

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del Litoral, para la obtención del Grado Académico de:
Magister en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

“Desarrollo de productos de baja humedad (*galletitas tipo crackers*) para consumidores celíacos”

Instituto de Tecnología de Alimentos

Lic. Yanina Maciel

Director: Mg. Carlos A. Osella

- 2019 -

AGRADECIMIENTOS

A mi actual Director de Tesis, Prof. Mg. Carlos A. Osella, por estar siempre dispuesto a dedicarme su tiempo y compartir su conocimiento, por su generosidad, su bondad y su apoyo, por ser uno de los impulsores de mi regreso y por recibirme con la afectuosidad de siempre.

A mi inicial Director de Tesis, actualmente jubilado, Prof. Ing. Hugo D. Sánchez, por brindarme la posibilidad de realizar esta tesis, por confiar en mí, por ser mi guía, por las enseñanzas, por su apoyo, y sobre todo por la calidez humana con la que siempre me acompaño.

A Andrea Piagentini, porque sin su llamado, este trabajo no se hubiera concluido.

A Melina, por su buena predisposición y su ayuda con las mediciones de textura.

A Marisa, por el cariño recibido a lo largo de estos años.

A mis padres, por apoyarme siempre, por darme alas y por dejarme volar.

A Lupe, por el amor y la compañía, pero principalmente por ceder su tiempo “con mamá” para la finalización de este proyecto.

A Juan y Agustina, por recibirnos, pero sobre todo por aguantarnos.

A mis amigos, donde quiera que estén a lo largo y ancho de este planeta, por llenarme de historias y por acompañarme más allá del tiempo y la distancia.

A todos los que me apoyaron y me recargaron a través de sus palabras de la energía que necesitaba para terminar la tesis.

Y finalmente a todos los que de alguna manera hicieron posible este trabajo
¡INFINITAS GRACIAS!

*“Vive como si fueras a morir mañana,
aprende como si fueras a vivir siempre”*

Mahatma Gandhi

INDICE DE CONTENIDOS:

Índice de Contenidos.....	i
Índice de Tablas.....	vi
Índice de Figuras.....	viii
Resumen.....	x

Índice de contenidos

I. INTRODUCCIÓN	xii
I.1. Enfermedad celíaca.....	1
I.1.1. Diagnóstico.	6
I.1.2. Prevalencia.	7
I.1.3 Tratamiento.....	8
I.2. Gluten	13
I.2.1. Importancia tecnológica del gluten.....	14
I.3. Galletitas.....	15
I.3.1. Proceso.....	16
I.3.2. Formulación	21
I.3.3. Calidad de la galletita.....	24
I.4. Harinas y almidones sin gluten	24

I.4.1. Harina de arroz.....	27
I.4.2. Almidón de mandioca.....	27
I.4.3. Almidón de maíz.....	28
<i>I.4.3.a Almidón de maíz pregelatinizado.....</i>	<i>29</i>
I.5. Hidrocoloides	29
I.6. Mejoramiento nutricional	30
I.6.1. Harina de soja.....	31
I.6.2. Concentrado de proteínas del lactosuero.....	33
I. 7. Superficie de respuesta	35
I.8. Justificación del presente trabajo de tesis	35
II. OBJETIVOS.....	36
II.1. Objetivo general	36
II.2. Objetivos específicos.....	36
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
III.1 Materiales.....	37
III.2 Ensayos previos.....	38
III.2.1. Formulación testigo utilizada en la elaboración.....	38
III.2.2. Procedimiento de elaboración.....	38
III.2.3. Evaluaciones.....	39

III.3. Diseño de una Premezcla para la Elaboración de galletitas	
“sin TACC”	39
III.3.1. Selección de materias primas a utilizar.	39
III.3.3. Selección de hidrocoloides como aditivos.	40
III.3.4. Tratamiento Estadístico de los datos: Comparación de valores	
medios (Duncan).	40
III.4. Evaluación de galletitas “sin TACC”	41
III.4.1. Maquinabilidad.	41
III.4.2. Espesor después de laminado.	41
III.4.3. Características del producto:	41
<i>III.4.3.a. Aspectos objetivos:</i>	41
Altura:	41
Volumen específico:	41
Encogimiento de la masa por efecto de la cocción:	41
Ruptura:	41
<i>III.4.3.b. Aspectos subjetivos:</i>	42
III.5. Mejoramiento Nutricional de las galletitas “sin TACC”	44
III.5.1. Selección y Análisis de las materias primas proteicas.	44
III.5.2. Diseño Experimental para la Elaboración de Galletitas	
Enriquecidas “sin TACC”.	44
III.4.3. Tratamiento Estadístico de Datos.	46

IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
Ensayos previos	48
Selección de los almidones y harinas a emplear en la formulación	
.....	49
Características de la masa:	49
Maquinabilidad:	49
Espesor después del laminado:	49
Características del producto (galletita):	50
<i>Aspectos objetivos:</i>	<i>50</i>
Altura:	50
Encogimiento:	50
Volumen específico:	50
Ruptura:	51
<i>Aspectos subjetivos:</i>	<i>53</i>
Color:	53
Masticabilidad:	53
Evaluación sensorial (puntaje total):	54
Selección de hidrocoloides como aditivos	55
Selección de las materias primas proteicas	56
Maquinabilidad:	57
Espesor después del laminado:	60

Tiempo de cocción:	62
Color de galletita:	65
Puntaje subjetivo:	68
Lisina:	70
Optimización de las respuestas	73
Verificación de la idoneidad del modelo obtenido	74
V. CONCLUSIONES	78
VI. PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIONES FUTURAS	80
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	81

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA I.1	Diferencias clínicas y fisiopatológicas de la enfermedad celíaca.....	2
TABLA I.2	Manifestaciones clínicas de la enfermedad celíaca.....	5
TABLA I.3	Cereales no permitidos.....	10
TABLA I.4	Clasificación de galletitas.....	15
TABLA III.1	Formulación testigo.....	38
TABLA III.2	Proporción de harinas y almidones utilizados.....	39
TABLA III.3	Atributos sensoriales y puntaje asignado a las crackers.....	43
TABLA III.4	Diseño experimental.....	44
TABLA III.5	Evaluación sensorial- Encuesta de aceptabilidad.....	47
TABLA IV.1	Resultados mediciones de textura en galletitas comerciales.....	48
TABLA IV.2	Test de rango múltiple de Duncan para espesor.....	49
TABLA IV.3	Test de rango múltiple de Duncan para altura.....	50
TABLA IV.4	Test de rango múltiple de Duncan para encogimiento.....	50
TABLA IV.5	Análisis de varianza ANOVA para volumen específico.....	51
TABLA IV.6	Comparación de medias de textura.....	51
TABLA IV.7	Test de rango múltiple de Duncan para textura.....	52
TABLA IV.8	Resultado de evaluación sensorial.....	54
TABLA IV.9	Test de rango múltiple de Duncan para evaluación sensorial.....	55
TABLA IV.10	Formulación seleccionada.....	55
TABLA IV.11	Respuesta de diseño experimental.....	56
TABLA IV.12	Análisis de varianza ANOVA.....	57
TABLA IV.13	Punto óptimo para maquinabilidad.....	60

TABLA IV.14 Punto óptimo para Espesor después del laminado.....	62
TABLA IV.15 Punto óptimo para Tiempo de cocción.....	65
TABLA IV.17 Punto óptimo para color de galletitas.....	68
TABLA IV.18 Punto óptimo para Puntaje Subjetivo	70
TABLA IV.20 Punto óptimo para Lisina.....	73
TABLA IV.21 Valores de respuesta y optimo.....	73
TABLA IV.22 Factores establecidos y óptimos.....	74
TABLA IV.23 Verificación del modelo	74

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA I.1 Vellosidades del intestino delgado normal y de un intestino celíaco.....	3
FIGURA I.2 Hallazgos histopatológicos en intestino delgado.....	6
FIGURA I.3 Iceberg celíaco.....	7
FIGURA I.4 Alimentos aptos y no aptos para celíacos.....	9
FIGURA I.5 Logos “libre de gluten” o “SIN TACC”.....	11
FIGURA III.1 Texturometro TX.Ta plus.....	42
FIGURA III.2 Escala de color de galletitas.....	46
FIGURA IV.1 Diagrama de Pareto Estandarizada para maquinabilidad.....	58
FIGURA IV.2 Grafica de efectos principales para maquinabilidad.....	58
FIGURA IV.3 Superficie de respuesta estimada para maquinabilidad.....	59
FIGURA IV.4 Diagrama de Pareto Estandarizada para Espesor después del laminado	61
FIGURA IV.5 Grafica de efectos principales para Espesor después del laminado.....	61
FIGURA IV.6 Superficie de respuesta estimada para Espesor después del laminado.....	62
FIGURA IV.7 Diagrama de Pareto Estandarizada para Tiempo de cocción.....	63
FIGURA IV.8 Grafica de efectos principales para Tiempo de cocción.....	64
FIGURA IV.9 Superficie de respuesta estimada para Tiempo de cocción.....	64
FIGURA IV.10 Diagrama de Pareto Estandarizada para Color.....	65
FIGURA IV.11 Grafica de efectos principales Color.....	66
FIGURA IV.12 Superficie de respuesta estimada para Color.....	66

FIGURA IV.13 Diagrama de Pareto Estandarizada para Puntaje Subjetivo.....	68
FIGURA IV.14 Grafica de efectos principales para Puntaje Subjetivo.....	69
FIGURA IV.15 Superficie de respuesta estimada variable Puntaje Subjetivo.....	69
FIGURA IV.16 Diagrama de Pareto Estandarizada variable Lisina.....	71
FIGURA IV.17 Grafica de efectos principales variable Lisina.....	71
FIGURA IV.18 Superficie de respuesta estimada variable Lisina.....	72
FIGURA IV.19 Distribución por sexo y rango de edad.....	76
FIGURA IV.20 Frecuencia de aceptabilidad de consumidores celíacos.....	76

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una premezcla para la elaboración de galletitas tipo crackers sin TACC para consumidores celíacos, enriquecidas mediante la adición de harina de soja y concentrado proteico de suero caseario.

Con el objetivo de determinar los ingredientes a utilizar en la premezcla y la proporción más adecuada de cada uno de ellos, se realizaron ensayos con diferentes proporciones de harina de arroz, almidón de maíz y almidón de maíz pregelatinizado, y con una proporción fija de almidón de mandioca. Para ello se evaluaron características objetivas: espesor después del laminado, altura, volumen específico, encogimiento por efecto de la cocción y ruptura, y características subjetivas: maquinabilidad y atributos sensoriales entre ellos sabor y masticabilidad. Se determinó que la harina de arroz debe ser la base de esta premezcla con una proporción de 46,3%,

Se estudio el efecto de la incorporación de hidrocoloides: goma xántica, goma guar e hidroxipropilmetilcelulosa. Los estudios preliminares arrojaron resultados negativos, ya que las galletitas quedaban extremadamente duras, por lo que se decidió trabajar sin gomas.

Se llevo a cabo el mejoramiento nutricional de las galletitas mediante la adición de proteínas de alto valor biológico. Se utilizo la metodología de superficie de respuesta para determinar la formulación que permita obtener galletitas enriquecidas de mejores características. A tal fin, se evaluaron: maquinabilidad, espesor después del laminado, puntaje total subjetivo, color, mejora nutricional (% de lisina) y tiempo de cocción.

La función de deseabilidad de Derringer se usó para seleccionar la condición óptima (Derringer y Suich, 1980). En la formulación seleccionada, se suplementaron las galletitas con 7% WPC y 8% HS. La utilización de estos ingredientes proteicos permitió desarrollar una formulación para galletitas sin TACC de mejorada característica nutricional sin perjudicar la calidad organoléptica del producto.

Por otra parte, los resultados del análisis sensorial a partir de la evaluación de aceptabilidad realizada con consumidores celíacos sugieren que la mezcla de ingredientes incorporados resultó exitosa, al no perjudicar características generales del producto desarrollado.

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Enfermedad celíaca

La Enfermedad Celíaca es una condición permanente de intolerancia al gluten contenido en diversos alimentos, que ocurre en individuos genéticamente predispuestos (niños y adultos), y se manifiesta como una enteropatía mediada por mecanismos inmunológicos (Ministerio de Salud, 2013; WGO, 2012; Hill, 2005; Catassi, 2005). También se la conoce como esprúe celíaco, enteropatía sensible al gluten o esprúe no tropical (WGO, 2012).

La Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN) define a la enfermedad celíaca (EC), en las recomendaciones publicadas en el año 2012, como una “enfermedad sistémica de carácter permanente, inmunomediada, provocada por el gluten y prolaminas relacionadas, en individuos genéticamente susceptibles, y que se caracteriza por la presencia de una combinación variable de: manifestaciones clínicas dependientes del gluten, anticuerpos específicos de EC, haplotipos HLA DQ2 o DQ8 y enteropatía”.

La literatura científica percibe en parte la EC como un trastorno de sensibilidad a los alimentos donde el gluten es el antígeno responsable, y en parte, como una condición autoinmune (presencia de auto-anticuerpos séricos contra la transglutaminasa tisular (TG2), otras transglutaminasas (TG3, TG 6) y el endomisio) (Scherf *et al.*, 2016).

Por lo que la EC se define en la actualidad, como una afección: multisistémica, de tipo autoinmune desencadenada por el consumo de gluten y prolaminas relacionadas, que aparece en individuos con predisposición genética (principalmente HLA DQ2 y DQ8) (Rodríguez *et al.*, 2015).

Las primeras descripciones sobre celíacos fueron realizadas en la segunda mitad del siglo II después de Cristo, por Areteo de Capadocia (85?-138 d.C.), médico que trabajó en Roma en la época de Nerón. En ellas, Areteo definía el estado celíaco (procedente de la palabra griega “κοιλιακος”, que significa abdomen y que originariamente se empleó para dirigirse a “los que sufren del intestino”) como: la eliminación fecal de alimentos no digeridos, acompañada de acentuada emaciación y estado de debilidad. El término celíaco describía el síntoma característico de la

enfermedad, en los niños con una presentación clínica clásica, es decir, la distensión abdominal (Coronel Rodríguez y Guisado Rasco, 2011; Rodríguez *et al.*, 2015).

En 1888, el pediatra inglés Samuel J. Gee publicó en la revista del Hospital St. Bartholomew de Londres, un trabajo en el que describía por primera vez una enfermedad que denominó “coeliac affection” y en la que textualmente describió: “la regulación de la alimentación es la parte más importante del tratamiento”(Coronel Rodríguez y Guisado Rasco, 2011). Posteriormente, Dicke, pediatra holandés, demostró la relación entre la ingesta de cereales y la manifestación de síndrome de malabsorción (Haas, 1963). Más tarde se confirmó la importancia del trigo en la génesis de la enfermedad (Paveley, 1988). Estudios posteriores de Dicke y van de Kamer establecieron la relación causa-efecto existente entre ingesta de alimentos con gluten y aparición de los síntomas de la enfermedad (Smits, 1989).

La EC es sólo una de tantas manifestaciones de las posibles reacciones al gluten (Sapone *et al.*, 2012). En los últimos 10 años, se han descrito otras afecciones dependientes del gluten: la alergia al trigo (de todas ellas la menos frecuente); la forma autoinmune (que incluye la enfermedad celíaca, la dermatitis herpetiforme y la ataxia por gluten); la intolerancia al trigo; y la sensibilidad al gluten inmuno-mediada (considerada hoy en día como la más frecuente) (Rodríguez *et al.*, 2015). En la Tabla I.1, se describen sus características principales.

Tabla I. 1 Diferencias clínicas y fisiopatológicas de enfermedad celíaca, alergia al gluten, sensibilidad al gluten no-celíaca e intolerancia al gluten (Rodrigo & Peña 2013)

<i>Enfermedad celíaca</i>	<i>Alergia</i>	<i>Sensibilidad</i>	<i>Intolerancia</i>
Síntomas intestinales y extra intestinales, presentes en días, semanas o años, después de la ingestión de gluten	Síntomas intestinales y extra intestinales, presentes en minutos u horas, después de la ingestión de gluten	Síntomas intestinales y extra intestinales, presentes en horas o días, después de la ingestión de gluten	Síntomas intestinales y extra intestinales, presentes en horas o días, después de la ingestión de gluten
No hay correlación directa con la cantidad, pero la enteropatía está presente. Reversibilidad, puede ocurrir pero no se conocen los mecanismos	Pequeñas cantidades, provocan síntomas. Eosinófilos en lámina propia. Anafilaxia al trigo y después del ejercicio puede ocurrir. En teoría la desensibilización es posible	Respuesta variable a diferentes cantidades de gluten. Aumento de linfocitos intraepiteliales. Aumento de basófilos en lámina propia.	La cantidad de gluten, en gramos, determina la intensidad y puede ser reversible. No hay enteropatía de ninguna clase

AAE, AAT, AAG	Ant-IgE frente a componentes del trigo incluyendo omega-5 gliadinas y cebada gamma3 hordeína	AAG	Negativo
HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8	No se conoce	No hay asociación	No hay asociación
Inmunidad innata y adquirida activada	Alergia Anafilaxia	Inmunidad innata	No existen mecanismos inmunológicos
A menudo enfermedades asociadas y autoinmunes	Enfermedades alérgicas	A menudo sensibilidad a otros alimentos	No se conocen

AAG: anticuerpos antigliadina deaminada.

AAT: anticuerpos antitransglutaminasa.

AAE: anticuerpos antiendomiso.

Esta condición produce una lesión característica de la mucosa intestinal provocando una atrofia de las vellosidades del intestino delgado (Figura I.1), lo que altera o disminuye la absorción de los nutrientes de los alimentos (proteínas, grasas, hidratos de carbono, sales minerales y vitaminas). Es este fenómeno el que produce el clásico cuadro de mala absorción.

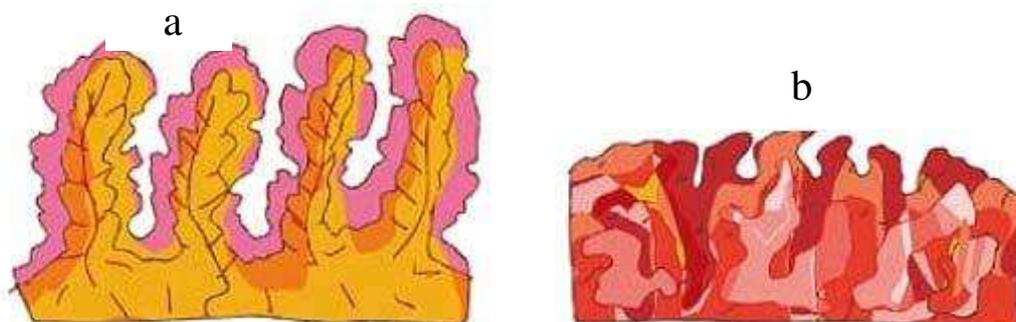


Figura I.1 Vellosidades del intestino delgado normal (a) y vellosidades intestinales de una persona celíaca (b).

La EC se caracteriza por una expresividad clínica muy variable, no existe un patrón común, incluyendo tanto la afectación digestiva como la extra digestiva e, incluso, la ausencia completa de síntomas, y que persiste de forma permanente, es decir, se mantiene durante toda la vida (ESPGHAN, 2012). En la infancia, la enfermedad suele presentarse con retraso en el desarrollo, baja estatura, retraso de la pubertad, diarrea crónica, esteatorrea, distensión abdominal y anemia. En adultos, los casos sintomáticos o clásicos de la enfermedad pueden presentar diarrea crónica, distensión

abdominal y dolor, debilidad y mala absorción (Green, 2007). Sin embargo, muchos pacientes tienen poco o nada de síntomas gastrointestinales, mientras que presentan síntomas con características extra-intestinales, tales como dermatitis herpetiforme, anemia, osteoporosis, infertilidad y problemas neurológicos, entre otros (Alaedini y Green, 2005).

La literatura ha descrito varios conceptos en relación a las manifestaciones de la EC: típica, atípica, potencial, silente y latente, entre otros (Troncore *et al.*, 1996). Dada la heterogeneidad de estos términos, en 2013 se publicó el consenso de expertos de Oslo que homogeneizó las definiciones relacionadas a la EC (Ludvigsson *et al.*, 2013). El consenso acepta los términos de EC asintomática (diagnosticada con serología y biopsia en pacientes sin síntomas; equivalente al concepto de EC silente), EC clásica (con síntomas de malabsorción -diarrea, esteatorrea, descenso ponderal, hipoalbuminemia), EC no clásica (síntomas pero sin síntomas de malabsorción), EC subclínica (con manifestaciones bajo el umbral de detección clínica, que pueden corresponder, por ejemplo, a alteraciones de laboratorio), EC sintomática (con síntomas gastrointestinales o extra-intestinales evidentes) y EC potencial (pacientes con serología positiva y biopsia de intestino delgado normal). El consenso sugiere eliminar los términos EC típica, EC atípica, EC manifiesta, EC latente y EC silente (Moscoso & Quera, 2016).

Las manifestaciones clínicas de la EC pueden agruparse en menores o mayores (Tabla I.2). El clásico síndrome de malabsorción es cada vez menos frecuente, dando paso a las manifestaciones abdominales sin diarrea, extra intestinales y la EC asintomática (Volta *et al.*, 2014).

Tabla I.2 Manifestaciones clínicas en enfermedad celíaca

<i>Manifestaciones menores</i>	<i>Manifestaciones mayores</i>
Paciente con molestias transitorias, inespecíficas o aparentemente no relacionadas, como dispepsia, distensión abdominal, alteraciones leves del tránsito intestinal, similares a las de SII, anemia de causa no precisada, fatiga aislada, hipertransaminasemia de causa no precisada, infertilidad, alteraciones neurológicas centrales y periféricas, osteoporosis, talla baja, defectos del esmalte dental, dermatitis herpetiforme	Pacientes con evidentes síntomas de malabsorción (diarrea, esteatorrea, bajo peso y otras características de malnutrición como calambres, tetania, edema periférico debido a alteraciones electrolítica e hipoalbuminemia)

Antiguamente se manejaba la hipótesis de que la celiaquía era una enfermedad que se manifestaba en los primeros años de vida, y que solo afectaba a niños y adolescentes. La comunidad científica ha demostrado que en realidad se trata de una enfermedad que puede aparecer a cualquier edad. De hecho, hoy en día casi el 50.0% de la población celíaca a escala mundial sobrepasa los 50 años de edad (Goddard & Gillett, 2006).

Se sabe que existe una predisposición hereditaria con penetración incompleta, puesto que los familiares de primer grado tienen 20 veces más riesgo de sufrirla y se desarrolla como resultado de la interacción entre factores: genéticos, inmunológicos y ambientales, donde las prolaminas del gluten son el principal factor medioambiental. (Rodríguez *et al.*, 2015).

La celiaquía es considerada la enfermedad intestinal crónica más frecuente y recientemente se comprobó que la enfermedad es cuatro veces más prevalente en Estados Unidos hoy en día que en los años 50 y que las muertes por enfermedad celíaca se han cuadruplicado, durante los últimos 45 años de seguimiento, al desconocer los

propios individuos afectados que eran celíacos, o como resultado de un mal diagnóstico médico (Murray, 2008).

I.1.1. Diagnóstico.

Hasta hace unos años, era imprescindible la realización de, al menos, una biopsia intestinal y el estudio histológico de una muestra de mucosa obtenida a nivel duodeno yeyunal. El hallazgo histológico específico, aunque no patognomónico, es una atrofia vellositaria severa (atrofia subtotal) con hiperplasia de las criptas y aumento de linfocitos intraepiteliales como se muestra en la Figura 1.2. (Polanco & Ribes, 1995).

Los avances y precisión en las pruebas inmunológicas, así como el conocimiento de la implicación y predisposición genética en la EC, han permitido a la ESPGHAN revisar los criterios diagnósticos de esta enfermedad y en 2012 se publican las actuales recomendaciones en las que se valoran y reconsideran la existencia de cuatro pilares o herramientas diagnósticas clásicas: clínica, anticuerpos, genética y anatomía patológica. Destaca entre sus novedades, que en la infancia y adolescencia, la biopsia intestinal podría omitirse en sujetos sintomáticos con títulos de anticuerpos AAT-IgA superiores a 10 veces lo normal, verificados por los AAE y HLA DQ2 y/o DQ8 positivos. Sólo en este supuesto, se podría realizar el diagnóstico e iniciar la DSG sin biopsia intestinal previa (ESPGHAN, 2012; Miranda Díaz *et al.*, 2012; Martínez *et al.*, 2015; Vitoria y Bilbao, 2013).

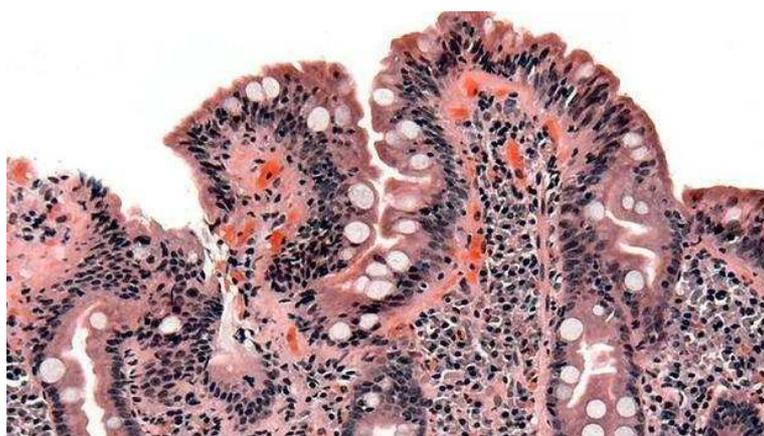


Figura 1.2 Hallazgos histopatológicos en intestino celíaco

El descubrimiento del anticuerpo antitransglutaminasa tisular humana, ha supuesto un gran avance en el diagnóstico y es el método serológico de elección para el

despistaje y seguimiento de la enfermedad celíaca, puesto que tiene un elevado valor predictivo, alta sensibilidad y especificidad, se puede realizar de forma cómoda y relativamente económica (Rodríguez *et al.*, 2015).

I.1.2. Prevalencia.

La EC es común a nivel mundial, su distribución es universal y afecta alrededor de 1:100 y 1:300 personas, tiene una prevalencia del 1% (menor en chinos y japoneses y mayor, hasta un 5%, en el África subsahariana) (Martínez *et al.*, 2015). Se ha reconocido que la enfermedad celíaca está mucho más extendida que antes, y con un predominio medio mundial de 1 de cada 266 personas, según datos estimados basados en estudios serológicos (estudios que nos han permitido conocer la existencia tanto de las formas latentes como de las silentes de EC) (Fasano & Catassi, 2001). La relación entre hombres y mujeres es 2:1, se presenta frecuentemente sin síntomas gastrointestinales, no hay diferencia sustancial entre los pacientes sintomáticos y los pacientes "no en riesgo" en todos aquellos países o áreas geográficas en los que se han realizado estudios epidemiológicos, la epidemiología de la EC tiene las características de un iceberg (Figura I.3). Son muchos más los casos que quedan sin diagnóstico (por debajo de la línea de flotación) que los casos diagnosticados (por encima de la línea). En Argentina se efectuó un estudio poblacional sobre muestras de suero de exámenes prematrimoniales en el área de La Plata, que arrojó una prevalencia de 1:167 (Gómez *et al.*, 2001), mientras que en un estudio con niños la prevalencia hallada fue de 1,26% (1/79 niños) diagnosticados por histopatología con predominio del sexo femenino (Mora *et al.*, 2012).

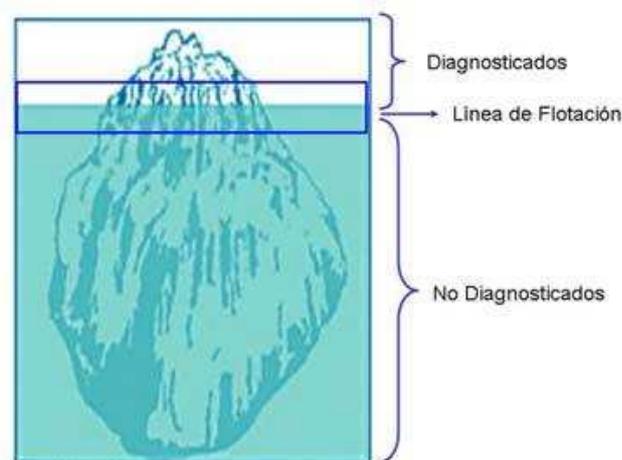


Figura I.3 El iceberg celíaco

Richard Logan publicó por primera vez el concepto del iceberg celíaco en 1991 (Figura I.3). Todos los expertos están de acuerdo en la imagen iceberg; la prevalencia aquí se refiere al tamaño total del iceberg, mientras que el área por debajo de la línea de flotación representa el número total de casos no diagnosticados en una población dada en un punto particular en el tiempo. El área por encima de la línea de flotación (punta del iceberg) representa el número de casos diagnosticados clínicamente. En Europa, por cada caso de enfermedad celíaca diagnosticados por sospecha clínica, habría muchos que quedan sin diagnosticar (ya sea porque estaban latentes, en silencio o mal diagnosticados) o asintomáticos (Bai *et al.*, 2005). Ahora se acepta que el tamaño total del iceberg es más o menos el mismo en todo el mundo, aunque el nivel de la "línea de flotación" puede variar de continente a continente (Bai *et al.*, 2007).

En nuestro país, se calcula que 1 de cada 100 personas es celíaca, es decir, habría 400.000 celíacos en Argentina, pero se comprobó que por cada celíaco diagnosticado, hay 8 que todavía no lo están, por lo tanto el número de individuos afectados sería mucho mayor (Ley Celíaca Argentina, 2009).

I.1.3 Tratamiento.

La dieta libre de gluten (DLG) es, hasta el momento, el único tratamiento disponible para la Enfermedad Celíaca (Gallagher *et al* 2004, Arranz, 2008) y, el retraso en el inicio de la misma (por falta de diagnóstico oportuno) puede asociarse a un aumento de la morbimortalidad de los pacientes niños o adultos. La adherencia total a la dieta libre de gluten disminuye el riesgo de estas complicaciones hasta igualar a los porcentajes de la población general. (Catassi, 2005; NICE; Presutti *et al*, 2007; Lauren *et al.*, 2005). La adhesión a la DLG elimina completamente los síntomas en el paciente y favorece el logro de una calidad de vida plena del mismo (Penagini, 2015).

La DLG además de resolver los síntomas, mejora las lesiones endoscópicas e histológicas en la mayoría de los casos. Se logra la mejoría del patrón endoscópico en 79% y su normalización en 31% con un mínimo de 6 meses de dieta. La recuperación histológica se reporta en 34% a los 2 años, 66% a los 5 años y 90% a los 9 años luego de iniciada la dieta (Murray *et al.*, 2008). Esta dieta, además, incrementa el peso corporal, mejora la densidad mineral ósea y reduce los riesgos de infertilidad, abortos

espontáneos, parto prematuro, recién nacidos de bajo peso, neoplasias y mortalidad (Rubio-Tapia *et al.*, 2013).

Una dieta libre de gluten excluye cualquier producto que lleve como ingrediente algunos de los cereales considerados como tóxicos (Tabla 2): trigo y sus especies (trigo duro, espelta o trigo verde o salvaje, kamet, cuscús), avena (por contaminación cruzada, principalmente por trazas de harinas de otros cereales), cebada, centeno y sus híbridos (triticale, obtenido de trigo y centeno). Las harinas adecuadas o toleradas son las de: arroz, maíz, mijo, sorgo, alforfón o trigo sarraceno, tapioca, almorta, amaranto, frijoles, ararais, quinoa. (Figura 1.4) (Rodrigo & Peña, 2013; Coronel Rodríguez & Guisado Rasco, 2011).

Ha sido un tema de debate en los últimos 50 años si la avena es o no segura para incluirse en una dieta sin gluten. Históricamente, la avena fue excluida categóricamente de la dieta, ya que se pensaba que la avenina (proteína de almacenamiento) también era tóxica para las personas con intolerancia al gluten. Sin embargo, investigaciones recientes en Europa y los Estados Unidos han puesto de manifiesto que cuando se consume con moderación, la avena es bien tolerada por la mayoría de los niños y adultos con enfermedad celíaca y no contribuyen a los síntomas abdominales, recaída serológica o de las mucosas, ni impide la cicatrización del intestino delgado (Hogberg *et al.*, 2004; Hollen *et al.*, 2006; Janatuinen *et al.*, 2000; Janatuinen *et al.*, 2002). Aunque hay inquietud con respecto a la contaminación de las avenas con trigo y cebada durante el procesamiento de los cereales (WOG, 2012).

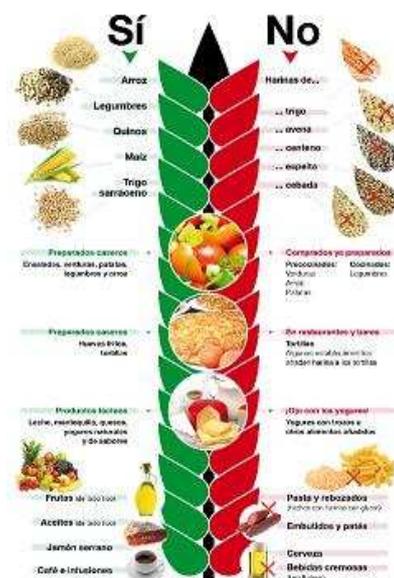


Figura 1.4 Alimentos aptos y no aptos para celíacos en forma de espiga (Asociación de Celíacos de Catalunya)

Tabla I.3 Los cereales, almidones y harinas que no están permitidos en una dieta libre de gluten (WGO, 2012)

<i>Cereales, almidones y harinas que contienen TACC</i>
Cebada
Salvado
Bulgur (trigo partido)
Cuscús
Harina Durum
Einkorn
Emmer
Farro
Glutem, harina con gluten
Kamul
Malta, extracto de malta, sabor malta, jarabe de malta
Avena, salvado de avena, jarabe de avena
Centeno
Semolina (harina durum)
Harina de escanda
Tricale (hibrido mezcla de trigo, salvado de trigo)

No debe iniciarse una DLG sin haber confirmado previamente el diagnóstico que lo justifique. La prescripción de esta dieta por la sospecha clínica o por el resultado de

los anticuerpos específicos elevados, es un error que se comete con frecuencia y lo único que se consigue es retrasar, enmascarar el diagnóstico de una posible EC o someter de forma innecesaria a personas no celíacas a los problemas que una DLG conlleva (Martínez *et al*, 2015).

El planteamiento de una dieta sin gluten no resulta fácil debido a que el gluten, por sus propiedades tecnológicas, confiere viscosidad, espesor y volumen a más del 70% de los productos alimenticios que existen en el mercado. Una dieta 100% libre de gluten es impracticable por la contaminación de muchos alimentos, pero un consumo menor a 10 miligramos de gluten al día es seguro (Akobeng & Thomas, 2008). Por lo tanto, leer el etiquetado es imprescindible para poder distinguir aquellos alimentos y aditivos sospechosos de contener gluten, no siendo suficiente la simple distinción entre productos que están permitidos y no permitidos (Sanz Cantalapiedra, 2017).

La reglamentación internacional obedece al Codex alimentarius, creado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la norma del Codex define un alimento como “sin gluten”, cuando tiene menos de 200 ppm = 20 mg de gluten (10 mg de gliadina) por 100 g de alimento. Pero el Codex no legisla, sólo recomienda. En Argentina, la ley 26.588 estableció en su artículo 4º que los productos alimenticios que se comercialicen en el país, y hayan sido clasificados “libres de gluten” deben llevar impresos en sus envases o envoltorios, de modo claramente visible, la leyenda “Libre de Gluten” o “Sin T.A.C.C.” El Código Alimentario Argentino contempla la categoría de alimentos libres de gluten en el Artículo 1383 del Capítulo XVII. Donde se establece como un único límite de 10mg/Kg de gluten, para que un producto sea considerado “libre de gluten” y por lo tanto, apto para su consumo por personas celíacas. Además, todo producto “libre de gluten – sin TACC” deberá llevar al menos uno de los dos logos usados en Argentina y que estén aprobados legalmente por el Estado Argentino y será analizado con la frecuencia que la reglamentación indique.(Figura 1.5). Todo producto cuya concentración de gluten supere el límite anterior, deberá estar rotulado como “contiene gluten”.



Figura 1.5 Logos "Libre de gluten" o "Sin TACC"

La existencia de un colectivo especial que requiere de productos que no contengan gluten es una realidad a nivel mundial. El 1% de la población mundial sufre de la enfermedad celíaca o de algún otro tipo de intolerancia al gluten (Catassi y Yachha 2009). En los últimos años, el creciente número de casos diagnosticados de celiaquía y la búsqueda de nuevos nichos comerciales por parte de las empresas, ha impulsado fuertemente el desarrollo de productos libres de gluten, cuya comercialización ha aumentado a un ritmo anual del 28 % en los últimos años (Calderón de la Barca *et al.*, 2010), por este motivo podría representar uno de los más prósperos dentro del campo de los alimentos y bebidas en un futuro inmediato (Miranda *et al.*, 2014).

En Argentina ésto se ha visto impulsado por la entrada en vigencia a fines de 2009 de la ley 26.588 que protege a los celíacos garantizando el acceso a los alimentos libres de gluten. Sin embargo, estos productos presentan, en general, unas características organolépticas menos aceptadas por el público (Gallagher *et al.*, 2004; Ylimaki *et al.*, 1991). Otra desventaja de estos productos es su mayor precio, debido al mayor costo de alguno de los ingredientes que lo componen y a la baja rotación de estos productos. Hoy en día, por lo tanto, los retos a los que se enfrenta la industria en este campo son la sustitución eficaz desde el punto de vista tecnológico de los ingredientes con gluten, sin que esto suponga un encarecimiento excesivo del producto; y la elaboración de productos con buena aceptación por parte del público. Sin embargo, la sustitución de harinas con gluten no es una tarea sencilla, ya que las características de ésta tienen una gran influencia en las propiedades del producto final. Aunque en la elaboración de galletas libres de gluten los problemas que provoca la ausencia de gluten en el pan, normalmente no se producen, debido a que el desarrollo de la red de gluten en galletas es mínimo y muchas veces no deseable (Gallagher *et al.*, 2004). Souza y colaboradores (1994), llegaron a la conclusión de que el contenido total de proteínas es más importante para la calidad de la galleta que la composición de las proteínas.

A diferencia del pan o el bizcocho, donde continuamente se investiga el desarrollo de alternativas para desarrollar un producto sin gluten, apenas se llevan a cabo estudios con galletitas que persigan el mismo objetivo (Picón Pineda, 2014).

I.2. Gluten

El gluten es un gel formado por las proteínas de almacenamiento del grano de trigo cuando se trabaja mecánicamente una mezcla de harina y agua. Está formado por un 80% de proteína y un 8% de lípidos, base sustancia seca, con un resto de hidratos de carbono y cenizas (Hoseney, 1986). También puede ser definido como la masa proteica gomosa que queda luego de lavar la masa de trigo para eliminar el almidón (Stern *et al.*, 2001). Según Codex Alimentarius (2008), se entiende por “gluten” una fracción proteínica del trigo, el centeno, la cebada, la avena o sus variedades híbridas y derivados de los mismos y que es insoluble en agua y en 0,5M NaCl y por prolaminas se entiende la fracción del gluten que puede extraerse con etanol al 40-70 %. La prolamina del trigo es la gliadina, la del centeno es la secalina, la de la cebada es la hordeína y la de la avena es la avenina. No obstante, es habitual referirse a la sensibilidad al gluten.

El gluten es una proteína de bajo valor nutritivo, cuyo uso se masificó debido a su capacidad de retener aire en la matriz proteica facilitando que la masa se adhiera mejor, fenómeno que favorece la elaboración del pan. Las gliadinas contienen la mayor parte de los componentes tóxicos para los celíacos, por lo general se considera que el contenido de prolamina del gluten es del 50 %.; son ricas en glutamina y prolina, cuya digestión en el tracto gastrointestinal es más difícil que el de otros péptidos (Shan *et al.*, 2002).

El consumo de gluten a nivel mundial pero sobre todo en Europa y América es muy alto, teniendo en cuenta que la harina de trigo, los cereales y sobretodo el pan son la base de nuestra alimentación. El gran consumo de gluten está asociado a la revolución industrial, con la elaboración del primer molino a vapor en el siglo XIX, fueron evolucionando los sistemas de panificación y se añade una nueva fase a la elaboración del pan: la aireación de la masa; aparece un nuevo tipo de levadura y surgen

técnicas mecánicas para amasar el pan. Con estas mejoras, la industria del pan va creciendo de manera rápida lo que contribuyó a aumentar la producción del pan y por ende su consumo. Es sólo a partir de la fabricación industrial de pan que se introdujo gluten en mayores cantidades para mejorar la calidad del producto; con esto los descendientes europeos fueron expuestos a cantidades de gluten considerable y progresivamente mayores y por ende en América ha ocurrido de igual manera en el último siglo (Belderok, 2000).

Se calcula que en 1977 la ingesta de gluten era 136 g/persona/año, mientras que en 2015 sería de 408 g/persona/año (Fardet, 2015).

I.2.1. Importancia tecnológica del gluten

Debido a la naturaleza única de su propiedad viscoelástica, el gluten ofrece un sinnúmero de propiedades funcionales para ser utilizado en sistemas alimenticios. Las propiedades funcionales del trigo son amplias, entre ellas se encuentran: la capacidad de desarrollar viscoelasticidad, la capacidad de formar películas, sus propiedades termoestables y su capacidad de absorción de agua (IWGA, 2018).

Ningún área de procesamiento de alimentos goza de mayores beneficios de la funcionalidad del gluten que la industria de la panificación. Las propiedades de viscoelásticas exclusivas del gluten de trigo mejoran la fuerza de la masa, la tolerancia al mezclado y a la manipulación. Su capacidad de formar película proporciona retención de gas y expansión controlada lo cual permiten mejorar el volumen, la uniformidad y la textura, sus propiedades termoestables contribuyen a la rigidez de la estructura necesaria y a las características de la mordida; su capacidad de absorción de agua mejora el rendimiento del producto horneado, permitiendo obtener productos más suaves, y con mayor vida útil (IWGA, 2018). Las proteínas del gluten juegan un papel primordial en la determinación de las características únicas del trigo durante el horneado, debido a que le confieren capacidad de absorción de agua, cohesividad, viscosidad, extensibilidad, elasticidad, resistencia al estiramiento, tolerancia al mezclado y capacidad de retener gas (Lazaridou *et al.*, 2007).

I.3. Galletitas

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

Las galletitas se pueden clasificar en función de distintos criterios como la textura o dureza del producto final, el cambio de forma en el horno, la extensibilidad de la masa, o las diferentes formas de tratar la masa (Manley, 1991).

En la Tabla I.4. se clasifican las galletas de acuerdo a la cantidad de agua, azúcar y grasa utilizada en la preparación de masas.

Tabla I.4 Clasificación de galletitas

<i>Tipo de masa</i>	<i>Tipo de galletitas</i>
Masa corta	Galletas Moldeadas Cookies Depositadas
Masa dura	Crackers Galletas Semi dulces
Masa líquida	Obleas Goteados

Masas Cortas.

- ✓ Gran cantidad de grasa y menor cantidad de agua.
- ✓ La grasa envuelve las partículas de harina, evitando su contacto con el agua y, consecuentemente la formación del gluten;
- ✓ Son blandas, levemente fragmentables, no elásticas y no extensibles.

Mezcla y batido en dos etapas, siendo la primera para emulsificar grasa y agua y permitir la solubilización del azúcar; y la segunda, después de la adición de harina, será

en tiempo mínimo para evitar la formación del gluten y no provocar gran aumento de temperatura en la masa.

Estas galletas tienden a aumentar el tamaño en longitud y ancho al ser horneadas, en lugar de encoger como ocurre con las crackers y semidulces. Este aumento de tamaño es el mayor problema para controlar el proceso.

Masas Duras.

- ✓ Gran cantidad de agua y poca cantidad de grasa.
- ✓ El agua entra en contacto con las partículas de harina y reacciona con las proteínas, formando el gluten.
- ✓ Son duras, extensibles y elásticas.

Masas Líquidas.

- ✓ El agua es el principal componente en la formulación.
- ✓ No forma una masa propiamente como tal, quedando fluida.

Normalmente no hay formación de gluten debido a la elección de la harina, mantiene bajas temperaturas en la mezcla, la homogenización se da a velocidades muy altas por poco tiempo.

Históricamente, se sabe que las galletitas surgieron cuando judíos que escapan de la esclavitud egipcia fueron demasiado apresurados para permitir que su masa leudara, "*matzoh*" fue el resultado. La galletitas son productos de baja humedad elaborados con harina, se los considera un alimento versátil y de consumo regular, por ello la importancia de satisfacer su necesidad en la población celíaca (Han *et al.*, 2010).

En Argentina, las galletitas entran dentro de la dieta diaria y están más consideradas como un alimento que como un *snack* para comer entre horas, que es lo que sucede en Europa. Las *crackers* entran tanto en el almuerzo y la cena como en el desayuno y la merienda (Lezcano, 2008).

I.3.1. Proceso

El proceso de elaboración de las galletitas tipo *crackers* consta de las siguientes etapas:

1. PESADO: Pesar las materias primas según la receta establecida, considerando que cualquier dosificación equivocada hace que la galletita adquiera características diferentes.

2. AMASADO: Esta operación tiene como objetivos:

- Dispersión de sólidos en líquidos, o de líquidos en líquidos;
- Formar una masa homogénea.
- Escaso desarrollo de gluten;

La calidad de la masa queda determinada por la receta, la naturaleza de los ingredientes utilizados y el grado hasta el cual estos ingredientes han sido mezclados. El resultado es una masa que tiene cualidades particulares de elasticidad y moldeabilidad, las cuales en conjunto constituyen lo que se llama consistencia. La consistencia es una propiedad de la reología (el estudio del flujo y deformación de la materia).

3. FERMENTACIÓN: tiene como objetivo

- Acondicionamiento de la masa
- Gasificación (escasa relevancia)
- Desarrollo de aroma y sabor

CONDICIONES:

Temperatura: 25 – 30°C

Humedad 70 – 80%

SISTEMAS.

- Directo
- Esponja

4. MEZCLAR LA MASA CON EL RESTO DE INGREDIENTES (para el método esponja).

5. SEGUNDA FERMENTACION (para el método esponja): Reposar nuevamente la masa dentro de la cámara de fermentación. Con relación a la temperatura es importante que la masa tenga una temperatura dos grados menor a la de la cámara de fermentación.

Durante la fermentación hay 2 reacciones bioquímicas principales que ocurren en la masa. La fermentación por lactobacilos (presentes naturalmente en la harina) y la fermentación por la levadura. Los productos de fermentación son alcohol y dióxido de carbono; el alcohol contribuye en el desarrollo del sabor y aroma, y el dióxido de carbono abastece a la masa una gran cantidad de aire que hace aumentar su volumen.

Como acción secundaria se alteran las propiedades físicas de la masa, especialmente la elasticidad del gluten, generada por la difusión y concentración del CO₂. Comúnmente esto es llamado de ablandamiento, maduración o acondicionamiento de la masa. Es bueno recordar que la fermentación excesiva traerá como resultados masas muy blandas o cortas.

Los parámetros claves que serán controlados en la fermentación son: tiempo, temperatura y humedad.

El tiempo y su control durante la fermentación es un factor muy importante, pues cuanto más aumenta el tiempo, más difícil es el control del peso de la *cracker* durante el proceso de fabricación.

6. LAMINACIÓN: Pasar la masa por los laminadores hasta que tome el espesor adecuado y además forme el corte de las galletas; lo cual no sólo le da el tamaño y la forma, sino también la impresión en la superficie.

Después de la fermentación la masa se introduce en el *sheeter* cuya función es compactar la masa para formar una hoja con espesor uniforme. Dentro del *sheeter* la masa se comprime y se trabaja para sacar el aire, siendo inevitable que se produzca cierta tensión en la estructura del gluten.

La nueva hoja de masa pasa por uno o más conjuntos de pares de rodillos que reducen el espesor hasta el necesario para el corte. La masa es llevada desde un par de rodillos al otro mediante bandas.

Durante dicha etapa la masa es sometida a diferentes tensiones, las cuales afectan el espesor de la masa que será cortada, esta variable depende del espesor que se obtiene en el último rodillo y de la etapa de pliegue. El espesor al que se corta la masa es un factor determinante en el peso de la galleta, sin embargo, la razón principal de regular la tensión es controlar la dimensión de la galletita horneada.

La masa laminada que está bajo tensión en el momento del corte produce galletitas que presentan un largo menor y tienden a ser más gruesas en la parte posterior o anterior.

El proceso de corte no produce sólo la forma y tamaño del producto, sino también la impresión en la superficie y hoyos. Es necesario estar seguro de que las galletitas cortadas se adhieran preferentemente a la lona de corte y no al rodillo cortador.

La adherencia en la lona de corte tampoco debe ser muy fuerte o de lo contrario será difícil transferir las galletitas cortadas a la próxima banda.

7. COCCIÓN: Durante la cocción se producen tres variaciones importantes:

a) Una gran disminución de la densidad del producto unida al desarrollo de una textura abierta y porosa. Aunque estas alteraciones se producen a medida que el producto va pasando por el horno son cambios considerables; por lo que es importante consideradas por separado.

Éste tiene lugar en el primer cuarto del horno. Las alteraciones son muy complejas. Los fenómenos internos que probablemente ocurren en el producto son:

- Calentamiento del almidón y de las proteínas hasta los niveles en los que tiene lugar el hinchamiento, gelificación y desnaturalización.

- Liberación de gases de los leudantes químicos.

- Expansión de las burbujas de esos gases, como resultado del aumento de temperatura que también hace aumentar la presión de vapor que hay dentro de ellas.

- Ruptura y coalescencia de alguna de estas burbujas.

- Pérdida de vapor de agua de la superficie del producto, seguida por la migración de la humedad hacia la superficie y escape a la atmósfera del horno.

- Elevación de la temperatura con el aumento de la concentración del azúcar en la disolución.

- Reducción de la viscosidad de la disolución del azúcar y de la grasa, por el aumento de la temperatura.

Se observará que los fenómenos más importantes se centran alrededor de la formación de burbujas de gas y de su expansión en un medio que al principio se hace más blando y más flexible, seguido por un endurecimiento (Manley, 1983).

b) Reducción del nivel de humedad

Lo ideal sería que la pérdida de humedad se produjera después de consolidada la estructura, pero esto obviamente, es imposible de conseguir. La humedad sólo se puede eliminar desde la superficie de la pieza, por lo que es necesario el fenómeno de migración del interior a la superficie por capilaridad y por difusión. Ambos fenómenos se aceleran con los gradientes de temperatura, por lo que, en esta etapa de la cocción, es necesario el rápido calentamiento del producto a 100°C. Si se calienta demasiado la superficie, la sequedad llega a ser excesiva y se producen coloraciones, por tanto, se impone una limitación.

Al ir perdiendo humedad en el almidón y los geles de proteína, se produce alguna contracción, y por tanto es inevitable la pérdida parcial del crecimiento del producto. En la mayoría de los casos esto es de poca importancia, comparado con el colapso de la estructura interior debido a rupturas de las burbujas de gas, pero es bueno tener en cuenta que continuará la contracción incluso hasta que la galleta se haya chamuscado por completo si continúa el calentamiento.

A medida que el gradiente de humedad a través de la pieza de masa va aumentando, aumentan las tensiones. Estas tensiones, pueden producir grietas al enfriarse la galleta y se establecerá la condición denominada “*checking*” (se conoce así, en las industrias galleteras, al cuarteamiento de las galletas), que traerá consigo fracturas. El problema se puede eliminar si se seca la galleta más lentamente o si reduce el contenido total de humedad hasta niveles suficientemente bajos.

c) Cambio en la coloración de la superficie.

Los cambios de color son debido a una serie de motivos. La reacción de Maillard implica la interacción de azúcares reductores con proteínas y produce tonos pardo-rojizos atractivos. Esto se produce hacia los 150-160°C.

El exceso de álcali, generalmente producto del exceso de bicarbonato de sodio agregado en la receta producirá coloración amarillenta en toda la estructura de la galleta y esto resulta poco atractivo si no está presente otra coloración.

8. ENFRIAMIENTO: Enfriar las galletitas hasta que estén frías, evitando el incremento de humedad en la galleta por un excesivo enfriamiento y defectos en el empaque.

El enfriamiento debe ser considerado como una parte importante de la producción de galletitas, ya que algunos de los problemas más relevantes de la fabricación pueden ser originados por un enfriamiento incorrecto.

Cuando las galletitas salen del horno tienen una temperatura elevada, están blandas y siempre húmedas. De esta forma se producen varios cambios durante el enfriamiento:

a. El azúcar y la grasa se fundieron durante la cocción. Si el producto tiene una gran proporción de grasa y azúcar, la estructura será flexible hasta el enfriamiento y solidificación de los ingredientes.

b. La humedad se sigue perdiendo a medida que la galleta se enfría.

Se debe estudiar bien el tiempo de enfriamiento, porque si es excesivo la galleta comienza a absorber humedad de la atmósfera y se marchita; si el tiempo es corto se pueden producir defectos en el empaque, olores de solventes, así como alta humedad.

Las principales condiciones de enfriamiento son:

- a. Un sistema de transporte con lonas para permitir que la superficie de la galletita quede expuesta a la atmósfera.
- b. Dar vuelta a la galletita para que se enfríe tanto en su superficie superior como en la inferior.
- c. Evitar el cuarteamiento de la galletita. Si el enfriamiento es irregular, la salida de la humedad también será irregular.
- d. Antes de envasarlas galletitas, la temperatura deberá ser de aproximadamente 30°C para evitar la condensación dentro del empaque.

Se usan varias bandas para transportar las galletitas durante el enfriamiento. Las bandas de enfriamiento están diseñadas para tener velocidades superiores que la banda del horno, lo que permite una separación mayor de las galletas. Es importante tener por lo menos un punto de transferencia en el sistema de bandas para dar vuelta la galleta y de esta forma enfriarla por ambos lados.

9. ENVASADO

Las galletitas deben ser envasadas en el material adecuado, que le de protección y preservación a la misma.

Las funciones del envasado son:

- Proteger contra la contaminación y fragmentación durante el transporte. Preservar la humedad del producto, normalmente es menor a la humedad ambiente. De esta forma se necesita una barrera que envuelva el producto para evitar que absorba humedad.

I.3.2. Formulación

La formulación de las galletitas *crackers* es simple: harina, grasa, agua y sal. Se fermenta siempre con levadura y se extiende la masa antes de cortar y hornear. La acción combinada de la modificación proteica de la harina -producida por la fermentación-, y la película que se origina al laminar la masa, -normalmente con

inclusión de harina engrasada de relleno entre cada laminado-, da lugar a las características texturales de estas galletitas (Lescano, 2015). A continuación, y según Cárdenas (2008), se detalla la importancia que tiene cada una de las materias primas dentro del proceso según su influencia, y además se describirá su forma de acción durante la elaboración de las galletitas *crackers*.

- Importancia de la harina en el proceso.

La harina, es una materia prima muy importante porque entre sus componentes como el almidón y las enzimas sobresale el gluten.

El gluten es un complejo proteico que al hidratarse adquiere propiedades simultáneas de elasticidad y extensibilidad. Estas características físicas se las puede relacionar con las de un *chicle*.

La mayor parte del gluten está constituido por gliadina, que le da la fuerza a la masa y la glutenina que le da la elasticidad; éstos son factores preponderantes en la selección del trigo y en el proceso de extracción de la harina.

La variación del porcentaje de gluten va directamente proporcional con la variación de absorción de agua, motivo por el cual este elemento es motivo de análisis en este estudio, en el que analizaremos los efectos que puede causar en el proceso debido a las variaciones en los productos anotados.

- Importancia de las grasas en el proceso.

Siendo uno de los tres principales ingredientes en la fabricación de galletas, la grasa desempeña los siguientes papeles:

- Lubricante
- Ablandador
- Saborizante
- Controlador de Expansión
- Distribuye uniformemente los aromas

Lubrica el gluten de la harina y garantiza la expansión del aire sin ruptura y de esta forma mejora la textura de la galletita.

El volumen y la estructura de las galletas son determinados por dos factores claves. Ellos son: la cantidad de aire incorporado en la masa durante el mezclado y la expansión posterior de este aire durante el cocimiento.

La presencia de grasa en la galleta garantiza que las burbujas de aire se expanden sin romperse contribuyendo en la creación de la estructura de la galleta.

- Importancia de la sal.

La sal se utiliza en casi todas las recetas de galletas por su sabor y por su propiedad de potenciar el sabor.

En masas con mucho desarrollo de gluten, tipo *cracker*, la sal endurece el gluten y produce masas menos adherentes. Retrasa la velocidad de fermentación y también inhibe la acción de las enzimas proteolíticas sobre el gluten.

- Importancia de la levadura.

Es utilizada en todas las industrias de galletitas, la principal función de la levadura en la elaboración de las galletas es acondicionar la proteína (gluten) de la harina.

Combinar una cierta cantidad de ingredientes junto con la levadura siempre producirá los siguientes resultados:

- Formación de dióxido de carbono dando a la masa una gran cantidad de compartimentos celulares.
- Producción de alcoholes y ácidos que contribuyen al desarrollo del sabor y aroma.
- Como acción secundaria, la levadura altera las propiedades físicas de la masa, especialmente la elasticidad del gluten, por su acción de estiramiento generada por la difusión y concentración del CO₂ comúnmente llamado ablandamiento, maduración o acondicionamiento de la masa. Se recomienda tener en cuenta que la fermentación excesiva traerá como resultados masas muy blandas.

- Importancia del bicarbonato de sodio.

Es considerado un leudante químico, reacciona ante el agua. Sin embargo a nivel industrial produce un efecto neutralizador.

La falta de gluten en productos horneados supone un reto para los científicos y tecnólogos de alimentos, y para la industria alimentaria, ya que las harinas libres de gluten son incapaces de formar una masa viscoelástica con una funcionalidad acorde con las necesidades tecnológicas de sus procesos de fabricación (Arendt *et al.*, 2008). Este es uno de los problemas potenciales en el manejo de masas sin gluten, que en los últimos años se ha mejorado con el uso de ingredientes que intentan imitar las propiedades físico-químicas del gluten como gomas, hidrocoloides, ingredientes a base de proteínas y emulsionantes o el uso de nuevas tecnologías como el procesado

enzimático, altas presiones hidrostáticas o la tecnología de extrusión (Deora *et al.*, 2014; Matos & Rosell, 2014).

En la elaboración de galletitas libres de gluten los problemas que provoca la ausencia de gluten en el pan, normalmente no se producen, ya que el desarrollo de la red de gluten en galletitas es mínimo y muchas veces no deseable (Gallagher *et al.*, 2004). Sin embargo, el gluten ejerce un efecto sobre la masa y las propiedades de la galleta que implica que su ausencia modifique la reología y características de la galleta final.

I.3.3. Calidad de la galletita

La calidad de la galletita se puede resumir en dos términos generales. La primera son las dimensiones de la galletita (tanto el diámetro como el espesor), considerándose el diámetro un parámetro importante de calidad (Hoseney, 1994). El diámetro de la galletita final está determinado por la velocidad de expansión de la masa y el tiempo en el que la masa deja de expandirse durante el horneado. La expansión de la masa parece estar controlada por la viscosidad de la misma, que a su vez, está determinada por una competencia por el agua disponible (Hoseney y Rogers, 1994).

La segunda característica que determina la calidad de la galletita es la sensación de mordida de la galleta, que incluye la textura. Una galletita de buena calidad debe quebrarse con facilidad (Hoseney, 1994). Bourne (1968) fue el pionero en adaptar una máquina (Instron) para el análisis del perfil de textura. Los parámetros que se verifican en éste análisis de textura son: Dureza, Fracturabilidad, Elasticidad, Cohesividad, Adhesividad, Gomosidad y Masticabilidad.

I.4. Harinas y almidones sin gluten

La eliminación del gluten aumenta la importancia del papel del almidón para proporcionar estructura y textura en los productos de panadería, bollería y galletería sin gluten. Esto es debido a que los ingredientes principales en este tipo de elaboraciones son almidones y harinas libres de gluten, provenientes de diferentes orígenes botánicos, en las que el almidón es el componente principal, así como el maíz, el arroz y la soja

(Pruska-Kedzior *et al.*, 2008; Renzetti *et al.*, 2008; Ribotta *et al.*, 2004; Sivaramakrishnan *et al.*, 2004). La utilización de estas ha sido evaluada, con la finalidad de ofrecer productos con características tecnológicas y sensoriales semejantes a las suministradas por el trigo (Sánchez *et al.*, 2002).

La imposibilidad de estos almidones y harinas sin gluten de formar una fase continua y estructura de masa cuando son mezcladas con el agua (Pedrosa Silva Clerici & El-Dash, 2006), es debido a la falta de propiedades viscoelásticas que solo poseen las proteínas formadoras de gluten presentes en el trigo (Torres *et al.*, 2006), y que son responsables de la elasticidad, la extensibilidad, la resistencia al estiramiento y de la tolerancia al amasado. Así, el reemplazo de gluten por el almidón causa un desafío al tecnólogo de cereal principalmente del punto de vista estructural (Gallagher *et al.*, 2004).

Aunque estas fuentes de almidón mencionadas se pueden usar de forma separada, ya sea en forma de harina o de almidón, la mayoría de los estudios en los que se desarrollan productos sin gluten realizan mezclas de diferentes harinas (Torbica *et al.*, 2012) o mezclas de harinas y almidones (Sánchez *et al.*, 2002).

En general, la funcionalidad de las harinas depende principalmente de su tamaño de partícula, de la distribución de las mismas (Houben *et al.*, 2012), de su composición química así como de los posibles tratamientos sufridos (Witczak *et al.*, 2016).

El almidón es quizás el polímero natural más importante que existe y es la mayor fuente de energía obtenida de varias plantas. Se encuentra en las semillas de cereales (maíz, trigo, arroz, sorgo), en tubérculos (papa), en raíces (yuca, batata, arrurruz), en semillas de leguminosas (frijoles, lentejas, guisantes), frutas (bananas y manzanas y tomates verdes), troncos (palma sago) y hojas (tabaco). (Aristizábal & Sánchez, 2007). Se compone de dos tipos de moléculas, amilopectina y amilosa. En ambos casos, el bloque de construcción es un residuo de glucosa (α -D-glucopiranososa), formando una estructura lineal de enlaces α -1,4- glicosídicos en la amilosa y ramificaciones adicionales α -1,6-glicosídicos en las moléculas de amilopectina. Las diferencias en la estructura de ambos polímeros resultan en una variación significativa

en sus propiedades. La amilosa es mucho más propensa al proceso de cristalización, llamado retrogradación, y puede formar geles duros y películas fuertes, mientras que la amilopectina puede ser dispersada en agua y retrograda mucho más lentamente, lo que se traduce en geles suaves y películas débiles. El contenido de amilosa y amilopectina, temperatura de gelatinización, consistencia de gel y textura, comportamiento viscoso y propiedades térmicas, permite su utilización en la industria alimenticia como estabilizante, agente de relleno, adhesivo, ligante, enturbiantes, formador de películas, estabilizante de espumas, agente de antienviejecimiento de pan, gelificante, glaseante, humectante y espesante (Singh *et al.*, 2005).

Las propiedades funcionales de los almidones dependen directamente de la relación amilosa / amilopectina. Ésta son las siguientes: solubilidad, capacidad de retención de agua, hinchamiento, tendencia a retrogradar, propiedades de la pasta (viscosidad, consistencia, estabilidad del gel, claridad y resistencia al corte, formación de película), digestibilidad enzimática y capacidad de emulsificación. Las propiedades de los productos finales e intermedios a base de almidón son, en gran parte, determinadas por las propiedades del almidón utilizado en la receta. El origen y el tipo de almidón ejercen una influencia en la microestructura, la reología de la masa, la retención de agua y la estructura y calidad de los productos finales. De este modo, el tamaño de gránulo de almidón, su capacidad de absorción de agua y la solubilidad del mismo, juegan un papel importante en las propiedades finales de los productos a base de almidón. También son de gran importancia la capacidad de gelatinización y gelificación del almidón, las propiedades reológicas de la pasta y gel, y la capacidad de la amilosa para formar un complejo con las grasas y los emulsionantes de alimentos (Witczak *et al.*, 2016).

Durante el tratamiento hidrotérmico, el almidón sufre una serie de modificaciones que van a influir en su estructura, pasando por tres fases importantes: la gelatinización, gelificación y retrogradación, los cuales causan el hinchamiento, hidratación, fusión y ruptura de los gránulos de almidón (Aristizábal and Sánchez, 2007).

I.4.1. Harina de arroz

La harina de arroz es una de las harinas más adecuadas para la elaboración de productos horneados sin gluten, y la más utilizada (Sánchez *et al.*, 2008) debido a sus propiedades hipoalergénicas, su alta digestibilidad, su bajo contenido de sodio, su sabor suave y su apariencia pálida (Torbica *et al.*, 2012). Y a su bajo contenido en prolaminas (Gujral & Rosell, 2004).

Athapol *et al.* (1997) trabajando con harinas procedentes de distintos cultivares de arroz en la elaboración de galletas tipo *crackers* para enfermos celíacos, encontraron que los productos eran aceptables pero con una tendencia a la disminución del volumen y al aumento de la dureza de las mismas como consecuencia del tiempo de almacenamiento de dichos cultivares.

Sensorialmente las galletas elaboradas con harina de arroz poseen un color pálido, que se puede corregir adicionando lecitina de soja, que además mejora la manejabilidad de las masas, la textura y la vida media del producto final (Citado en León & Rossel, 2007).

I.4.2. Almidón de mandioca

Una opción para la elaboración de panificados es la utilización de fécula de mandioca proveniente de la raíz de la planta *Manihot esculenta*, también conocida como yuca, tapioca, *cassava* o comúnmente mandioca. Es uno de los alimentos más importantes cosechados en suelos donde hay baja disponibilidad de nutrientes, siendo capaz de sobrevivir en condiciones de sequía (Burrell, 2003). Su origen se remonta a regiones del noreste, suroeste y centro de Brasil y México, a partir de donde se extendió a regiones tropicales y subtropicales del mundo (África, Caribe, etc.); también es un producto característico de la zona de Misiones, Argentina. Es excelente porque crece bajo condiciones subóptimas, ofreciendo la posibilidad de usar tierras marginales para aumentar la producción agrícola (Cock, 1982). La composición de la raíz de mandioca es: humedad 70 %, almidón 24 %, fibras 2 %, proteínas 1 % y otras sustancias, incluidas minerales 3 %, produciendo un 40 % más de carbohidratos que el arroz y un 25 % más que el maíz (Tonukari, 2004). Como su costo de producción es bajo y posee

un nivel alto de calorías, es utilizada para la alimentación de humanos y animales. En la provincia de Misiones existen más de 10 fábricas procesadoras de fécula de mandioca y a pesar de ello su uso está escasamente difundido, utilizándose únicamente para recetas regionales, como la elaboración de “chipá” (Milde, *et al.*, 2009).

El almidón de mandioca es la segunda fuente de almidón en el mundo después del maíz, pero por delante de la papa. Sus gránulos no son uniformes en tamaño, forma se presentan redondos con terminales truncados, un núcleo bien definido y su tamaño varía entre 4-35 μm con un promedio de 20 μm , su contenido de proteína es bajo en comparación al de otros almidones, en el almidón de yuca el porcentaje es cercano al 0.1%. Así mismo contienen pequeñas cantidades de lípidos y esto es una ventaja ya que los lípidos presentes en los almidones forman un complejo con la amilosa la cual reprime el hinchamiento, produce problemas como la rancidez en el proceso de almacenamiento (Aristizábal & Sánchez, 2007).

Se usa principalmente sin modificar, es decir como almidón nativo, pero también es usado modificado con diferentes tratamientos para mejorar sus propiedades de consistencia, viscosidad, estabilidad a cambios del pH y temperatura, gelificación, dispersión y de esta manera poder usarlo en diferentes aplicaciones industriales que requieren ciertas propiedades particulares.

I.4.3. Almidón de maíz

El almidón de maíz es un carbohidrato de reserva, de la producción mundial de almidón, aproximadamente el 83% es obtenido del maíz. La amilopectina es el principal componente del almidón, presente en un 75%, siendo el 25% correspondiente a la amilosa (Tovar, 2008). La estructura de los gránulos de almidón de maíz es redonda poligonal, con un diámetro entre 5-30 μm , la relación amilosa- amilopectina es de 25 - 75%, su temperatura de gelatinización varía entre 62-72°C, su temperatura de gelificación es de 80°C (Aristizábal y Sánchez, 2007).

1.4.3.a Almidón de maíz pregelatinizado

Los gránulos de almidón son tratados química, física y bioquímicamente para causar la ruptura de algunas o todas las moléculas. La modificación del almidón permite realzar o inhibir propiedades como consistencia, poder aglutinante, estabilidad a cambios en el pH y temperatura y mejorar su gelificación, dispersión o fluidez. Las principales modificaciones son la degradación, la pregelatinización y la derivatización.

Los almidones pregelatinizados son útiles cuando se requiere que el producto pueda ser reconstituido en agua fría. La estructura del gránulo de almidón se rompe por cocción del almidón nativo y posterior secado en tambores rotatorios o por extrusión lo que permite su empleo en alimentos de preparación rápida, flanes, rellenos y salsas. En adhesivos se utiliza para laminar papel aluminio a papel o cartón, pero su secado es lento dado su bajo contenido de sólidos (Aristizábal & Sánchez, 2007).

La modificación química de los almidones constituye una de las alternativas más importantes a la hora de producir polímeros biodegradables, modificando las propiedades de los biopolímeros naturales originales (Jaspreet *et al.*, 2007).

1.5. Hidrocoloides

Los hidrocoloides son polisacáridos solubles en agua con una estructura química diversa y que presentan un amplio rango de propiedades tecno-funcionales en función del tipo de hidrocoloide por las que son ampliamente utilizados en la industria alimentaria (Mir *et al.*, 2016). Se utilizan para una variedad de propósitos con el fin de sustituir el gluten en las formulaciones sin gluten: como gelificantes, para optimizar la textura y la retención de agua en el producto (Norton & Foster, 2002).

Los hidrocoloides cumplen dos funciones básicas en los sistemas alimentarios: estabilizar el producto y mejorar la textura. Es decir, la estabilización del producto se refiere a prevenir que se produzcan cambios físicos en el mismo causados tanto por la separación de sus componentes en el tiempo posterior a su elaboración, como a las condiciones del procesamiento, tales como las altas temperaturas. En cuanto a la textura, los hidrocoloides influyen en las características del producto terminado. (Hoefler, 2004). Numerosos estudios han usado una gama de gomas para hacer

productos de panadería libres de gluten a base de almidones (Gallagher et al., 2004; Lazaridou *et al.*, 2007).

La goma xántica y la goma guar son algunos hidrocoloides que pueden ser añadidos a las masas libres de gluten. La estructura molecular de estos dos polisacáridos está bien documentada en la literatura (BeMiller & Whistler, 1996).

El comportamiento pseudoplástico de goma xántica es importante en productos de panadería durante la preparación de masa. Las interacciones entre la goma xántica y la goma guar también pueden ejercer efectos sinérgicos, que dependen de factores diferentes como la proporción xántica/guar, mezclando la fuerza de temperaturas e iónica (BeMiller & Daniels, 2002; Khouryieh *et al.*, 2006; Quintana *et al.*, 2002). Esta propiedad puede mejorar la viscosidad ya que mejora el manejo de masa.

Es importante tener especial cuidado con las interacciones hidrocoloide-almidón, ya que son altamente dependientes del tipo de hidrocoloide seleccionado (Gularte & Rosell, 2011).

I.6. Mejoramiento nutricional

La creciente demanda de productos libres de gluten ha favorecido el desarrollo de numerosos productos de panadería buscando imitar las características de calidad de sus homólogos elaborados con trigo. Sin embargo, en dichos desarrollos ha primado la calidad tecnológica y se han obviado otros aspectos como el nutricional (Matos Segura, 2013).

En un estudio italiano, las galletas y algunos dulces etiquetados “sin gluten” contenían 20% más de grasa, incluso, algunos con grasa saturada (Mazzeo *et al.*, 2014). Además, los productos con dicha etiqueta tienen menos vitaminas y minerales o, por lo común, menos proteína que aquellos con trigo. Esto se debe a que las harinas de trigo, por ley, deben estar fortificadas con vitaminas y minerales; así también debieran fortificarse los alternativos sin gluten, pero no se hace (Estévez *et al.*, 2016). En la mayoría de los casos, productos disponibles en el comercio sin gluten no son

fortificados (Niewinski, 2008) y contienen niveles inferiores de algunas vitaminas B, hierro, folatos y fibra dietética cuando se lo compara con sus análogos con gluten (Thompson, 2000; Yazynina *et al.*, 2008). Existen pruebas clínicas que indican que existe malabsorción de varias sustancias nutritivas importantes asociado con la enfermedad celíaca (Feighery, 1999; Sabry & Okada, 1992), el consumo riguroso de productos disponibles en el comercio libre de gluten puede aún empeorar la dieta, ya desequilibrada, de pacientes celíacos (Mariani *et al.*, 1998). Estévez y colaboradores al analizar la canasta básica de los productos sin gluten en Chile, encontraron que los productos convencionales con trigo, como panes y pastas, tienen 24% más de proteína que sus contrapartes libres de gluten (Estévez *et al.*, 2016).

Varios aditivos y combinaciones de diferentes ingredientes nutritivos han sido investigados y actualmente son usados en formulaciones de productos libres de gluten para mejorar tanto calidad tecnológica como alimenticia.

La incorporación de harina de soja y de concentrado proteico de suero de queso producen modificaciones en las propiedades físicas cuando se incorporan a la masa del pan, este hecho no alcanza para evitar la posibilidad de lograr un proceso aceptable de panificación y mejorada característica nutricional (Visentin *et al.*, 2009). En cambio, la incorporación de harina de soja a galletitas dulces tipo *cookies* permite un aumento de la calidad de proteína resultante, mientras que el agregado de concentrado de suero de queso produce un aumento del contenido proteico pero genera una importante disminución de la calidad de estas proteínas debido a la pérdida de disponibilidad de lisina. (Pérez *et al.*, 2013). El enriquecimiento de galletas de harina de arroz con harina de soja (25%) permite aumentar el valor proteico con reducido costo y además mejorar las características sensoriales (Jaekel *et al.*, 2004).

I.6.1. Harina de soja

La harina de soja (HS) se obtiene a partir de la torta residual en el proceso de extracción de aceite, la que es sometida a un proceso de desolventización-tostado y posterior secado, enfriamiento, reducción del tamaño de partícula y tamizado. De esta forma se obtiene un producto libre de solvente y con los factores antinutricionales (factores antitripticos) inactivados (Puppo *et al.*, 2007).

Pese a ser nuestro país uno de los primeros exportadores mundiales de soja y derivados, el consumo interno de la harina de soja para la alimentación humana es insignificante. La soja es considerada tradicionalmente como una fuente de aceite para uso humano o industrial, y la harina residual seca rica en proteínas se identifica principalmente como una fuente de proteína para la alimentación animal, dado su alto contenido de proteínas (40 a 55 %) (Rodríguez *et al.*, 2004).

La harina es el producto de menor procesamiento, desde el momento en el que la quenada se remueve, excepto la grasa, su contenido de proteína es ligeramente más elevado comparado con el de la materia prima inicial (Luna Giménez, 2006).

A nivel mundial, se está poniendo un gran énfasis en el uso de los derivados de soja, no solamente en el uso del aceite, sino también en la utilización de la harina como fuente de proteína de excelente calidad para uso humano (Rodríguez *et al.*, 2004). Ya que se pueden obtener distintos tipos de productos, las denominadas harinas y sémolas con alto contenido de materia grasa y harinas y sémolas desgrasadas. Las primeras contienen 40 % de proteínas y se obtienen por molienda de cotiledones descascarados; las segundas poseen entre 52 y 54 % de proteínas y son preparadas a partir de la extracción con solventes de escamas provenientes de granos de soja descascarados. En el mercado existen harinas con alto contenido de materia grasa, o desgrasadas enzimáticamente activas, o con diferente solubilidad en agua. El diferente grado de solubilidad es función de las condiciones de tratamiento térmico a las que se somete este tipo de productos para inactivar la acción de la lipooxigenasa y así minimizar el desarrollo de sabor a poroto (Puppo *et al.*, 2007).

Desde el punto de vista tecnológico, la funcionalidad de las harinas de soja se relaciona con la propiedad que tienen sus proteínas en relación a la capacidad de absorción de agua y grasa, y de pegajosidad. Estas propiedades dependen del grado de desnaturalización que tengan estas proteínas y en menor medida, del tamaño de partícula. La funcionalidad es mayor en productos no tostados y se reduce en proporción al grado del tratamiento térmico. Las harinas de soja con más proteínas, más dispersables (alto índice de nitrógeno soluble o índice de dispersibilidad de proteína), son usadas en productos de panadería, siendo agregadas directamente a la masa (Endres, 2001).

I.6.2. Concentrado de proteínas del lactosuero

Aproximadamente 90 % de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada como lactosuero el cual retiene cerca de 55 % del total de ingredientes de la leche: sales minerales (8-10 % de extracto seco), lactosa (4,5-5 % p/v), lípidos (0,4-0,5 % p/v) y proteínas solubles (0,6-0,8 % p/v) (Parra Huertas, 2009).

Las proteínas del lactosuero no constituyen la fracción más abundante, pero es la más interesante en los terrenos económico y nutricional. Contiene una rica y variada mezcla de proteínas que poseen amplio rango de propiedades químicas, físicas y funcionales. Sus principales componentes son la β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina, además, contiene otras proteínas como lactoferrina, lactoperoxidasa, inmunoglobulinas y glicomacropéptidos (Hinrichs *et al.*, 2004; Baro *et al.*, 2001). Las proteínas de este subproducto de la industria quesera desempeñan un importante papel nutritivo como una rica y balanceada fuente de AAes (Ibrahim *et al.*, 2005; Ha & Zemel, 2003), con un alto valor biológico (por su contenido en lisina, leucina, triptófano y aminoácidos azufrados), similar a las proteínas del huevo, encontrándose que lisina y leucina son los aminoácidos que se presentan en mayor cantidad. Además, ejercen efectos biológicos y fisiológicos *in vivo*, potenciando la respuesta inmune, tanto humoral como celular (Parra Huertas, 2009).

Esta proteína concentrada de suero es un subproducto de la elaboración de queso, donde se separan las proteínas insolubles que forman el producto principal de las solubles que forman el suero, con aproximadamente un 90% de agua. Este suero a través de técnicas como la ultrafiltración se convierte en concentrado proteico de suero, que es aprovechado por diferentes industrias alimenticias (Visentín *et al.*, 2009).

La ultrafiltración, consiste en una membrana semipermeable, la cual selectivamente permite el paso de componentes de bajo peso molecular como agua, iones y lactosa, mientras que retiene elementos de alto peso molecular como las proteínas. El retenido es concentrado por evaporación y liofilizado (Muñi *et al.*, 2005). Tanto los concentrados como los aislados de suero de queso (poseen desde 35% a 90% de proteínas) se usan como ingredientes en alimentos por algunas de sus propiedades funcionales (Visentín *et al.*, 2009).

El WPC contiene entre 20 % y 89 % de proteínas, siendo el WPC con 35 % el producto más común en el mercado (Foegeding & Luck, 2002). Por otra parte, los aislados de proteínas del lactosuero presentan un contenido proteico superior al 90 %, el cual sólo puede ser alcanzado con la disminución de la grasa y del contenido de minerales, mediante etapas extras a la ultrafiltración (Smithers, 2008). Por su composición, las propiedades funcionales de los aislados son superiores a las del WPC y puede ser incluido en productos tales como: alimentos bajos en grasa, deslactosados, fórmulas médicas infantiles y en alimentos para deportistas. Sin embargo, las ventajas de emplear WPC son económicas y sensoriales (Lucena *et al.*, 2007; Surh *et al.*, 2006).

La concentración promedio de proteínas en el suero del queso es de aproximadamente 6 g/L. Si estimamos que en 2008 en Argentina se procesaron con destino a quesos en el orden de 4200 millones de litros de leche anuales, se habrían generado unos 3800 millones de litros de suero y en consecuencia un volumen total de proteínas que rondaría las 23000 toneladas (Schaller, 2009). Esta simple exposición justifica ampliamente que se preste atención a las posibilidades de aprovechamiento de este subproducto.

El WPC es definido por el Código de Estados Unidos de Regulaciones Federales como la sustancia obtenida por la eliminación de suficiente constituyente no proteico a partir de lactosuero para que el producto seco final contenga no menos del 25% de proteína. La mayoría de los WPC en el mercado contienen 34-35% (Parra Huertas, 2009).

Los WPCs conteniendo aproximadamente 35 % de proteína son utilizados en la elaboración de yogur, queso procesado, bebidas (Foegeding & Luck, 2002), salsas, fideos, helados (Muñi *et al.*, 2005), derivados lácteos, carne, formulaciones infantiles y productos de panadería, debido a las propiedades funcionales excelentes de sus proteínas y sus beneficios nutricionales (Visentín *et al.*, 2009; Pérez *et al.*, 2008; Díaz *et al.*, 2004; Foegeding & Luck, 2002).

Las propiedades nutricionales y funcionales que presentan las proteínas del lactosuero son importantes para la industria de la panificación (Jisha & Padmaja, 2011; De Wit, 2003).

I. 7. Superficie de respuesta

La metodología de superficie de respuesta es una efectiva técnica estadística usada para optimizar procesos o formulaciones, con pocos ensayos experimentales, cuando muchos factores y sus interacciones se ven implicados (Sánchez *et al.*, 2004). Esta metodología consiste en un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas, que se emplean a los fines de modelar la influencia de distintas variables sobre una determinada respuesta. Esto nos permite llevar a cabo experimentos en bloque y no requiere un gran número de determinaciones ni de variables independientes, dando una estimación de error interno, y además, es posible obtener los parámetros del modelo de manera sencilla.

En la mayoría de los problemas, cuando se aplica la metodología de superficie de respuesta, la relación entre la respuesta y las variables independientes se desconoce. Por lo general, se emplea un polinomio de orden bajo sobre alguna región de las variables independientes (Montgomery, 1991).

Algunos diseños de tratamientos tienen dos o más factores que son ingredientes de una mezcla en la que los porcentajes de cada uno deben sumar el 100% de la mezcla. Por lo tanto, los niveles de un factor no son independientes de los niveles de otros. Muchos productos alimenticios, materiales para construcción y otros productos comerciales se forman con mezclas de dos o más ingredientes (Kuehl, 2001).

Las mezclas son combinaciones de los ingredientes (componentes) que en conjunto producen un producto final que tiene una o más propiedades de interés (Cornell, 2002). Los factores son los componentes de la mezcla y las respuestas observadas son función de la proporción de dichos componentes. Los niveles de los factores son las proporciones de los ingredientes.

I.8. Justificación del presente trabajo de tesis

En la Argentina se calcula que 1 de cada 100 personas es celíaca, es decir que habría aproximadamente 400.000 celíacos en nuestro país. El tratamiento fundamental de un celíaco es llevar siempre una dieta libre de gluten, lo que significa una exclusión

de todos aquellos alimentos que contengan trigo, cebada y centeno; lo que no es nada sencillo, ya que el trigo es una materia prima esencial en la industria alimentaria, tanto por sus propiedades básicas calóricas y proteicas, como por ser utilizado como emulsionante, aglutinantes y conservantes.

Desde fines de 2009, entro en vigor la ley 26.588 que protege a los celíacos garantizando el acceso a los alimentos libres de gluten. A pesar de ello, aún son de difícil acceso, caros y de baja calidad organoléptica. Por ello esta propuesta busca lograr la optimización de productos libres de gluten de baja humedad: galletitas saladas tipo *crackers*, para hacerlas más accesibles a la población celíaca, considerando que en nuestro país, las *crackers* entran dentro de la dieta diaria y están consideradas como un alimento de consumo masivo, que se consumen tanto en el almuerzo y la cena, como en el desayuno y la merienda, y son excelentes vehículo para la fortificación y el agregado de valor nutritivo, ya que al ser un alimento a base de cereales son pobres en proteínas y tienen un bajo valor biológico debido al escaso contenido de lisina. Mediante la fortificación a través de la incorporación de ingredientes ricos en proteínas de alto valor biológico, se puede aumentar el contenido proteico total así como mejorar la composición de aminoácidos esenciales del alimento.

Teniendo en cuenta, que la nueva ley garantiza el abastecimiento de estos y otros productos a toda la población celíaca es de vital importancia contar con productos optimizados para satisfacer tanto las necesidades nutricionales como las hedónicas de los mismos.

II. OBJETIVOS

II.1. Objetivo general

El objetivo general de esta propuesta es desarrollar una formulación para elaborar galletitas tipo *crackers*, para consumidores celíacos, que presenten características físicas y sensoriales aceptables, con mejores características nutricionales.

II.2. Objetivos específicos

II.2.1. Ensayar una "formulación testigo" para entrenar el manejo con equipos y la puesta a punto de las técnicas analíticas.

II.2.2. Seleccionar las materias primas sin gluten e hidrocoloides a utilizar en la premezcla a través de la realización de ensayos para elaboración de *crackers*.

II.2.3. Evaluar las variables de maquinabilidad y espesor después del laminado, y las características objetivas y subjetivas del producto.

II.2.4. Desarrollar el mejoramiento nutricional de *crackers* utilizando combinaciones de los ingredientes proteicos a través de la utilización de diseños experimentales de mezcla.

II.2.5. Evaluar la formulación con mejor performance desde el punto de vista sensorial.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1 Materiales

✓ Almidón de mandioca ALDEMAN, humedad 13,5 %; proteínas (Nt x 6,25) máximo 0,1 %; temperatura de gelatinización 55- 62°C (Cooperativa Agrícola Industrial San Alberto Ltda. Misiones Argentina).

✓ Harina de arroz TRIMACER; humedad 13,5 %; proteínas (Nt x 6,25) 6,20 %; temperatura de gelatinización 65- 72°C (Atilio Betella y Cía. Santa Fe – Argentina).

✓ Almidón de maíz, humedad 13,1 %; proteínas (Nt x 6,25) máximo 0,1 %; temperatura de gelatinización 58- 65°C Glutal (Glutal S.A., Esperanza, Argentina).

✓ Almidón de maíz pregelatinizado GLUTAGEL “NT”, humedad 8%; proteínas (Nt x 5,7) máximo 0,5 %; viscosidad Brookfield -Gel en frío (concentración 8 %) 100 rpm, 30 minutos: 800 - 1600 (Glutal S.A., Esperanza, Argentina).

✓ Hidrocoloides:

Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC): viscosidad al 2 %: 3000-5600 cp. (Dow Chemical Company, Midland, Michigan, USA).

Goma xántica, viscosidad al 1%: 1400 – 1600 cp.

Goma guar, viscosidad al 1 %: 3000 cp. (Química Oeste, Bs. As., Argentina).

✓ Huevo en polvo, humedad 3 %, proteínas 43 %. (Compañía Avícola S.A., Santa Fe, Argentina).

✓ Harina de soja desgrasada (SD): humedad 7,50 %, proteínas 40,5 %, grasa 3 %. (América Pampa Agroindustrial S. A., Buenos Aires, Argentina).

✓ Concentrado proteico de suero caseario (WPC): humedad 3,2 %, proteínas 35 %, grasa 3,5 %, lactosa 51,3%. (Milkaut S.A., Santa Fe, Argentina).

✓ Harina de trigo 000: humedad 13,2 %, gluten húmedo 26 %. (Molinos Matilde, Matilde, Santa Fe, Argentina).

Además se utilizaron otros ingredientes de grado alimentario: sal fina comercial; oleomargarina PF 36°C; polvo para hornear y Estearoil-2-lactil-lactato (SSL).

III.2 Ensayos previos

III.2.1. Formulación testigo utilizada en la elaboración

Se elaboraron galletitas tipo *crackers* tradicionales, empleando como ingredientes harina de trigo, oleomargarina, levadura, sal fina y agua a los fines de definir una “formulación testigo – método directo”.

La formulación testigo utilizada se detalla en la Tabla III.1.

Tabla III.1 Formulación Testigo

<i>Materias Primas</i>	<i>%</i>	<i>Cantidad</i>
Harina de Trigo 000	100	300 g
Oleomargarina	10	30 g
Levadura	5	15 g
Sal fina	1	3 g
Agua	40	120 ml

III.2.2. Procedimiento de elaboración

El proceso de elaboración empleado fue el propuesto por Sánchez y col. (1998), con modificaciones a fin de adaptarlo a las condiciones de trabajo. Los ingredientes sólidos se colocaron batidora Oster y se mezclaron durante algunos segundos, luego de ese tiempo se agregó el agua y se mezcló durante 5 minutos más. Posteriormente, la masa se dejó reposar por 45 minutos en estufa a 30° C. Se pasó 8 vueltas por la sobadora, se dejó descansar por 5 minutos, se estiró hasta un espesor de 2 mm y se cortó con un molde de acero inoxidable circular de 4 cm de diámetro. Finalmente, las piezas fueron cocinadas en horno rotativo Zunino (ZU-95, Argentina) a 220°C durante 10 minutos.

III.2.3. Evaluaciones

Se realizaron evaluaciones sobre la masa: de espesor final después del laminado y sobre la galletita se analizaron: aspectos objetivos (altura en mm, volumen específico ml/g, encogimiento de la masa por efecto de la cocción en % y ruptura en área debajo de la curva) y aspectos subjetivos a través de un panel de expertos asignado puntaje a las siguientes características: color, superficie superior e inferior, levantamiento, textura, fragilidad, masticabilidad y sabor. Estas mediciones servirán de entrenamiento en el manejo del equipamiento con los cuales se llevarán a cabo las experiencias y se pondrán a punto las técnicas analíticas.

III.3. Diseño de una Premezcla para la Elaboración de galletitas “sin TACC”

III.3.1. Selección de materias primas a utilizar

A partir de ensayos previos, no publicados, se seleccionaron las harinas y almidones a emplear en la elaboración de las galletitas, se evaluaron las tres mejores formulaciones cambiando la proporción de almidón de maíz, harina de arroz y almidón de maíz pregelatinizado, manteniendo fijo la proporción de almidón de mandioca y los demás ingredientes a utilizar en la premezcla y la proporción más adecuada de cada uno de ellos.

Tabla III.2 Proporción de harina y almidones utilizados.

<i>Materia prima</i>	<i>Ensayo 1</i>	<i>Ensayo 2</i>	<i>Ensayo 3</i>
Harina de arroz (%)	47	27	47
Almidón de maíz (%)	27	47	17
Almidón de maíz pregelatinizado (%)	10	10	20
Almidón de mandioca (%)	16	16	16

Aunque estas fuentes de almidón mencionadas se pueden usar de forma separada, ya sea en forma de harina o de almidón, la mayoría de los estudios en los

que se desarrollan productos sin gluten realizan mezclas de diferentes harinas (Torbica *et al.*, 2012) o mezclas de harinas y almidones (Sánchez *et al.*, 2002).

III.3.3. Selección de hidrocoloides como aditivos

En esta etapa se evaluó cuál de los hidrocoloides disponibles: Hidroxipropilmetilcelulosa, goma xántica, goma guar, se ha de utilizar como aditivo que actúe como agente “ligante” de los componentes de la mezcla “sin TACC”, a fin de suplir, aunque parcialmente, la función que cumple el gluten en la masa para galletitas elaborados a base de harina de trigo.

Es importante tener especial cuidado con las interacciones hidrocoloide-almidón, ya que son altamente dependientes del tipo de hidrocoloide seleccionado (Gularte & Rosell, 2011).

Se trabajó en la formulación base utilizando alternativamente 1,5; 2 y 2,5 % de goma xántica, goma guar e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC).

III.3.4. Tratamiento Estadístico de los datos: Comparación de valores medios (Duncan)

Para determinar entre que muestras pueden existir diferencias significativas, se realizó comparación de medias por el método de Rango Múltiple de Duncan sobre los valores de las respuestas en los ensayos de evaluación.

III.4. Evaluación de galletitas “sin TACC”

III.4.1. Maquinabilidad

Se evaluaron en forma subjetiva todos los pasos involucrados en la realización de la galletita: amasado, laminado, cocción.

III.4.2. Espesor después de laminado

Se midieron 10 cortes superpuestos de la masa con un calibre Vernier metálico con división mínima de 0,2 mm.

III.4.3. Características del producto:

III.4.3.a. Aspectos objetivos:

Altura: Se eligieron aleatoriamente diez galletitas y se las midió superpuestas, ordenadas de tres maneras distintas para promediar su valor; con un calibre Vernier metálico con división mínima de 0,2 mm.

Volumen específico: medido por desplazamiento de semillas de mijo y peso de 10 galletitas. Se calculó como el cociente entre el peso y el volumen de 10 galletitas.

Encogimiento de la masa por efecto de la cocción: Es la relación que hay entre el diámetro del molde, en este caso el diámetro utilizado fue el de un molde de 4 cm y el diámetro final de la galletita. El diámetro de las galletitas fue medido, con el mismo calibre, en 10 galletitas por separado haciendo dos mediciones por galletita con un ángulo de 90 grados entre ambas mediciones.

Ruptura: Se realizaron mediciones utilizando un analizador de textura (modelo TAXT- 2iHR; Stable MicroSystems, Ltd., Surrey, Reino Unido) que contiene una célula de carga de 50 kg. Se utilizó el Software Exponent suministrado con el texturómetro (Figura III.1).



Figura III. 1 Texturómetro TX.TAplus

Cinco galletitas de manera separada fueron sometidas a una penetración de 10 mm de profundidad a través una sonda dentada (MicroSystems estables, Ltd.), con una velocidad de 10 mm/s. Se evaluó la Dureza (N), fuerza máxima requerida para romper la galletita a través de (*Texture Profile Analysis*).

III.4.3.b. Aspectos subjetivos:

Las características subjetivas de las *crackers* fueron evaluadas a través de un panel compuesto por jueces expertos en calidad de productos horneados. Las muestras fueron entregadas al panel en secuencia aleatoria y codificadas, de forma que ninguno de los miembros supiera a qué punto correspondía cada muestra. A través de la evaluación realizada se le asignó a cada galletita un puntaje con un máximo de 100. La Tabla III.3 muestra los atributos sensoriales evaluados y los puntajes máximos asignados a cada uno de ellos.

Tabla III.3 Atributos sensoriales y puntajes máximos asignados en crackers

<i>Atributo</i>	<i>Puntaje máximo</i>
Color	10
Estructura	10
Base	10
Superficie	10
Levantamiento	10
Fragilidad	10
Masticabilidad	15
Sabor	25
TOTAL	100

✓ Color: Se evalúa el color interior y exterior. Se busca un color levemente tostado y homogéneo como valor máximo.

✓ Estructura: Se busca una estructura homogénea con alvéolos de similar tamaño y eventual presencia de láminas o capas.

✓ Base: Es la superficie inferior de la galletita, la que debe poseer un color homogéneo y carecer de ondulaciones.

✓ Superficie: Es la parte superior del producto, la que debe ser homogénea y sin ampollas.

✓ Levantamiento: Es la altura o espesor de la galletita apreciada por el evaluador.

✓ Fragilidad: Es la sensación percibida al romper una galletita con las manos.

✓ Masticabilidad: Sensación al masticar.

✓ Sabor: Se detecta la presencia de sabores específicos otorgados por los ingredientes utilizados.

III.5. Mejoramiento Nutricional de las galletitas “sin TACC”

III.5.1. Selección y Análisis de las materias primas proteicas.

Las galletitas elaborados con harinas, almidones libres de gluten e hidrocoloides, fueron enriquecidos mediante la adición de harina de soja y de concentrado proteico de suero caseario en una proporción a definir en el punto 4.2.

III.5.2. Diseño Experimental para la Elaboración de Galletitas Enriquecidas “sin TACC”

Se realizó un diseño experimental compuesto de central: 2^2+ estrella, utilizando el software STATGRAPHICS XVII en el que las variables a estudiar fueron:

- a) Nivel de adición de la mezcla por harina de soja (X_1)
- b) Nivel de adición de la mezcla por concentrado proteico de suero caseario. (X_2)

Los ensayos exploratorios emplearon un nivel de sustitución mínimo de 5% y un máximo de 15%, de donde se obtuvieron 13 experiencias (Tabla III.4).

Tabla III.4 Diseño experimental

<i>Experiencia</i>	X_1	X_2
1	10.0	10.0
2	5.0	5.0
3	15.0	5.0
4	10.0	10.0
5	5.0	15.0
6	15.0	15.0
7	10.0	10.0
8	2.92893	10.0
9	17.0711	10.0

10	10.0	10.0
11	10.0	2.92893
12	10.0	17.0711
13	10.0	10.0

Las respuestas a considerar fueron seis:

- ✓ Maquinabilidad (puntos)
- ✓ Espesor después del laminado (mm)
- ✓ Puntaje subjetivo del producto (puntos)
- ✓ Mejora nutricional/lisina (%)
- ✓ Tiempo de cocción (min)
- ✓ Color (puntos)

Maquinabilidad: se evaluó la dificultad de armado de la masa en función de la proporción de los componentes de la misma, como así también de la cantidad de agua adicionada a la mezcla, lo cual se tradujo en las características de la masa obtenida, es decir, si la misma es más o menos húmeda, más o menos elástica y si se pega o no en las manos. Por otra parte, la dificultad de laminado dependió también de la plasticidad de la masa, ya que cuando ésta es húmeda o pegajosa, se adhiere al palo de amasar y/o a la superficie de amasado, complicando esta etapa que tiene por objeto disminuir progresivamente el espesor de las láminas obtenidas durante el laminado.

Cocción: El tiempo de cocción se determinó tomando una muestra cada 1 minuto durante hasta obtener el color deseado (se comparó con una galletita de trigo comercial).

Se aplicó una escala siguiendo el modelo de campana de Gauss, ya que no se puede aplicar la medición de color por el colorímetro Minolta, por tener muestras muy heterogéneas y con bordes más oscuros y con perforaciones.

Se hicieron muestras con 3 moldes diferentes para ver las diferencias en los tostados de los bordes. Se tomaron fotos con fondo blanco de la más clara a la más oscura, tomando el centro como el color óptimo, Figura III.2.

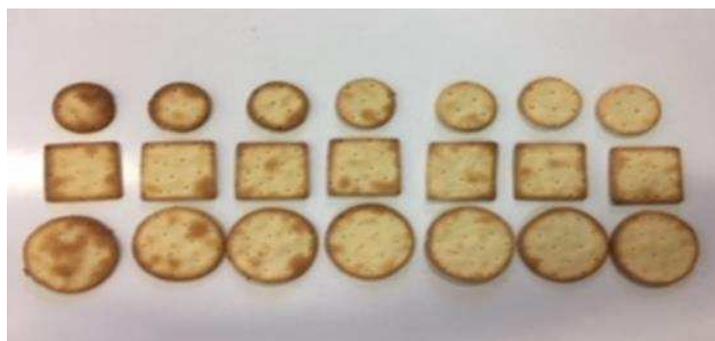


Figura III. 2 Escala de color para galletitas

III.4.3. Tratamiento Estadístico de Datos

Se elaboró una Superficie de Respuesta con la combinación de variables permitió optimizar cada uno de los parámetros analizados y se realizó la verificación del valor óptimo. Una vez realizada esta verificación, se llevó a cabo una evaluación sensorial de aceptabilidad de aquella muestra con mejor performance.

Uno de los principales objetivos de una producción exitosa de alimentos es el aseguramiento de la calidad. La calidad de un producto se ha definido de varias maneras, aunque en todas está presente la satisfacción del consumidor. Muñoz *et al.* (1992) cita varias definiciones:

- ✓ La totalidad de los elementos y características de un producto o servicio que definen su habilidad para satisfacer necesidades dadas.
 - ✓ Apropiado para ser usado
 - ✓ Conformidad con requerimientos específicos
 - ✓ El grado en que un producto o servicio es apto para un uso dado.

En todas estas definiciones está implícito el consumidor como el destinatario final y decisivo en términos de calidad, por ello resulta fundamental realizar la evaluación de aceptabilidad del producto.

Para llevar a cabo las pruebas de aceptabilidad de las galletitas optimizadas, se aplicó una escala hedónica de nueve puntos (Tabla III.5) a evaluadores no entrenados, (consumidores = personas celíacas,) que desearon participar de la prueba de manera voluntaria, a los que se les entregó previamente un consentimiento informado. En el

cuestionario entregado a los participantes no se indicaron los valores numéricos, sino solo las descripciones, y luego se asignaron los valores según se detalla en la tabla para realizar la interpretación y analizar estadísticamente los resultados. La escala cuenta con un punto central “me resulta indiferente”, punto al que se le asignó la calificación de cinco. A los puntos ubicados por debajo de este valor se les asignó los valores uno (“me disgusta muchísimo”) y dos (“me disgusta mucho”), tres (“me disgusta moderadamente”), cuatro (“me disgusta poco”) indicando que la muestra no es de su agrado; en cambio a los puntos por encima se les asignó un valor de seis (“me gusta poco”), siete (“me gusta moderadamente”), ocho (“me gusta mucho”), nueve (“me gusta muchísimo”), correspondiente a la calificación de agrado. La planilla se completó en todos los casos de manera individual.

Tabla III. 5 Evaluación sensorial - Encuesta de aceptabilidad

<i>Puntaje</i>	<i>Grado de valor</i>
9	Me gusta muchísimo
8	Me gusta mucho
7	Me gusta moderadamente
6	Me gusta poco
5	Me resulta indiferente
4	Me disgusta poco
3	Me disgusta moderadamente
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta muchísimo

IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos previos

Como única diferencia se puede destacar que las galletitas elaboradas con harina de trigo requieren fermentación a diferencia de las sin gluten que al no tenerlo solo requieren trabajar con laminado para obtener resultados similares. No se describen datos de las experiencias ya que sólo sirvieron para entrenamiento.

Con respecto a la textura, la puesta a punto del texturómetro se realizó con galletitas comerciales, para poder hacer una comparativa más real entre las que se encuentran en el mercado con TACC, sin TACC y el diseño obtenido, ya que no existen en el mercado premezcla de galletitas tipo crackers o marineras con TACC.

Tabla IV.1 Resultados de textura para las galletitas comerciales testigos

<i>Muestra</i>	<i>Área (g)</i>	<i>DE</i>	<i>Picos</i>	<i>Fuerza x pico</i>
Cracker de laboratorio	845	± 52	5	852
Criollita®	367	± 75	5	486
Express®	940	± 356	9	1006
Marina Sin TACC	653	± 240	3	2068

Como se puede ver durante el ensayo se producen varios picos que resultan de la ruptura de las capas (producto del hojaldrado) que presenta la galletita. En cambio se puede ver que en la galletita sin TACC no aparece el hojaldrado característico.

Selección de los almidones y harinas a emplear en la formulación

Características de la masa:

Maquinabilidad:

El amasado y laminado sin bien fueron dificultosos, por tratarse de masas tipo quebradas, se lograron trabajar sin mayores dificultades en los ensayos 1 y 2, aunque el ensayo 2 presento más complicaciones a la hora del laminado. Por otro lado, en el ensayo 3 al contener mayor cantidad de almidón pregelatinizado la masa que se obtiene es homogénea, suave, húmeda y pegajosa que no se quiebra ni desgrana como la masa de los otros ensayos.

Numerosos estudios han observado que hay una fuerte dependencia entre la cantidad de almidón pregelatinizado y las dimensiones finales de la galleta (Hoseney, 1994; Hoseney & Rogers, 1994; Miller & Hoseney, 1997). Esto se debe a que el almidón gelatinizado es capaz de absorber tres veces más agua que cuando se encuentra intacto, por lo que su presencia afecta enormemente a las propiedades reológicas de la masa, produciendo una masa menos fluida que se expande menos (Manley, 2000).

Espesor después del laminado:

La evaluación de espesor después del laminado arrojó datos dispares en los ensayos, siendo superior en el 3 y menor en el 1, con diferencias significativas entre las tres medias (Tabla IV.2). A su vez en el ensayo 3 la pegajosidad de la masa impide la correcta extensibilidad, y aunque las otras masas son más "duras" se extienden mejor.

Tabla IV. 2 Test de rangos múltiples de Duncan para espesor después del laminado

<i>Ensayo</i>	<i>Espesor cm</i>
1	3,73 ^a
2	3,16 ^b
3	4,00 ^c

Diferentes letras se clasifican diferentes (P <0,05)

Características del producto (galletita):

Aspectos objetivos:

Altura:

Con respecto a la altura, los resultados indican que existen diferencias significativas entre las medias obtenidas, esto se debe a que la altura es una variable dependiente de la cantidad de almidón de maíz que se utilice durante el laminado y en la masa (Tabla IV.3).

Tabla IV.3 Test de rangos múltiples de Duncan para altura

<i>Ensayo</i>	<i>Altura cm</i>
1	4,43 ^a
2	4,66 ^b
3	5,30 ^c

Diferentes letras se clasifican diferentes (P <0,05)

Encogimiento:

El encogimiento también presentó diferencias significativas entre las medias (Tabla IV.4) en este caso, la diferencia se encuentra en las medias obtenidas en el ensayo 3 con respecto a las otras dos. El almidón pregelatinizado parece disminuir el encogimiento de la masa post cocción.

Tabla IV.4 Test de rangos múltiples de Duncan para encogimiento

<i>Ensayo</i>	<i>Encogimiento</i>
1	0,43 ^b
2	0,40 ^b
3	0,26 ^a

Diferentes letras se clasifican diferentes (P <0,05)

Volumen específico:

No presentó diferencias significativas entre las medias.

Tabla IV.5 Análisis de varianza para volumen específico.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,0087	2	0,0043	0,5539	0,6014	5,1432
Dentro de los grupos	0,0471	6	0,0078			
Total	0,0558	8				

Ruptura:

En la tabla IV.6 se muestran los resultados de la ruptura de las galletitas comerciales y las muestras 1, 2 y 3.

Tabla IV.6 Resultados de textura (promedio sobre 5 galletitas analizadas)

<i>Muestra</i>	<i>Área (g)</i>	<i>DE</i>	<i>CV%</i>	<i>Picos</i>	<i>Fuerza x pico</i>
Criollita®	366,9	74,7	20,5	5	485,7
Express®	940,0	356,1	37,9	9	1006,0
Marina Sin TACC	653,5	240,0	36,7	3	2067,9
Ensayo 1	202,4	67,8	33,5	4	460,2
Ensayo 2	2526,3	1565,6	62,1	3	2973,9
Ensayo 3	3362,9	649,9	19,3	4	4237,6

La textura es uno de los factores más importantes que contribuyen a la calidad sensorial de las galletas. La dureza es la característica de textura más importante y se mide como la fuerza máxima de rotura de la galleta (Chung et al., 2014). La fracturabilidad es otro parámetro de textura, representa la distancia recorrida por la sonda antes de la rotura, es decir la deformación de la galleta antes de romperse (Hadnadev et al., 2013).

El análisis de varianza (Tabla IV.7) nos dice que no hay diferencias significativas entre las galletitas comerciales y la muestra 1 pero si con la muestra 2 y 3.

Tabla IV.7 Test de rangos múltiples de Duncan para variable textura

<i>Muestra</i>	<i>Textura</i>
Ensayo 1	202,42 ^a
Ensayo 2	2526,36 ^b
Ensayo 3	3362,90 ^b
Criollita [®]	366,96 ^a
Express [®]	939,98 ^a
Marina	599,20 ^a

Diferentes letras se clasifican diferentes (P <0,05)

Aunque no se encontraron diferencias significativas entre las galletitas elaborados con harina de trigo, las marinas y el ensayo N° 1, probablemente por alto coeficiente de variación de las mediciones, en realidad si se presentan diferencias entre las elaboradas con trigo y sin trigo con la cantidad de picos obtenidos en el ensayo. Se puede decir que las galletitas son productos que en su elaboración son sometidos a sucesivos pliegues entre las etapas de laminación el plisado hace que la galleta quede constituida por múltiples capas. Una vez que el producto está cocido la densidad interna disminuye de manera irregular, dejando algunos lugares con mayor cantidad de bolsas de aire dentro de la galleta (Hoseney, 1994). Por otro lado, la presencia de gluten, y la capacidad de retención de aire, que permite la formación de alveolos y por ende mayor cantidad de picos a la hora de la ruptura.

Por otra parte, las diferencias entre las galletitas elaborados a nivel industrial con respecto a los que fueron elaborados en forma experimental podrían ser consecuencia de los procedimientos que llevados a cabo a escala industrial probablemente aseguran una distribución de los ingredientes uniforme, debido a la mecanización del proceso. En la elaboración experimental la incorporación y mezcla de ingredientes se llevó a cabo en forma manual, pudiendo ser este proceder el responsable de una distribución deficiente de los mismos. Según Pareyt y Decourt (2008a), la distribución de los ingredientes dentro de la masa dependerá de la

formulación empleada. También Baltsavias *et al.* (1999a), aseguran que, al igual que existen numerosas formulaciones de galletas, también existen diversos procesos para formar la masa de galleta.

Se puede decir entonces que la diferencia principal entre las galletitas elaboradas con y sin harina de trigo está dada por la presencia de gluten, y la capacidad de retención de aire, que permite la formación de alveolos y por ende mayor cantidad de picos a la hora de la ruptura. Se puede ver que según los resultados, el perfil de textura de las Criollitas ® es similar a las galletitas experimentales obtenidas en el ensayo 1, mientras que las muestras 2 y 3 presentan valores de ruptura muy altos, es decir hay que hacer mucha fuerza para romperlas lo que se verá reflejado en la masticabilidad. Este comportamiento se debería a la relación entre porcentaje de harina de arroz/ almidón pregelatinizado utilizado en la experiencia 1.

Aspectos subjetivos:

Color:

El color es bueno tanto en el ensayo 1 como en el 2, y un tanto más amarillento en el ensayo 3, la evaluación del color se hizo de manera visual.

Se sabe que el color es un importante atributo en los productos horneados, que influye en las preferencias de consumo (Miñarro *et al.*, 2010), por lo que una de las formas de mejorar el aspecto de las galletitas elaboradas con almidones sería añadiendo una fuente proteica y azúcares reductores, en este caso se adicionó WPC, para que durante el horneado se generen las reacciones de Maillard y las galletitas adquieran un color tostado, aumentando así su atractivo visual.

Masticabilidad:

Con respecto a la masticabilidad, viene vinculada a la ruptura de la galletita, con el ensayo 1 se logran mejores resultados en cuanto a la ruptura de la galletita (*crack*). Por otro lado, la muestra 3 da como resultado una galletita más gomosa y carente de crack, que se corresponde con el alto contenido de almidón

pregelatinizado, el cual aumenta la humedad final de la misma y disminuye su fracturabilidad.

Los mejores resultados en cuanto al quiebre lo aporta la harina de arroz, aunque la granulometría de esta es un factor determinante, como se pudo evaluar en ensayos preliminares, la mayor granulometría da mayor crack pero mayor sensación de cristales al masticar. Según Picón Pineda (2014), resulta muy útil evaluar la influencia de la granulometría en el producto final. A través de ella, se puede ver como la galleta que más se ve afectada por la distribución de partículas de la harina es la de arroz, ya sea de grano corto o grueso.

Evaluación sensorial (puntaje total):

En la Tabla IV.8 se presentan los valores de puntaje total de la galletita realizados por el panel de expertos.

Tabla IV.8 Resultados de evaluación sensorial (puntaje total), panel de expertos

<i>Evaluador</i>	<i>Ensayo 1</i>	<i>Ensayo 2</i>	<i>Ensayo 3</i>
A	76	59	55,5
B	78	59	58
C	70	61	53
D	66	59	49
Promedio	72,5	59,5	53,9

Todos estos resultados hacen suponer que las galletitas obtenidas en el ensayo 1 son las que presentan una mejor performance.

Se aplicó el test de ANOVA para evaluar las diferencias sensoriales entre las galletitas, hallando que hubo diferencias estadísticamente significativas entre las galletitas del ensayo 1 con respecto a las medias de los ensayos 2 y 3, como se puede observar en la Tabla IV.9

Tabla IV.9 Test de rangos múltiples de Duncan para análisis sensorial (puntaje)

<i>Ensayo</i>	<i>Sensorial</i>
1	4,4333 ^b
2	7,4500 ^a
3	6,7250 ^a

Diferentes letras se clasifican diferentes (P <0,05)

A partir de estos resultados, se determina que la mejor formulación para galletitas sin TACC es el ensayo 1 (Tabla IV.10), el que mayor contenido de harina de arroz posee. La harina de arroz es una de las harinas más adecuadas para la elaboración de productos horneados sin gluten, y la más utilizada (Sánchez *et al.*, 2008)

Tabla IV. 10 Formulación seleccionada (Ensayo 1)

<i>Ingredientes</i>	<i>(g)</i>	<i>(%) respecto a la suma de (*) = 100</i>
Harina de arroz (*)	47	47
Almidón de maíz (*)	27	27
Almidón de mandioca (*)	16	16
Almidón de maíz pregelatinizado (*)	10	10
WPC	5	5
Huevo en polvo	3	3
Sal	2	2
Oleomargarina	15	15
Agua	78	78

Selección de hidrocoloides como aditivos

No se obtuvieron buenos resultados con ninguno de los tres hidrocoloides utilizados, se observó que a mayor contenido de gomas mayor dureza en el tiempo del producto. A las 24 horas de elaborado perdía el quiebre típico de las galletitas tipo *crackers*. Tampoco hubo cambios significativos en la maquinabilidad del producto, por lo que se decidió trabajar la formulación sin hidrocoloides.

Hadnadev *et al.* (2013) adicionaron carboximetil celulosa (CMC) obteniendo una masa más cohesiva para la manipulación y el formado, y unas galletas con una forma más regular y sin grietas en su superficie. Kaur *et al.* (2015) usaron la goma xantana, aumentando el contenido en humedad de las galletas, su diámetro, altura y peso, y disminuyendo la resistencia a la rotura.

Selección de las materias primas proteicas

En esta etapa se estudió el uso individual de harina de soja desgrasada (HSD) (X_1) y WPC (X_2). Dado que el WPC le confiere plasticidad a la masa y la harina de soja tiende a hacerla más dura y seca, sería de esperar que el agregado simultáneo de estos componentes de como resultado una masa con características aceptables como consecuencia del efecto contrapuesto de ambos ingredientes proteicos.

En estos ensayos se utilizó la formulación elaborada a base de harina de arroz, almidón de maíz nativo y pregelatinizado y almidón de mandioca seleccionada en el punto anterior, con distintos niveles de uso de (HSD) y (WPC).

En la Tabla IV. 11 se muestran los valores obtenidos para cada respuesta: Y_1 : maquinabilidad; Y_2 : espesor después del laminado; Y_3 : tiempo de cocción; Y_4 : color; Y_5 : Puntaje de las características subjetivas; Y_6 : porcentaje de lisina.

Tabla IV.11 Factores evaluados en Diseño Experimental y sus Respuestas

<i>Corrida</i>	X_1	X_2	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y_5	Y_6
1	10	10	7,5	43	8	8	5,5	2,34
2	5	5	8,5	44	9	7	7,5	1,69
3	15	5	8	43	8	6,5	6	2,2
4	10	10	8,5	43	7	8	5,5	2,34
5	5	15	8	41	8	6,5	6	2,49
6	15	15	8,5	44	8	7	5	2,99
7	10	10	6,5	45	9	8	7	2,34

8	2,92893	10	6	44	9	8	9	1,98
9	17,0711	10	6,5	44	9	6	7	2,7
10	10	10	7,5	42	8	8	6,5	2,34
11	10	2,92893	8	43	9	7	8,5	1,78
12	10	17,0711	7,5	43	8	6,5	4,5	2,91
13	10	10	7	45	9	8	5,5	2,34

Tabla IV.12 Análisis de la Varianza

VARIABLES	GRADOS DE LIBERTAD	VALOR F					
		Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆
X ₁ (HSD)	1	0,08	0,40	0,25	6,40 *	4,29	217041,19*
X ₂ (WPC)	1	0,08	0,40	1,48	0,40	10,05*	536240,30*
X ₁ ²	1	0,62	0,03	1,07	12,57*	4,34	0,00
X ₁ X ₂	1	0,32	3,22	0,51	1,60	0,08	10,55*
X ₂ ²	1	2,12	1,01	0,01	19,17*	0,01	18,35*
Falta de Ajuste	3	1,97	0,28	0,31	ND	2,53	ND
r ² (%)		34,0	42,0	32,0	84,0	73,0	99,9

Y₁: maquinabilidad; Y₂: espesor después del laminado; Y₃: tiempo de cocción; Y₄: color; Y₅: Puntaje de las características subjetivas; Y₆: porcentaje de lisina.

*P < 0,05

Maquinabilidad:

En la Tabla IV.12 la falta de ajuste F = 1,97 dio un resultado no significativo (P > 0,05), por lo que se puede suponer que el modelo ajusta adecuadamente, por lo tanto representa los datos experimentales en el dominio evaluado. El valor de r² es de 34 % lo que indica que el modelo obtenido explica el 34 % de la variabilidad de los datos experimentales.

Al analizar los resultados del ANOVA no se observa una influencia significativa de los componentes lineales de los dos factores estudiados (P > 0,05)

para HSD y WPC. También, los efectos cuadráticos e interacciones no fueron significativos ($P > 0,05$).

También afirma el hecho de no presentar significación estadística es que ninguno de los factores con efecto estandarizado se encuentra por encima de las líneas de corte (Figura IV.1).

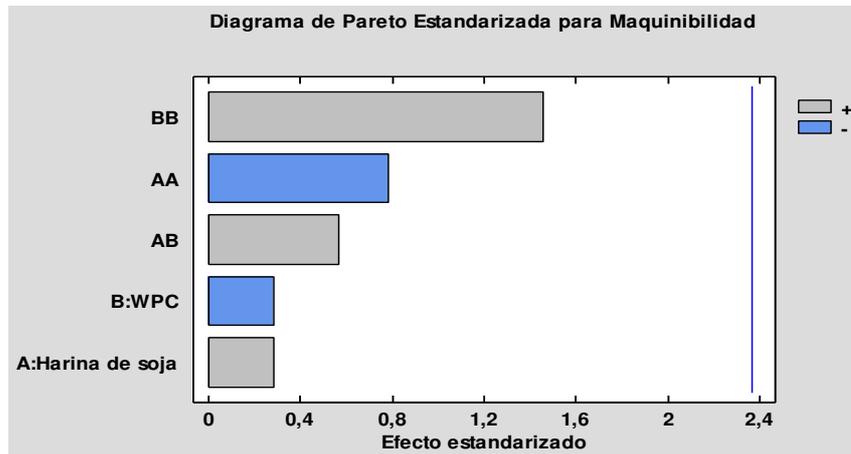


Figura IV.1 Diagrama de Pareto para maquinabilidad

Aunque no sea significativo desde el punto de vista estadístico, se puede observar que la harina de soja es un factor que mejora directamente la maquinabilidad, mientras que el efecto del WPC es inversamente proporcional a su agregado (Figura IV. 2).

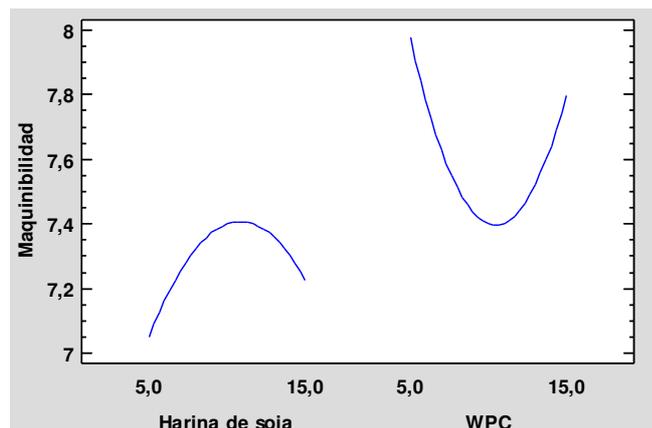


Figura IV.2 Grafica de efectos principales para maquinabilidad

Aunque las variables no tienen un efecto significativo, y siendo que el modelo ajusta adecuadamente, se pueden analizar tendencias en la Superficie de Respuesta. Se

puede analizar el comportamiento, presentado en la Figura IV.5, de la maquinabilidad en función de los distintos agregados proteicos y sus niveles. Se puede señalar que el WPC influye marcadamente en la misma, no así la harina de soja que muestra una suave modificación de los valores de maquinabilidad, lo que permite que una mayor incorporación de HS sin influir en la maquinabilidad, no así el WPC. Esto se podría explicar considerando que las proteínas desnaturalizadas del WPC tienen muy buena capacidad de aumentar la consistencia

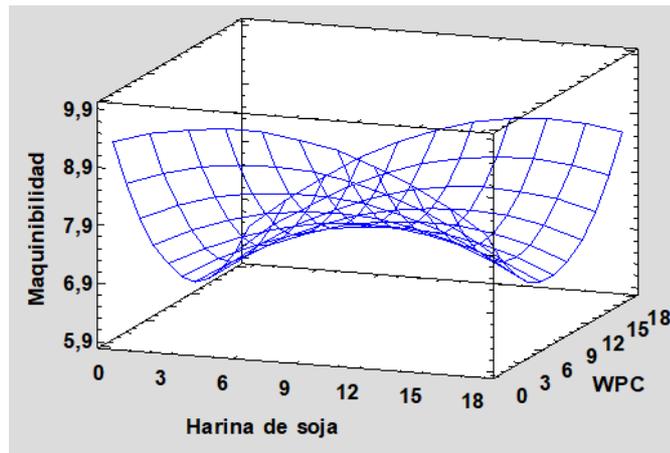


Figura IV.3 Grafica de superficie de respuesta estimada para maquinabilidad

En el caso del uso de WPC con harina de trigo, similar comportamiento muestra el trabajo de Sánchez et al. (1990) quienes hallaron que el WPC con tratamiento térmico de desnaturalización, aumenta la elasticidad de la masa en el alveógrafo, a la vez que ocurre una disminución del ablandamiento farinográfico, otorgando en definitiva una mayor rigidez a la matriz proteica. Este aumento de la elasticidad se debe a que el contenido de WPC en las mezclas tiene un efecto significativamente alto sobre la absorción de agua, confiriéndole excesiva plasticidad.

Rodríguez Carbajo (2015), concluyó que la incorporación de proteínas de guisante en la formulación de las galletas de arroz no sólo constituye un importante aumento del valor nutricional de estas galletas por el aporte de proteínas que supone para las personas con intolerancia al gluten. También contribuye a la mejora de la maquinabilidad de la masa, así como del aspecto y la textura de las galletas de arroz.

En la Tabla IV.13 se encuentran las condiciones en la región del punto óptimo (Valor óptimo = 8,56696) de la Figura IV.3

Tabla IV. 13 Punto óptimo para maquinabilidad.

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Harina de soja	2,92893	17,0711	7,47345
WPC	2,92893	17,0711	2,92893

Espesor después del laminado:

En la Tabla IV.12 la falta de ajuste $F = 0,28$ dio un resultado no significativo ($P > 0,05$), por lo que se puede suponer que el modelo ajusta adecuadamente, por lo tanto representa los datos experimentales en el dominio evaluado. El valor de r^2 es de 42 % lo que indica que el modelo obtenido explica el 42 % de la variabilidad de los datos experimentales.

Al analizar los resultados del ANOVA no se observa una influencia significativa de los componentes lineales de los dos factores estudiados ($P > 0,05$) para HSD y WPC. También, los efectos cuadráticos e interacciones no fueron significativos ($P > 0,05$).

También afirma el hecho de no presentar significación estadística es que ninguno de los factores con efecto estandarizado se encuentra por encima de las líneas de corte (Figura IV.1).

Como se puede observar en la Figura IV.4, ninguno de los factores o sus interacciones tiene efectos significativos, aunque la harina soja tiene relación directa con el espesor, mientras que el WPC tiene una relación inversamente proporcional

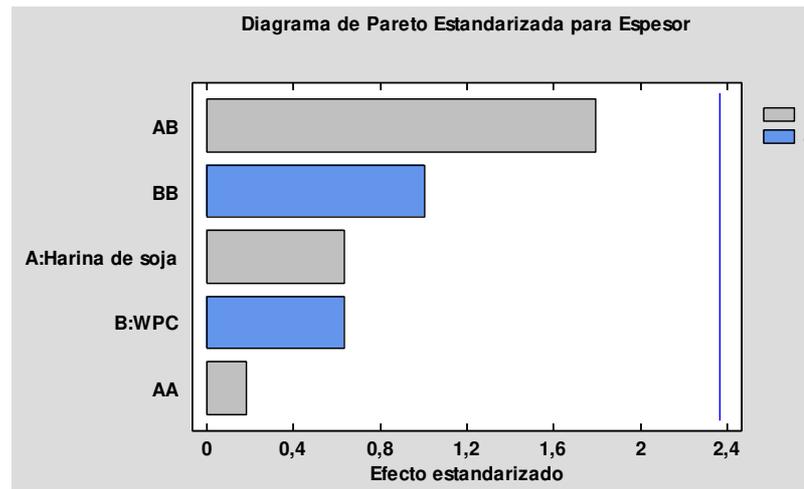


Figura IV.4 Diagrama de Pareto para espesor

Aunque no sea significativo desde el punto de vista estadístico se puede ver que, tanto la harina de soja como el WPC influyen en el espesor, pero la harina de soja tiene un efecto directo, y el WPC un efecto inverso sobre esta respuesta, como se puede observar en la Figura IV.5.

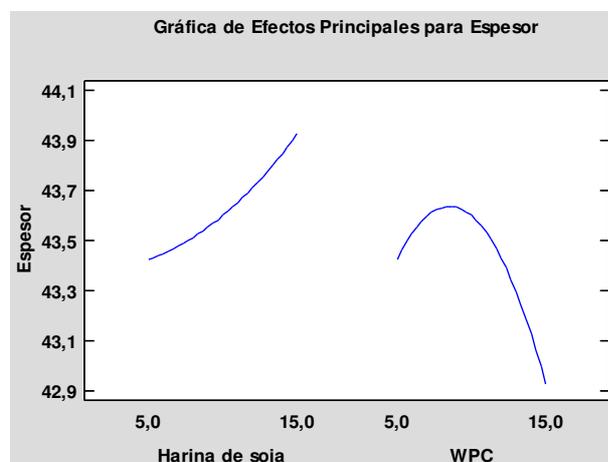


Figura IV.5 Grafica de efectos principales para espesor

Aunque las variables no tienen un efecto significativo, y siendo que el modelo ajusta adecuadamente, se pueden analizar tendencias en la Superficie de Respuesta. En la Figura IV.6, se puede observar el efecto de los diferentes agregados proteicos y sus concentraciones sobre el comportamiento del espesor. Del análisis de los valores obtenidos en el ensayo se observa que el espesor es máximo a valores

superiores de HS y WPC, es decir que al ir aumentando la cantidad la HSD y el contenido de WPC se obtienen mejores resultados para esta variable. Este hecho puede estar relacionado con la capacidad de retener agua que tiene el WPC y la HSD, lo que podría explicar el aumento de espesor a medida que se incremente en la formulación.

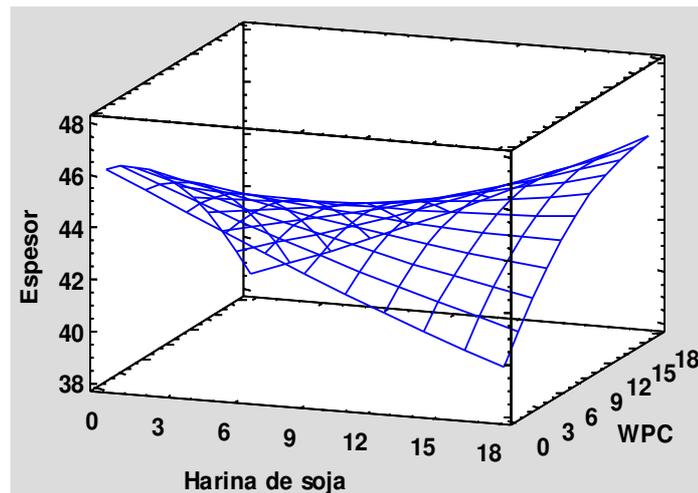


Figura IV.6 Grafica de superficie de respuesta estimada para espesor

En la Tabla IV.14 se encuentran las condiciones en la región del punto óptimo para espesor (Valor óptimo = 44,9009) de la Figura IV.6.

Tabla IV.14. Punto óptimo para espesor

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Harina de soja	2,92893	17,0711	17,0711
WPC	2,92893	17,0711	16,8474

Tiempo de cocción:

En la Tabla IV.12 la falta de ajuste $F = 0,31$ dio un resultado no significativo ($P > 0,05$), por lo que se puede suponer que el modelo ajusta adecuadamente, por lo tanto representa los datos experimentales en el dominio evaluado. El valor de r^2 es de

32 % lo que indica que el modelo obtenido explica el 32 % de la variabilidad de los datos experimentales.

Al analizar los resultados del ANOVA no se observa una influencia significativa de los componentes lineales de los dos factores estudiados ($P > 0,05$) para HSD y WPC. También, los efectos cuadráticos e interacciones no fueron significativos ($P > 0,05$).

Ambos factores influyen directamente sobre el tiempo de cocción, siendo el WPC quien influye mayoritariamente, aunque no de manera significativa como se puede observar en la Figura IV. 7

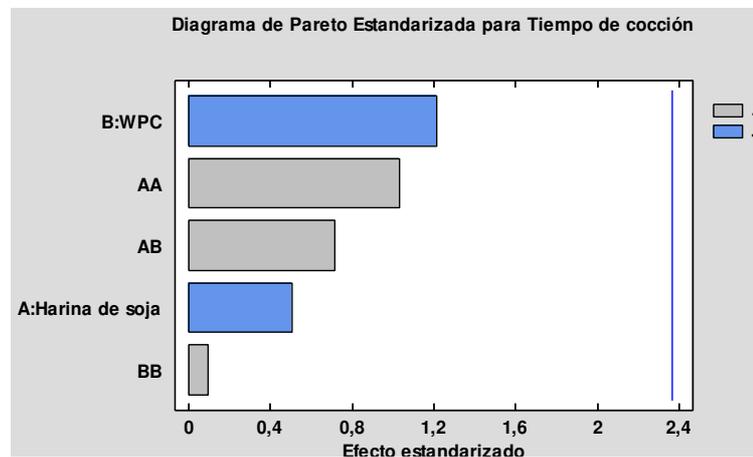


Figura IV.7 Diagrama de Pareto para tiempo de cocción

En la Figura IV.8 de efectos principales vemos que ambos factores son influyentes, siendo el WPC quien presenta una pendiente mayor, esto indica que un pequeño aumento en el contenido de WPC representa una disminución directa del tiempo de cocción.

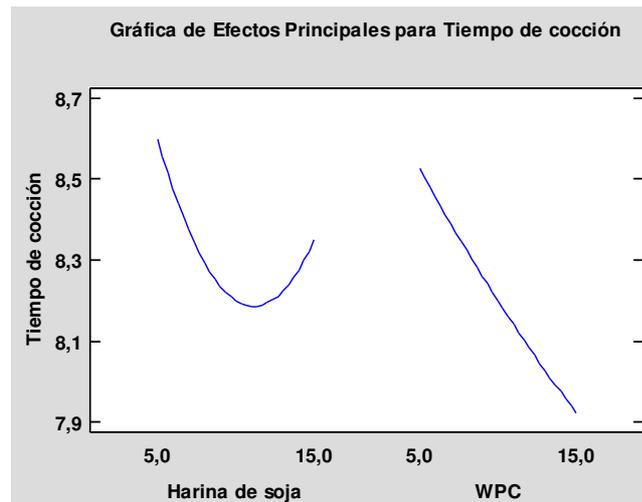


Figura IV.8 Grafica de efectos principales para tiempo de cocción

Aunque las variables no tienen un efecto significativo, y siendo que el modelo ajusta adecuadamente, se pueden analizar tendencias en la Superficie de Respuesta. En la Figura IV.10, se presenta el grafico para tiempo de cocción. Se puede observar en la misma, que niveles bajos de HSD y de WPC permiten obtener mejores resultados para esta variable.

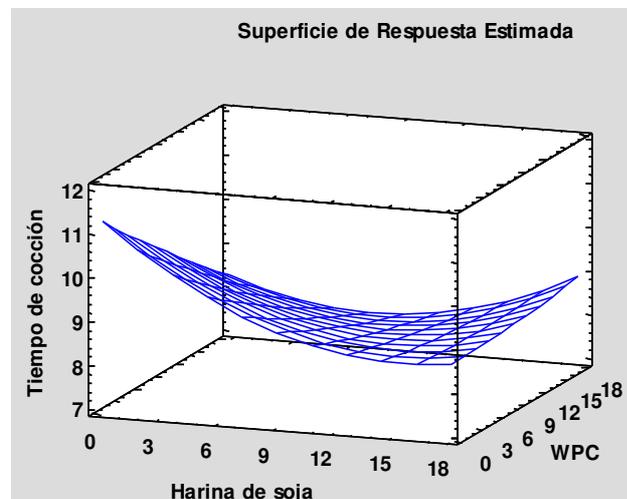


Figura IV.9 Grafica de superficie de respuesta estimada para tiempo de cocción

Esto podría deberse a que tanto WPC como la HS tienen una alta capacidad de retener agua, lo cual sumado al empleo de almidón de maíz pregelatinizado, podría contribuir a la disminución del tiempo de hidratación requerido por los almidones de mandioca y de arroz, y en consecuencia disminuir así el tiempo de cocción.

En la Tabla IV. 15 se encuentran las condiciones en la región del punto óptimo para tiempo de cocción (Valor óptimo = 9,90356) de la Figura IV.9.

Tabla IV.15 Punto óptimo para tiempo de cocción

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Harina de soja	2,92893	17,0711	2,92893
WPC	2,92893	17,0711	2,92893

Color de galletita:

En la Tabla IV.12, el valor de r^2 es de 84 % lo que indica que el modelo obtenido explica el 84 % de la variabilidad de los datos experimentales.

Al analizar los resultados del ANOVA se observa una influencia significativa de del componente lineal ($P < 0,05$) para HSD y su combinación cuadrática. También, los efectos cuadráticos de WPC fueron significativos ($P < 0,05$).

Como se puede observar en la Figura IV.10, la HSD y el WPC son los factores que influyen de manera estadísticamente significativa en el nivel de confianza de 95%, aunque su efecto es inversamente proporcional a la variable de respuesta en este caso el color, al igual que el WPC aunque este último en menor medida.

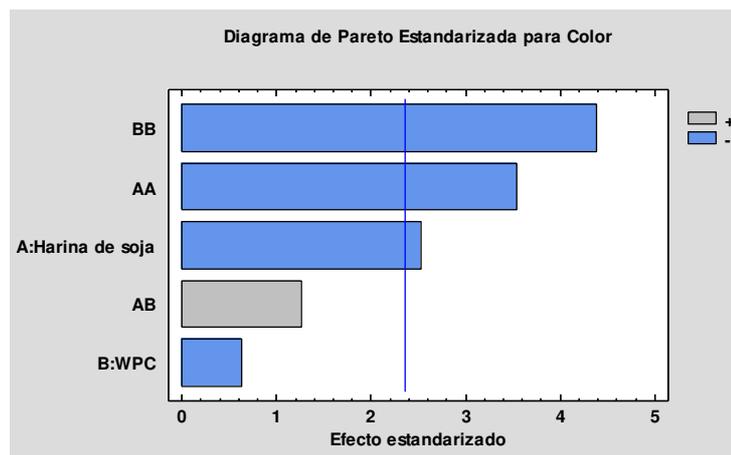


Figura IV.10 Diagrama de Pareto para color

Siendo que el modelo ajusta adecuadamente, se pueden analizar tendencias en la Superficie de Respuesta. Como puede apreciarse en la Figura IV.11 a medida que

se incrementa el WPC el color aumentan hasta un punto en el cual este comienza a decrecer, lo mismo sucede con la harina de soja pero con una pendiente mayor, por lo que un aumento en el contenido de harina de soja representa una aumento del color hasta un punto no deseable.

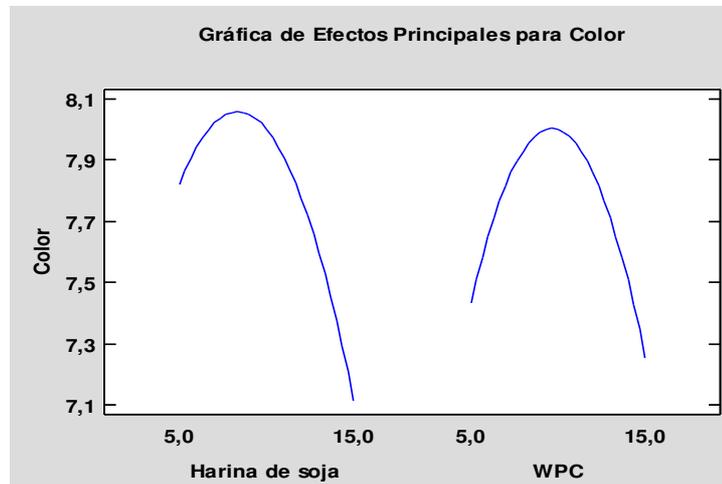


Figura IV.11 Grafica de efectos principales para color

En la Figura IV.12, se puede observar que la mayor influencia sobre el mismo la hace el WPC. Si bien también hay un crecimiento de la respuesta para los valores medios de HSD. Se puede inferir que niveles medios de HSD y WPC se obtienen mejores resultados para esta variable, ya que en los extremos tantos bajos como altos los valores obtenidos para esta variable descienden notablemente.

A bajos niveles se obtiene una galletita pálida, mientras que a niveles altos una galletita más oscura.

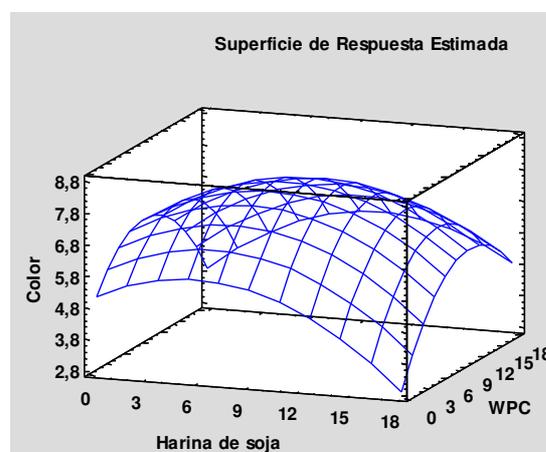


Figura IV.12 Grafica de superficie de respuesta estimada para color

El color más oscuro de las galletas con proteína puede ser debido, en parte, al color natural de ésta, y también a las reacciones de Maillard que tienen lugar entre azúcares reductores y proteínas, produciendo melanoidinas coloreadas que disminuyen la luminosidad de la galleta.

Pérez *et al.* (2008) corroboraron que la incorporación de HS en cookies tuvo un efecto significativo en el desarrollo de color aunque no afecta la pérdida de lisina disponible, como si lo hace el WPC, por efecto de Maillard.

El parámetro de color varía significativamente durante el proceso de horneado y puede ser utilizado como indicador sensible de las condiciones del proceso, ya que está directamente relacionado con el tiempo de cocción y la textura final del producto.

El color, junto con la textura y el sabor, es una característica importante en la determinación de la aceptabilidad de las galletas (Zucco *et al.*, 2011; Pérez *et al.*, 2013). Este se desarrolla principalmente durante el horneado a través de las reacciones de Maillard que se producen entre azúcares reductores y proteínas, y posiblemente también por la dextrinización del almidón y su caramelización (Chevallier *et al.*, 2000; Gómez *et al.*, 2008; Zucco *et al.*, 2011). Las reacciones de Maillard tienen lugar antes que la reacción de caramelización si hay aminoácidos presentes.

La evolución del color durante el horneado fue estudiada por Broyart *et al.* (1998), quienes desarrollaron un modelo cinético para predecir la variación de luminosidad de la superficie de las galletitas tipo *crackers* utilizando las variaciones de temperatura y humedad del producto durante la cocción. La evolución de la luminosidad parece seguir una cinética de primer orden influenciado por estos dos parámetros.

Como ya hemos mencionado, tanto WPC como la HS tienen una alta capacidad de retener agua, por lo que es de esperar que la adición de estos ingredientes modifique la evolución del color durante el horneado.

En la Tabla IV. 16 se encuentran las condiciones en la región del punto óptimo para color (Valor óptimo = 8,07056) de la Figura IV.12.

Tabla IV.16 Punto óptimo para color

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Harina de soja	2,92893	17,0711	8,17424
WPC	2,92893	17,0711	9,31463

Puntaje subjetivo:

En la Tabla IV.12, el valor de r^2 es de 73 % lo que indica que el modelo obtenido explica el 73 % de la variabilidad de los datos experimentales.

Al analizar los resultados del ANOVA se observa una influencia significativa del componentes lineal ($P < 0,05$) para WPC. El componente lineal para HSD y los efectos cuadráticos e interacciones no fueron significativos ($P > 0,05$).

Como se puede observar en la Figura IV.13, el WPC es el único factor que es estadísticamente significativo en el nivel de confianza de 95%, aunque su efecto es inversamente proporcional a la variables de respuesta al igual que la harina de soja aunque esta última en menor medida y sin llegar a ser significativo.

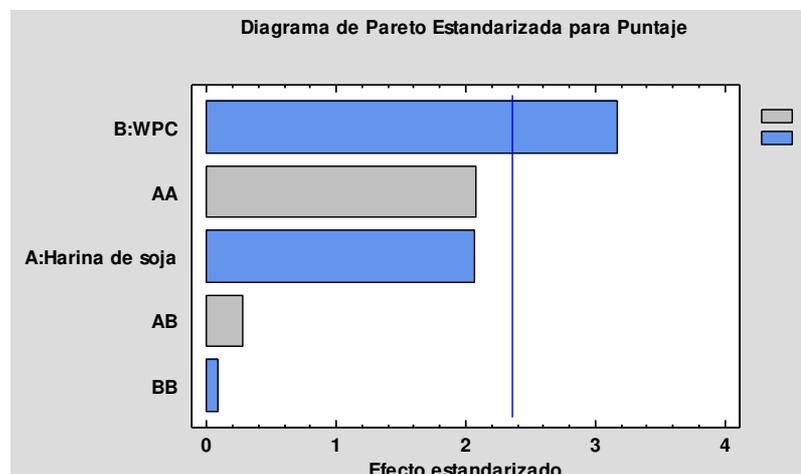


Figura IV.13 Diagrama de Pareto para puntaje

En la Figura IV.14 podemos observar, que tanto la harina de soja como el WPC influyen en el puntaje, aunque ambos tienen un efecto inverso, es decir a mayor adición de harina de soja y/o WPC el puntaje de la galletita disminuye.

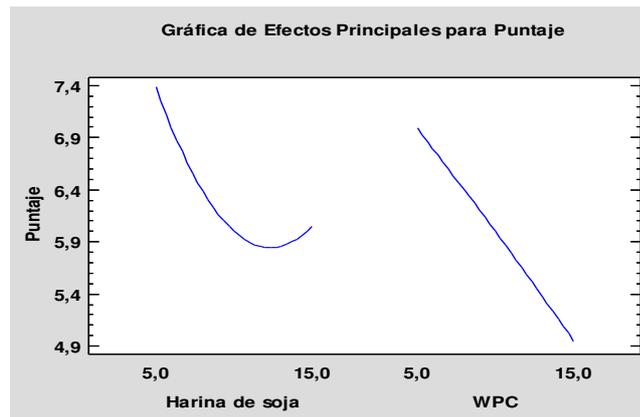


Figura IV.14 Grafica de efectos principales para puntaje

En este caso el WPC tiene mayor pendiente, esto indica que un pequeño aumento de su contenido representa una disminución acentuada del puntaje.

La influencia, a nivel de tendencias, de los diferentes agregados proteicos ensayos sobre el puntaje se muestra en la Figura IV.15, correspondiente a la gráfica de superficie de respuesta. Se puede observar que los mejores puntajes se obtienen a valores bajos de HS y WPC, es decir que a valores bajos de enriquecimiento proteico es donde las características subjetivas de sabor y masticabilidad alcanzan sus mejores puntajes.

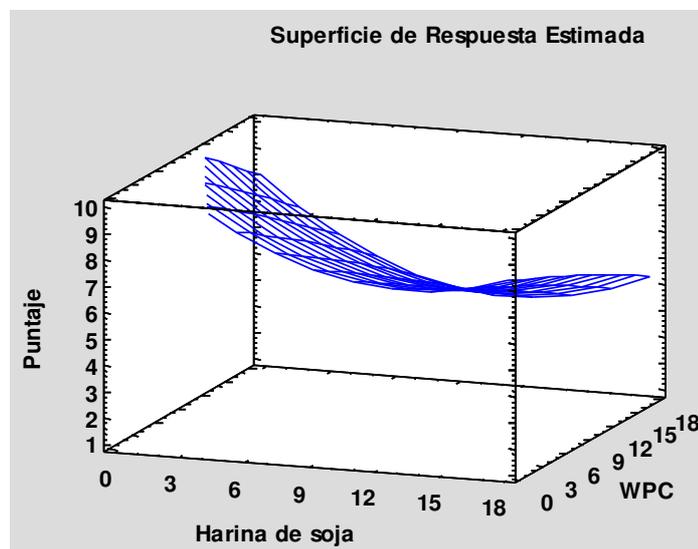


Figura IV.15 Grafica de superficie de respuesta estimada para puntaje

Esto coincide con el trabajo de Pérez et al. (2008), quienes con el agregado de derivados proteicos de soja en galletitas dulces obtienen como resultado una masa más seca.

Con respecto al sabor, Visentín et al. (2009), observaron que el agregado de HS 6% + WPC 6% permitió aumentar el puntaje químico a sin deterioro evidente de las características organolépticas en panes. Mientras que Jekel et al. (2004) encontró que el enriquecimiento de galletas de harina de arroz con harina de soja (25%) permite aumentar el valor proteico con reducido costo y además mejorar las características sensoriales. Lo que hace suponer que la característica que más influenciada por estos agregados es la masticabilidad por sobre el sabor.

En la Tabla IV.17 se encuentran las condiciones en la región del punto óptimo para puntaje subjetivo (Valor óptimo = 10) de la Figura IV.15.

Tabla IV.17 Punto óptimo para puntaje subjetivo

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Harina de soja	2,92893	17,0711	2,92893
WPC	2,92893	17,0711	2,92918

Lisina:

En la Tabla IV.12 la falta de ajuste no pudo ser determinada (Tabla IV.19). Se puede suponer que el modelo ajusta adecuadamente, por lo tanto representa los datos experimentales en el dominio evaluado. El valor de r^2 es de 99,9 % lo que indica que el modelo obtenido explica el 99,9 % de la variabilidad de los datos experimentales.

Al analizar los resultados del ANOVA se observa una influencia significativa de los componentes lineales de los dos factores estudiados ($P < 0,05$) para HSD y WPC y su combinación cuadrática.

Ambos factores mejoran notablemente el porcentaje de lisina y son estadísticamente significativos en el nivel de confianza de 95%; se puede observar en la Figura IV.16. que el efecto más grande es para el WPC.

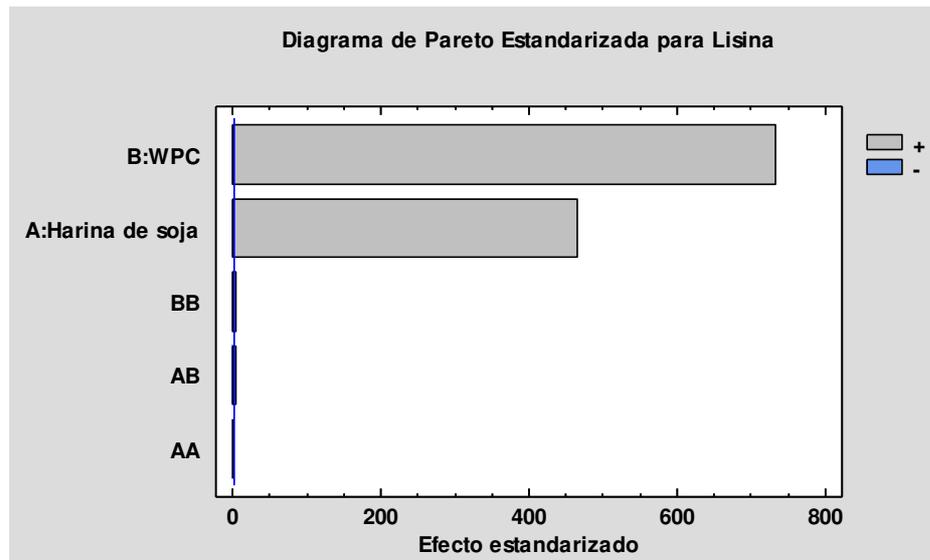


Figura IV.16 Diagrama de Pareto para lisina

En la Figura IV.17 vemos que ambos factores son influyentes, siendo el WPC quien presenta una pendiente mayor, esto indica que un pequeño aumento en el contenido de WPC representa un aumento directo del porcentaje de lisina.

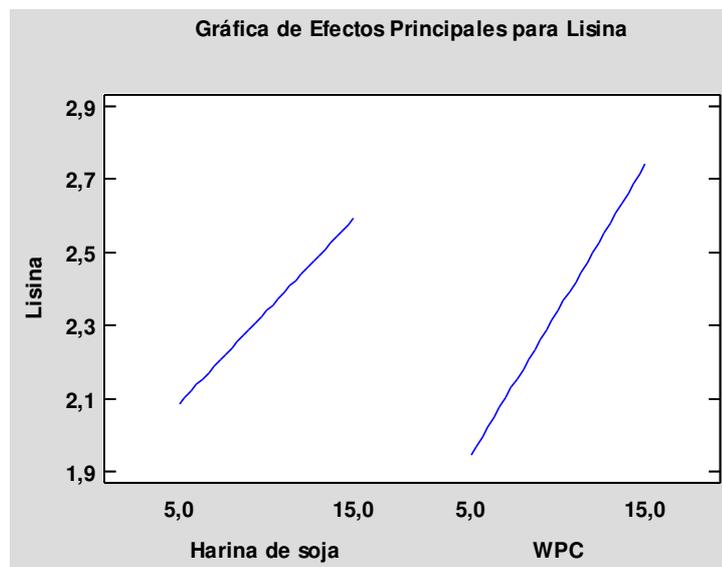


Figura IV.17 Grafica de efectos principales para lisina

La Figura IV.18 corresponde al comportamiento del porcentaje de lisina en función de los diferentes ingredientes proteicos y sus niveles, mediante la gráfica de superficie de respuesta. De dicho estudio se puede inferir que a mayor contenido de HS y WPC mejora notablemente el porcentaje de lisina total.

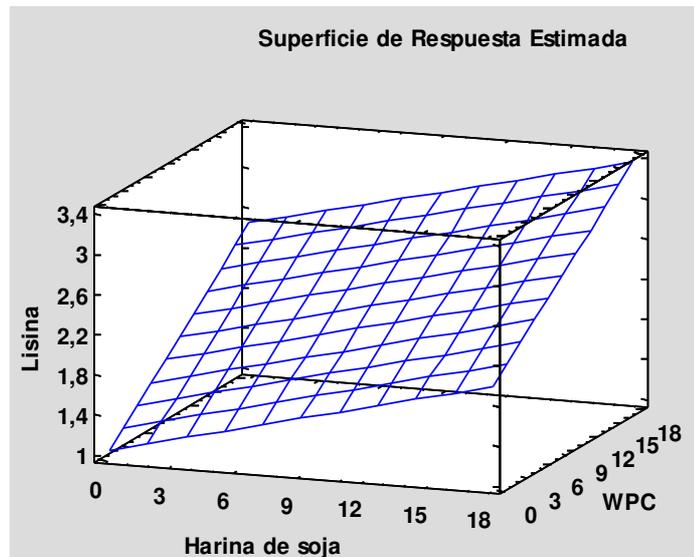


Figura IV.18 Grafica de superficie de respuesta estimada para lisina

Debido a que el contenido de lisina total (LT), no siempre se correlaciona bien con el valor nutricional de la proteína, es importante determinar el contenido de lisina disponible (LD) o biológicamente activa (Araújo y Menezes, 2005). Grandes diferencias entre la LT y la LD en productos alimenticios a base de cereales han sido observadas con anterioridad (Torbatinejad et al., 2005).

La incorporación de harina de soja a galletitas dulces tipo cookies permite un aumento de la calidad de proteína resultante, mientras que el agregado de concentrado de suero caseario produce un aumento del contenido proteico pero genera una importante disminución de la calidad de estas proteínas debido a la pérdida de disponibilidad de lisina. (Pérez *et. al.*, 2008). Esta pérdida estaría fundamentada en la reacción de Maillard, que da origen a la formación de aromas, compuestos coloreados y antioxidantes, produciendo además la pérdida de aminoácidos esenciales.

Según Erben (2016), la pérdida de disponibilidad de lisina en panes es de alrededor de un 30% y en cookies es de alrededor de un 20%. Aunque faltaría determinar con exactitud cuánto es el porcentaje de LD para las crackers, si tomamos el porcentaje de pérdida de las cookies como referencia por sobre él teórico, igualmente la adición de estos ingredientes proteicos, resultaría beneficiosa.

Se debe destacar que, si bien el huevo deshidratado participa como ingrediente en la formulación, su aporte en proteínas y lisina es constante en todos los ensayos experimentales. Por lo tanto, en esta discusión sólo se considera el efecto de aquellos ingredientes que son variables del sistema: harina de soja y concentrado proteico de suero caseario.

En la Tabla IV.18 se encuentran las condiciones en la región del punto óptimo para lisina (Valor óptimo = 3,26212) de la Figura IV.18.

Tabla IV.18 Punto óptimo para lisina

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Harina de soja	2,92893	17,0711	17,0711
WPC	2,92893	17,0711	17,0711

Optimización de las respuestas

Se realizó la optimización de las respuestas utilizando como criterio la maximización de todos los valores analizados. Esto se llevó a cabo maximizando la función deseabilidad, la cual tiene por objetivo encontrar condiciones experimentales que aseguren que todas las respuestas presentan un valor óptimo deseable y predicho. En la Tabla IV.19 se presentan los límites inferiores y superiores a través de los valores de respuesta obtenidos del diseño experimental y los criterios usados en la función de deseabilidad para la optimización.

TablaIV.19 Valores de respuesta y Óptimo.

<i>Respuesta</i>	<i>Predicción</i>	<i>Inf. 95,0%</i>	<i>Sup.95,0%</i>	<i>Deseabilidad</i>
Maquinabilidad	7,44206	6,50218	8,38194	0,576823
Espesor	43,7669	42,5794	44,9544	0,691735
Puntaje	7,14062	6,17183	8,10941	0,587212
Lisina	2,01351	2,01187	2,01515	0,249641
Tiempo de cocción	8,57907	7,83166	9,32648	0,725418
Color	8,00002	7,57897	8,42106	1

Deseabilidad optimizada = 0,590582

Las concentraciones requeridas para alcanzar la deseabilidad optimizada se muestran en la Tabla IV.20

Tabla IV.20 Factores establecidos y Óptimo

<i>Factor</i>	<i>Establecido</i>
Harina de soja	6,94626
WPC	7,84885

Dado que el WPC le confiere plasticidad a la masa y la harina de soja tiende a hacerla más dura y seca, sería de esperar que el agregado simultáneo de estos componentes de como resultado una masa con características aceptables como consecuencia del efecto contrapuesto de ambos ingredientes proteicos.

Verificación de la idoneidad del modelo obtenido

Para evaluar la idoneidad del modelo para predecir los valores en las respuestas, se procedió elaborar galletitas como se indicó en la sección de materiales y métodos, con los niveles óptimos de los factores determinados en el punto anterior.

En la Tabla IV.21 se muestran los valores de las respuestas ajustadas a partir de los modelos de predicción, los valores límites superior e inferior (95 % de confianza) y los valores experimentales obtenidos:

Tabla IV.21 Verificación del modelo. Valores experimentales y predichos por el diseño experimental

<i>Respuesta</i>	<i>Predicción</i>	<i>Inf. 95,0%</i>	<i>Sup.95,0%</i>	<i>Experimental</i>
Maquinabilidad	7,44206	6,50218	8,38194	7
Espesor	43,7669	42,5794	44,9544	43
Puntaje	7,14062	6,17183	8,10941	7
Lisina	2,01351	2,01187	2,01515	2,01
Tiempo de cocción	8,57907	7,83166	9,32648	9

Color	8,00002	7,57897	8,42106	8
-------	---------	---------	---------	---

Teniendo en cuenta que los valores experimentales se encuentran dentro de los rangos de confianza estimados para este modelo, se puede concluir que los modelos seleccionados permiten predecir los valores de las respuestas.

Como se puede observar en la Tabla IV.21 solo la variable de tiempo de cocción esta cercana al límite superior, esto se debe al que al realizar la primer validación, nos encontramos con galletitas sin quiebre por falta de cocción a los 8 minutos, al aumentar el tiempo de cocción, se produjo el quiebre de todas las galletitas al día siguiente de elaboración, fenómeno que se conoce en la industria de las galletitas como “checking”. Esto se debe a un inadecuado enfriamiento, a medida que el gradiente de humedad a través de la pieza de masa va aumentando durante el secado, se producen tensiones debidas a la contracción de la estructura del almidón. Estas tensiones, si no se relajan, pueden producir grietas al enfriarse la galleta, que traerá consigo fracturas. El problema se puede eliminar si se seca la galleta más lentamente o si reduce el contenido total de humedad hasta niveles suficientemente bajos.

En este caso en particular, creemos que este defecto no estuvo dado por el secado, sino por la hidrofiliidad de la proteína de soja que compite con el almidón por el agua, disminuyendo su hidratación. Con lo cual, se decide repetir la experiencia adicionando 5% más de agua, disminuyendo así el puntaje para la maquinabilidad ya que se vuelve un poco más dificultoso su manejo, pero logrando evitar el “checking”. El tiempo de cocción aumentó a medida que incrementó el nivel de agua agregado a la masa.

Luego de la verificación del valor óptimo, se llevó a cabo una evaluación sensorial de aceptabilidad a través de un panel integrado por población celíaca quienes definieron su aceptación.

Se encuestaron 22 personas celíacas, que participaron de manera voluntaria. En la Figura IV.19 se muestra la distribución por sexo y edad de los participantes.

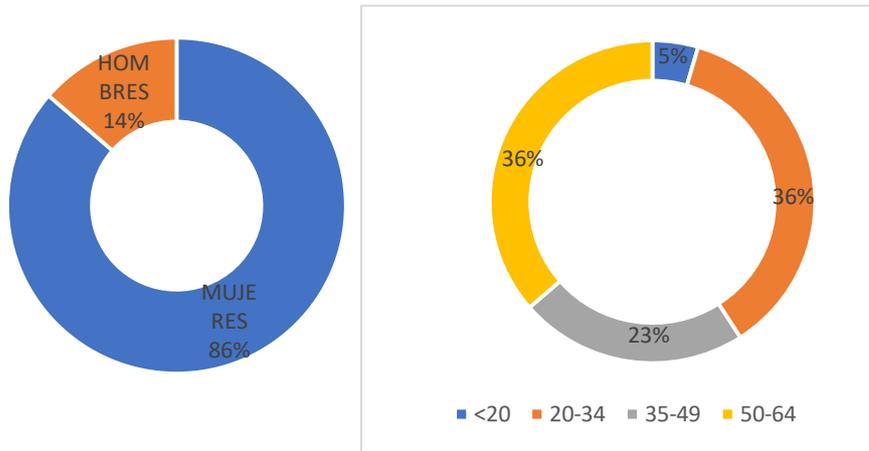


Figura IV. 19 Distribución por sexo y por rango de edad

En la distribución por sexo se observa un claro predominio de mujeres. El rango de edad de los participantes estuvo comprendido entre 13 y 64 años y para el análisis de los datos los participantes se dividieron en cuatro grupos etarios correspondientes a las categorías de edad de < 20, 20 a 34, 35 a 49 y 50 a 64 años.

En la Figura IV. 20 se presenta el gráfico de frecuencia donde se puede observar el porcentaje de consumidores que seleccionó cada parámetro de la escala hedónica, a partir de un gráfico de columnas.

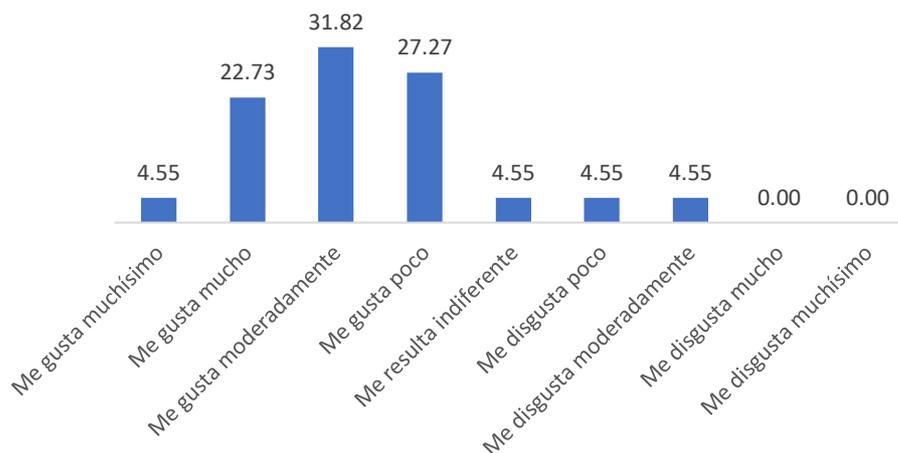


Figura IV.22 Frecuencia de aceptabilidad de consumidores celíacos.

En líneas generales se puede decir que la aceptabilidad de las crackers fue buena, más del 80 % de los participantes coincidieron en un grado de gusto que estuvo entre “me gusta poco” y “me gusta mucho”, donde “me gusta mucho” equivale a 8 y “me gusta poco” equivale a 6 puntos, tal y como era esperable según el valor predicho para esta variable de 7 puntos, que se obtuvo mediante la metodología de deseabilidad de la superficie de respuesta.

Se aplicó el test de ANOVA para evaluar el grado de aceptación en función del sexo de los consumidores, hallando que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,42$).

Tampoco fueron halladas diferencias significativas en el grado de aceptación cuando se analizó según la edad del evaluador ($p = 0,48$). Estos resultados indican un agrado similar de la muestra que resulta independiente del sexo y edad del consumidor.

V. CONCLUSIONES

- Del estudio del efecto de la incorporación de distintas proporciones de harinas y almidones sin TACC, se observó que el ensayo con mayor porcentaje de harina de arroz fue el que mejor resultados arrojó, tanto en las características objetivas como subjetivas.

- Respecto de la incorporación de hidrocoloides, no se seleccionó ningún hidrocoloides como aditivo, si bien se trabajó en la formulación base utilizando alternativamente diferentes porcentajes de goma xántica, goma guar e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), no se obtuvieron buenos resultados con ninguno de los tres hidrocoloides utilizados, se pudo observar que a mayor contenido de gomas mayor dureza en el tiempo del producto. Al primer día de elaborado perdía el quiebre típico de las galletitas tipo *crackers*. Tampoco hubo cambios significativos en la maquinabilidad del producto, por lo que se decidió trabajar la formulación sin hidrocoloides.

- Del estudio del efecto de estos ingredientes proteicos sobre las características objetivas y subjetivas de las galletitas se determinó que: el puntaje subjetivo (sabor y masticabilidad) se ve afectado significativamente por el WPC, a mayor contenido de WPC menor puntaje; el contenido de lisina se ve directamente afectado por el contenido tanto de WPC como de HS, a mayor contenido de estos factores y todas sus interacciones, mayor porcentaje de lisina; mientras que el color, se ve afectado significativamente por la harina de soja.

- Teniendo en cuenta los valores óptimos predichos para una deseabilidad del 59%, se obtienen como porcentajes óptimos para suplementar la mezcla base con un 7% de WPC y un 8 % de harina de soja.

- La optimización de la formulación para elaborar galletitas “sin TACC” fortificados mediante la adición de proteínas de alto valor biológico, permitió obtener un producto de buena calidad sensorial y mejorado valor nutricional. Se logró aumentar el contenido total teórico de lisina en un 90%.

- Las galletitas fortificadas tuvieron una alta aceptabilidad por parte de los consumidores celíacos logrando obtener un puntaje de 7 por sobre 9 puntos promediando el 80% de las encuestas de aceptabilidad hechas a los consumidores celíacos.

VI. PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIONES FUTURAS

A partir de los resultados y discusiones presentados en este trabajo de Tesis, las perspectivas de investigaciones futuras orientan a complementar el trabajo aquí realizado en dos direcciones:

- Teniendo en cuenta que otras de las grandes falencias en la alimentación de la población celíaca además de las proteínas, son el Fe y las vitamina del grupo B y que en Argentina la fortificación de harinas de trigo con estos micronutrientes esta exigida por la Ley 25630, ya que la deficiencia de Fe y la anemia ferropénica constituyen problemas de salud pública y que los consumidores celíacos quedan fuera del alcance de esta Ley, es fundamental trabajar en enriquecimiento nutricional apuntado a estos micronutrientes.

- Por otro lado, resulta fundamental evaluar el tiempo de vida útil de este producto óptimo desarrollado en función de los atributos sensoriales y los cambios texturales ocasionados durante el almacenamiento.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Akobeng A.K., Thomas A.G. (2008). Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*; 27 (11): 1044-52.
- Alaedini A, Green PH. (2005). Narrative review: celiac disease: understanding a complex autoimmune disorder. *Annals of Internal Medicine*, 142, 289–298.
- Anderson, M.J., Whitcomb, P.J., 2005. *RSM Simplified: Optimizing Process Using Response Surface Methods for Design of Experiments*. Productivity Press, New York.
- Arendt, E. K., O'Brien, C. M., Schober, T., Gormley, T. R., & Gallagher, E., (2002). Development of gluten-free cereal products. *Farm and Food*, 12, 21-27.
- Aristizábal, J y Sánchez, T. (2007). Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca. *Boletín de servicios agrícolas de la FAO* 163.
- Athapol, N.; Ngamchuen, K.; Muanmai, A. (1997). Effect of aging on the quality of glutinous rice crackers. *Cereal Chemistry* 74(1), 12-15.
- Arranz E.(2008) Dieta sin gluten y prevención de la enfermedad celíaca. En: Arranz E, Garrote JA, eds. *Enfermedad celíaca*. Madrid: Ergon.P:201-8
- Bai, J., Zeballos, E., Fried M. 2005. WGO – OMGE Practice Guidelines: Celiac Disease. *World Gastroenterology News*.10:1-8.
- Baltsavias, A., Jurgens, A., van Vliet T. (1999a). Fracture Properties of Short-Dough Biscuits: Effect of Composition *Journal of Cereal Science* 29,235–244
- Baro, L.; Jiménez, J.; Martínez, A. y Bouza, J. (2001). Péptidos y proteínas de la leche. *Ars. Pharmaceutica*. 42(3-4): 135-145.
- Belderok B. (2000) Developments in bread-making processes. *Plant Foods Hum Nutr*. 55:1-86
- BeMiller, FS, Daniels, JR, 2002. Guar–xanthan interactions. Disponible en: http://www.cfs.purdue.edu/class/F&N630/Virt_Class_2/guarandLBG.htm. Ultimo acceso 4 de diciembre 2010.
- BeMiller, J.N. y Whistler, R.L. (1996). Carbohydrates. En Fennema O.R. (Ed.), *Food Chemistry*, (pp. 158-223) Marcel Dekker Inc., New York.
- Bourne, M. C. (1968). Texture Profile of Ripening Pears. *Journal of Food Science*, 223-226.

- Broyart, B., Trystram, G., & Duquenoy, A. (1998). Predicting colour kinetics during cracker baking. *Journal of food engineering*, 35(3), 351-368.
- Burrell, M. M. (2003) Starch: the need for improved quality or quantity an overview. *Journal of Experimental Botany*, vol. 54, N° 382, p. 451-456.
- Calderón de la Barca, A. M., Rojas-Martínez, M. E., Islas-Rubio, A. R., Cabrera-Chávez, F.(2010). Gluten-Free Breads and Cookies of Raw and Popped Amaranth Flours with Attractive Technological and Nutritional Qualities. *Plant Foods for Human Nutrition* 65, 241–246
- Cárdenas, A.K., (2008) Desarrollo de un Manual de Operación para un Proceso de Galletas Crackers.
- Catassi C, Yachha SK. (2009). The epidemiology of celiac disease. In: *The science of gluten-free foods and beverages*. Eds Arendt E.K, Dal Bello F. 2009. MN,USA: AACC International. Pp: 1-13.
- Catassi C.,(2005) El Mapa mundial de la Enfermedad Celíaca. *Acta Gastroenterol. Latinoam.*
- Catassi, C., Kryszak, D., Bhatti, B., Sturgeon, C., Helzlsouer, K., Clipp, S.L., Gelfond, D., Puppa, E., Sferruzza, A., Fasano, A. (2010). Natural history of celiac disease autoimmunity in a USA cohort followed since 1974. *Annals of Medicine* 42, 530-538.
- Chevallier, S., Colonna, P., & Lourdin, D. (2000). Contribution of major ingredients during baking of biscuit dough systems. *Journal of Cereal Science*, 31(3), 241-252.
- Chung, H-J., Cho, A., & Lim, S-T. (2014). Utilization of germinated and heat-moisture-treated brown rices in sugar-snap cookies. *LWT-Food Science and Technology*, 57(1), 260-266.
- Cock, J. H. (1982) Cassava: a basic energy source in the tropics. *Science*, vol. 218, N° 4574, p. 755-762.
- Codex Alimentarius. Norma relativa a los alimentos para regímenes especiales destinados a personas intolerantes al gluten CODEX STAN 118 - 1979 Adoptado en 1979. Enmiendas: 1983 y 2015. Revisión: 2008.
- Código Alimentario Argentino (CAA). Ley 25630, Decreto 593/03.
- Código Alimentario Argentino. Art 760. (C.A.A.), Capítulo IX: “Alimentos Farináceos- cereales, harinas y derivados” Disponible en:

- Cornell JA. (2002). Experiments with Mixtures: Designs, Models, and the Analysis of Mixture 22-95, 132-220. John Wiley & Sons. New York , USA
- Coronel Rodríguez C., Guisado Rasco M.C. (2011) Enfermedad celíaca. *Pediatría Integral*, 15, 2: 109-125.
- de Luna Jiménez, A. (2006). Valor nutritivo de la proteína de soya. *Investigación y Ciencia: de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (36), 29-34.
- De Wit, J.N. (2003). Dairy ingredients in non-dairy foods. *Encyclopedia of dairy sciences*. Elsevier Science. Londres, England.
- Deora NS, Deswal A, Mishra HN (2014) Alternative approaches towards gluten-free dough development: *Recent Trends Food Eng Rev* 6:89–104.
- Díaz, O.; Pereira, C.D. y Cobos, A. (2004). Functional properties of ovine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese manufacture by-products. *Food Hydrocoll.* 18(4): 601-610.
- Endres, J.G. (2001). Uses in food systems. Soy protein products. Characteristics, nutritional aspects, and utilization. AOCS. Illinois, United States.
- Erben, M. (2016) Harinas enriquecidas en proteínas: Efecto del procesamiento tecnológico sobre la calidad nutricional de productos Panificados.
- Estevez V, Ayala J, Vespa C, Araya M. (2016) The gluten- free basic food basket: a problem of availability, cost and nutritional composition. *Eur J Clin Nutr.*;70(10) 1215-1217.
- Estévez, V., & Araya, M. (2016). La dieta sin gluten y los alimentos libres de gluten. *Revista chilena de nutrición*, 43(4), 428-433.
- European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. S. Husby, S. Koletzko, I.R. Korponay-Szabo, M.L. Mearin, A. Phillips, R. Shamir, R. Troncone, K. Giersiepen, D. Branski, C. Catassi, M. Lelgeman, M. Mäki, C. Ribes-Koninckx, A. Ventura, and K.P. Zimmer, for the ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis, on behalf of the ESPGHAN Gastroenterology Committee. *JPGN* 2012;54: 136–160.

- Fardet A.(2015). Wheat-based foods and non-celiacgluten/wheat sensitivity: Is drastic processing the main key issue?. *Med Hypotheses*; 85 (6): 934-9.
- Fasano, A. and Catassi, C. (2001). "Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum". *Gastroenterology* Volume 120, pp. 636–651
- Feighery, C. (1999). Fortnightly review: coeliac disease. *BMJ: British Medical Journal*, 319(7204), 236.
- Foegeding, E. y Luck, P. (2002). Whey protein products. *Encyclopedia of Foods Sciences and Nutrition*. Academic Press. New York, United States.
- Francischi, M. L P; Ormenese, R. C. S; Speranza, S. M. (1998). Textura aplicada a pães, biscoitos e massas alimentícias. Governo do Estado de São Paulo. Secretaria de Agricultura e Abastecimento. ITAL, Campinas.
- Gallagher, E., Gormley, T. R., & Arendt, E. K. (2004). Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science & Technology*, 15 (3-4), 143- 152
- Goddard C, Gillett H. (2006) Complications of coeliac disease: Are all patients at risk? *Postgrad Med J*;82:705-12.
- Gómez, J.C.; G. Selvaggio, M. Viola, B. Pizarro, G. la Motta, S. de Barrio, R. Castelletto, R. Echeverría, E. Sugai, H. Vazquez, E. Mauriño and J.C. Bai, (2001). Prevalence of celiac disease in Argentina: Screening of an Adult population in La Plata area. *American Journal of Gastroenterology* 96:2700-2704.
- Gómez, M., Oliete, B., Rosell, C. M., Pando, V., & Fernández, E. (2008) Studies on cakequality made of wheat-chickpea flour blends. *LWT-Food Science and Technology*.41(9), 1701-1709.
- Green P.H., Cellier C. (2007). Celiac disease. *New England Journal of Medicine*; 357,1731–43.
- Ministerio de Salud de la Republica Argentina (2013) Guía de práctica clínica sobre diagnóstico y tratamiento de la enfermedad celíaca en el primer nivel de atención.
- Gujral, H. S.; Rosell, M. C. 2004. Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Research International* 37, 75–81

- Gularte MA, Rosell CC (2011). Physicochemical properties and enzymatic hydrolysis of different starches in the presence of hydrocolloids. *Carbohydr Polymers* 85, 237–244.
- Ha, E. y Zemel, M. (2003). Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: Mechanisms underlying health benefits for active people. *J. Nutr. Biochem.* 14(5): 251- 258.
- Haas S.V. (1963) Celiac disease. *N Y State J Med*; 1: 1346-50.
- Hadnadev, T.R., Torbica, A.M., & Hadnadev, M.S. (2013). Influence of buckwheat flour and carboxymethyl cellulose on rheological behaviour and baking performance of gluten-free cookie dough. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 1770-1781.
- Han, J. J., Janz, J. A., & Gerlat, M. (2010). Development of gluten-free cracker snacks using pulse flours and fractions. *Food Research International*, 43(2), 627-633.
- Hill et al. (2005) Clinical Guideline. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr*; 40 (1): 1-19.
- Hinrichs, R., Götz, J., Noll, M., Wolfschoon, A., Eibel, H., & Weisser, H. (2004). Characterisation of different treated whey protein concentrates by means of low-resolution nuclear magnetic resonance. *International Dairy Journal*, 14(9), 817-827.
- Hoefler, A. C. (2004). "Functions and Properties". Capítulo 3, p. 27 del libro *Hydrocolloids*. Editado por Eagan Press. American Association of Cereal Chemist. St. Paul, Minesota, USA.
- Hogberg L., Laurin P., Falth-Magnusson K. (2004) Oats to children with newly diagnosed celiac disease: a randomized double blind study; 53, 649-654.
- Hollen E., Holmgren Peterson K., Sundqvist T. (2006) Coeliac children on a gluten-free diet with or without oats display equal antiavenin antibody titres. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 41,42-47.
- Hosney RC (1994) Principles of cereal science and technology, second ed. AACC, St-Paul, Minnesota, USA.

- Hosney RC, Rogers DE (1994) Mechanism of sugar functionality in cookies. In: The Science of Cookie and Cracker Production. Faridi H, Eds., AACC, St-Paul, Minnesota, USA. pp 203–225
- Hosney RC. (1986). Principles of Cereal Science and Technology, 2nd edn. P. 327. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, Inc.
- Houben A, Höchstötter A, Becker T (2012) Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: an overview. *Eur Food Res Technol* 235:195–208
- ANMAT: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_IX.pdf
- Ibrahim, F.; Babiker, E.; Yousif, N. y Tinay, A. (2005). Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristics of sorghum flour supplemented with whey protein. *Food Chem.* 92(2): 285-292.
- International Wheat Gluten Association (IWGA): <http://www.iwga.net>.
- Janatuinen E.K., Kempainen T.A., Pikkarainen P.H. (2000). Lack of cellular and humoral immunological responses to oats in adults with celiac disease. *Gut*; 46:327-331.
- Janatuinen E.K., Kempainen T.A., Julkunen R.J. (2000). No harm from five year ingestion of oats in celiac disease. *Gut*, 50, 332-335.
- Jaspreet, S.; Lovedeep, K. and McCarthy, O. J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications. A review. *Food Hydrocolloids.* 21(1):1 – 22.
- Jisha, S. y Padmaja, G. (2011). Whey protein concentrate fortified baked goods from cassavabased composite flours: Nutritional and functional properties. *Food Bioprocess Technol.* 4(1): 92-101.
- Kaur, M., Sandhu, K.S., Arora, A., & Sharma, A. (2015). Gluten free biscuits prepared from buckwheat flour by incorporation of various gums: Physicochemical and sensory properties. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 628-632
- Khouryieh, H. A., Herald, T. J., Aramouni, F., & Alavi, S. (2006). Influence of mixing temperature on xanthan conformation and interaction of xanthan–guar gum in dilute aqueous solutions. *Food Research International*, 39(9), 964-973.

- Kuehl R. O. (2001). Diseño de experimentos: principios estadísticos para el diseño y análisis de investigaciones. Segunda edición. International Thomson.
- Laurin Pia et al (2005). Even Small Amounts of Gluten Cause Relapse in Children with Celiac Disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* January ; 34 (1): 26-30.
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., & Biliaderis, C. G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of food Engineering*, 79(3), 1033-1047.
- León, A. E., & Rosell, C. M. (2007). De tales harinas, tales panes. Baéz ediciones. Argentina.
- Lezcano, A. E. (2008). Galletitas y Bizcochos. Alimentos argentinos.
- Lezcano, A. E. (2015). Galletitas y Bizcochos. Alimentos argentinos.
- Lucena, M.E.; Álvarez, S.; Menéndez, C.; Riera, F.A. y Álvarez R. (2007). α -Lactalbumin precipitation from commercial whey protein concentrates. *Sep. Purif. Technol.* 52(3):446-53.
- Ludvigsson J., Leffler D., Bai C., Biagi F., Fasano A., Green P., et al. (2013) The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut* 62: 43-52.
- Manley D., (1983) *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies*, Ellis Horwood Ltd. New York.
- Manley DJR (1991) Classification of biscuits. In: 'Technology of biscuits, crackers and cookies' 2nd edn., Ellis Horwood series in food science and technology, New York pp 231–237.
- Manley, D. (2000). *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies*, Third edition. Woodhead .Publishing Limited, Cambridge, UK.
- Mariani, P., Viti, M.G., Montuori, M., La Vecchia, A., Cipolletta, E., Calvani, L. & Bonamico, M. (1998) The gluten-free diet: a nutritional risk factor for adolescents with celiac disease? *JPGN* 27, 519–523.
- Matos ME, Rosell C (2014) A review: understanding gluten free dough for reaching breads with physical quality and nutritional balance. *J Science Food Agric* 95:653–661.

- Matos Segura, M. E. (2013). *Formulación y desarrollo de productos horneados libres de gluten a base de harina de arroz enriquecidos con proteínas* (Doctoral dissertation).
- Mazzeo T, Cauzzi S, Brighenti F and Pellegrini N. (2014). The development of a composition database of gluten-free products. *Public Health Nutr*; 18: 1353–1357.
- Milde, L. B., González, K. G., Valle Urbina, C., & Rybak, A. (2009). Pan de Fécula de Mandioca con Leche. Comportamiento Físico al Adicionar un Emulsionante: Cassava Starch Bread With Milk. Physical Behavior Upon Ading an Emulsifier. *Revista de Ciencia y Tecnología*, (11), 04-08.
- Miñarro, B., Albanellb, E., Aguilara, N., Guamisa, B & Capllas, M.(2012). Effect of Legume Flours on Baking Characteristics of Gluten-Free Bread. *Journal of Cereal Science*, 9, vol. 56, no. 2, pp. 476-481.
- Mir SA, Shah MA, Naik HR, Zargar IA (2016) Influence of hydrocolloids on dough handling and technological properties of gluten-free breads. *Trends Food Sci Technol* 51:49–57
- Miranda Díaz, M., Alonso Romero, L., De Castro Ochoa, M., & Millán Jiménez, A. (2012). Enfermedad celíaca: nuevos criterios diagnósticos. *Vox Paediatrica*, 19(2), 28-33.
- Miranda, J., Lasa, A., Bustamante, M. A., Churruca, I., & Simon, E. (2014). Nutritional differences between a gluten-free diet and a diet containing equivalent products with gluten. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69(2), 182-187.
- Montgomery, D. C. (1991). “Métodos y Diseños de Superficie de Respuesta” pp. 467 – 485, en *Diseño y Análisis de Experimentos*. Grupo Editorial Iberoamericana. México.
- Mora, M.; N. Litwin, M.C. Toca, M.I. Azcona, R. Solís, Neffa, F. Battiston, M. Solaegui, G. Ortiz, M. Wagener, J. Olivera, S. Marchisone, G. Oropeza, C. Bastianelli, A. González and G. Rezzónico, (2012). Prevalencia de enfermedad celíaca: estudio multicéntrico en población pediátrica de cinco distritos urbanos de la Argentina. *Archivo Argentino de Pediatría* 110:490-496.

- Moscoso J. Felipe, & Quera P. Rodrigo. (2016). Enfermedad celíaca. Revisión. *Revista médica de Chile*, 144(2), 211-221
- Muñi, A.; Paez, G.; Faría, J.; Ferrer, J. y Ramones, E. (2005). Eficiencia de un sistema de ultrafiltración/nanofiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración del lactosuero. *Rev. Cient.* 15(4): 361-367.
- Muñoz, A.M., Cívile, G.V., and Carr, T. (1992). *Sensory Evaluation in Quality Control*, pp. 3. Van Nostrand Reinhold, New York, Estados Unidos.
- Murray J.A., Rubio-Tapia A., Van Dyke C.T., Brogan D.L., Knipschild M.A., Lahr B., et al. (2008) Mucosal atrophy in celiac disease: extent of involvement, correlation with clinical presentation, and response to treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol* 6: 186-93.
- Murray, J. A. (1999). "The widening spectrum of celiac disease". *American Journal of Clinical Nutrition*. Volume 69, pp. 354–365.
- National Institute for Health and Clinical Excellence.(NICE) Coeliac disease: Recognition and assessm.
- Niewinski, M. M. (2008). Advances in celiac disease and gluten-free diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 108(4), 661-672.
- Norton, I. T. and Foster, T. J. (2002). "Hydrocolloids in real food systems. In *Gums and stabilizers in the food industry II*" (pp. 187–200). Royal Society of Chemistry.
- 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 biscuits. *Critical reviews in food science and nutrition* 48, 824-839.
- Parra Huertas, R.A. (2009). Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*. 62(1): 4967-4982.
- Paveley W.(1988) From Arataeus to Crosby: a History of coeliac disease. *British Medical Journal*; 297: 24-31.
- Pedrosa Silva Clerici, M. T., & El-Dash, A. A. (2006). Farinha extrusada de arroz como substituto de glúten na produção de pão de arroz. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 56(3), 288-298.
- Penagini F, Galli E, Dilillo D, Fabiano V, Mameli C, Vincenzo G. (2015) Gluten-free diet in children: Health benefits and nutritional complications. En:

- Gluten free diets. Food sources, role in celiac disease and health benefits [Editor: Tobias R]. Nova Science. New York. pp 2-10.
- Pérez et.al (2008). “Efecto del mejoramiento proteico sobre los parámetros de calidad nutricional y sensorial de galletitas dulces (cookies)”. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Volumen 58, N° 4 pp. 403–409.
 - Pérez, S., Matta, E., Osella, C., de la Torre, M., & Sánchez, H.D. (2013) Effect of soy flour and whey protein concentrate on cookie color. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 120-125
 - Picón Pineda, J. (2014). Estudio de la influencia del tipo de harina en el desarrollo de galletas sin gluten.
 - Polanco, I., & Ribes, C. (1995). Enfermedad celíaca. *Pediatría Integral*, 1(2), 124.
 - Presutti R. John et al. (2007) Celiac Disease. *American Family Physician*; 76 (12):1795-1802. 7.
 - Pruska-Kędzior, A., Kędzior, Z., Gorący, M., Pietrowska, K., Przybylska, A., & Sychalska, K. (2008). Comparison of rheological, fermentative and baking properties of gluten-free dough formulations. *European Food Research and Technology*, 227(5), 1523.
 - Puppó M.C.; Gularte M.A.; Pérez G.; Ribotta P. y Añón M.C. (2007). Soja. De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. (1ª Ed.). Hugo Baéz. Córdoba, Argentina.
 - Quintana, J. M., Califano, A. N., Zaritzky, N. E., Partal, P., & Franco, J. M. (2002). Linear and nonlinear viscoelastic behavior of oil-in-water emulsions stabilized with polysaccharides. *Journal of Texture Studies*, 33(3), 215-236.
 - Redlinger, P. A.; Setser, C. S.; Dayton, A. D. (1985). Measurements of bread firmness using the instron universal testing instrument: differences resulting from test conditions. *Cereal Chemistry* 62, 223-226.
 - Renzetti, S., Dal Bello, F., & Arendt, E. K. (2008). Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science*, 48(1), 33-45.

- Ribotta, P. D., Ausar, S. F., Morcillo, M. H., Pérez, G. T., Beltramo, D. M., & León, A. E. (2004). Production of gluten-free bread using soybean flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(14), 1969-1974.
- Rodrigo L. y Peña A.S. (2013). Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca. Barcelona, España: OmniaScience.
- Rodríguez, C. C., Jaime, B. E., & Rasco, M. G. (2015). Enfermedad celíaca. *PediatríaIntegral*, 102.
- Rodríguez Carbajo, P. (2015). Elaboración de galletas sin gluten con mezclas de harina de arroz-almidón-proteína.
- Rubio-Tapia A., Hill I., Kelly C., Calderwood A., Murray J.(2013). ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Am J Gastroenterol* 108: 656-76.
- Sabry, J. H., & Okada, G. (1992). Nutrient intakes of a group of adults on a gluten-free diet. *Journal of the Canadian Dietetic Association*.
- Sánchez, H. D. ; Osella, C. A. ; de la Torre M. A.; Mancuello J. C.; Fabre, H. C.; Barrio M. C. and Renner. E. (1990). Proteínas de suero en panificación.Influencia sobre algunas propiedades reológicas de la masa. En: Fortificación proteica de alimentos a base de cereales con concentrado proteico de suero. Editado por Renner. Giessen. Alemania.
- Sánchez, H. D. ; Osella, C. A. and de la Torre M. A. (1996). “Desarrollo de una fórmula para pan sin gluten”. *Información Tecnológica*. Volume 7, pp. 35-42.
- Sánchez, H. D., González, R. J., Osella, C. A., Torres, R. L., & De la Torre, M. A. G. (2008). Elaboración de pan sin gluten con harina de arroz extruidas - *Journal of Food*, 6(2), 109-116.
- Sánchez, H. D.; Osella, C. A. and de la Torre M. A. (2002). “Optimization of Gluten-Free Bread Prepared from Cornstarch, Rice Flour and Cassava Starch”. *Journal of Food Science*. Volume 67, Issue 1, pp. 416–419.
- Sánchez, H. D.; Osella, C. A. and de la Torre M. A. (2004). “Use of Response Surface Methodology to Optimize Gluten – Free Fortified with Soy Flour and Dry Milk”. *Food Sci Tech Int*. Volume 10, Issue 1, p .5.
- Sanz Cantalapiedra, R. (2017). Valoración de los pseudocereales y cereales menores en la mejora de la calidad nutricional de la dieta sin gluten.

- Sapone A, Bai JC, Ciacci C, et al. (2012) Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Med*, 10: 13. 35(1):46-55.
- Schaller, A. (2009). Sueros de Lechería. Dirección Nacional de Agroindustria. Cadenas Alimentarias. Alimentos Argentinos.
- Scherf KA, Ciccocioppo R, Pohanka M, Rimarova K, Opatrilova R, Rodrigo L, Kruzliak P. (2016) Biosensors for the diagnosis of celiac disease: current status and future perspectives. *Mol Biotechnol*.
- Shan L., Molberg O., Parrot I., Hausch F., Filiz F., Gray G.M., et al. (2002) Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*; 297: 2275-9.
- Sivaramakrishnan, H. P., Senge, B., & Chattopadhyay, P. K. (2004). Rheological properties of rice dough for making rice bread. *Journal of Food Engineering*, 62(1), 37-45.
- Smithers, G.W. (2008). Whey and whey proteins, from 'gutter-to-gold'. *Int. Dairy J.* 18(7):695-704.
- Smits B.J.(1989) History of coeliac disease. *BMJ*; 298: 387.
- Souza E, Kruk M, Sunderman DW (1994) Association of sugar-snap cookie quality with high molecular weight glutenin alleles in soft white spring wheats. *Cereal Chem* 70:601–605.
- Stern M, Ciclitira P, Van Eckert R, et al. (2001) Analysis and clinical effects of gluten in coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*; 13: 741–7.
- Surh, J.; Ward, L.S. y Mc Clements, D.J. (2006). Ability of conventional and nutritionally modified whey protein concentrates to stabilize oil in water emulsions. *Food Res. Int.* 39(7): 761-71.
- Thompson, T. (2000). Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten-free diet. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 100(11), 1389.
- Tonukari, N. J.(2004) Cassava and the future of starch. *Biotechnology issues for developing countries*. Valparaiso, Chile. Vol. 7, N° 1, p. 5-8.
- Torbica A, Hadnadev M, Dapčević Hadnadev T (2012) Rice and buckwheat flour characterisation and its relation to cookie quality. *Food Res Int* 48:277–283

- Tovar, T. (2008.) "Caracterización morfológica y térmica del almidón de maíz (*Zea mays*) obtenido por diferentes métodos de aislamiento". Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. p17-18
- Troncone R., Greco L., Mayer M., Paparo F., Caputo N., Micillo M., et al. (1996) Latent and potential coeliac disease. *Acta Paediatr*; 412: 10-4.
- Villarroel et.al (2009). "Desarrollo de una formulación optimizada de galletas para celíacos utilizando harina desgrasada de avellana chilena (*Gevuina avellana*, Mol) y harina de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Volumen 59, N° 2 pp. 184–190.
- Visentín, A. N., Drago, S. R., Osella, C. A., De la Torre, M. A., Sánchez, H. D., & González, R. J. (2009). Efecto de la adición de harina de soja y concentrado proteico de suero de queso sobre la calidad del pan y la dializabilidad de minerales. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 59(3), 325-331.
- Vitoria J.C., Bilbao J.R. (2013). Novedades en enfermedad celíaca. *An Pediatr (Barc)*,78, 1: 1-5.
- Volta U., Caio G., Stanghellini V., De Giorgio R.. (2014) The changing clinical profile of celiac disease: a 15-year experience (1998-2012) in an Italian referral center. *BMC Gastroenterol* 14: 194-202
- Witczak M, Ziobro R, Juszczak L, Korus J (2016) Starch and starch derivatives in gluten-free systems- A review *J Cereal Sci* 67:46–57
- WGO: WorldGastroenterologyOrganisation [sede web]. Argentina: WorldGastroenterologyOrganisation; abril 2012 [acceso en septiembre2018]. WGO Practice Guidelines: Enfermedad celíaca [28 páginas]. Disponible en: <http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/globalguidelines/celiacdisease/celiac-disease-spanish>.
- Yazynina, E., Johansson, M., Jägerstad, M., & Jastrebova, J. (2008). Low folate content in gluten-free cereal products and their main ingredients. *Food Chemistry*, 111(1), 236-242.
- Ylimaki, G., Hawrysh, Z. J., Hardin, R. T., & Thomson, A. B. R. (1991). Response-surface methodology in the development of rice flour yeast breads - sensory evaluation. *Journal of Food Science* 56 (3), 751-755

- Zucco, F., Borsuk, Y., & Arntfield, S. D. (2011). Physical and nutritional evaluation of wheat cookies supplemented with pulse flours of different particle sizes. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 2070-2