2009. Conceptos. En: Manual práctico de nutrición y dietoterapia. 1ª ed. Vidal-García (editor). Ed. Monsa-Prayma. Barcelona. Capítulo 1 pp 3-4.

Wade, P. (1988). Preparation of biscuit doughs. In: Biscuits, Cookies and crackers. The principles of the craft. London: Elsevier Applied Science.

World Health Organization. Obesity and overweight: fact sheet, 2013. Accesible en la web: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> (Último acceso: junio 2015).

Yáñez, E., Biolley, E., 1999. Sustitutos de grasa en la alimentación humana, Archivos Latinoamericanos de Nutrición 49, 101-103.

Zúñiga RN, Skurtys O, Osorio F, Aguilera JM, Pedreschi F. Physical properties of emulsion-based hydroxypropyl methylcellulose films: effect of their microstructure. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 90, 1147–58.