



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**DESARROLLO DE UN PRODUCTO FUNCIONAL DE
PANIFICACIÓN CON EFECTO
HIPOCOLESTEROLÉMICO ADICIONADO CON
AVENA Y QUITOSÁN.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

ZARAY ROJAS CONZUELO

ASESORA:

DRA. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
ASUNTO: **VOTO APROBATORIO**



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Desarrollo de un producto funcional de panificación con efecto hipocolesterolémico adicionado con avena y quitosán

Que presenta la pasante: Zaray Rojas Conzuelo

Con número de cuenta: 408079660 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 30 de Abril de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.B.Q. Norma Beatriz Casas Alencaster	
VOCAL	Dra. Susana Patricia Miranda Castro	
SECRETARIO	Dra. Carolina Moreno Ramos	
1er. SUPLENTE	I.A. Miriam Edith Fuentes Romero	
2do. SUPLENTE	I.A. Alberto Solís Díaz	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarme la oportunidad de tener una vida llena de gratas experiencias y aprendizajes.

A mi papá, por guiarme y enseñarme a luchar por mis sueños y metas sin desviarme de ellos, por siempre darme la motivación y confianza que necesito. Por estar conmigo en todo momento y dar lo máximo.

A mi mamá, por todos sus cuidados, amor, paciencia, comprensión, confianza, por enseñarme que el que persevera alcanza y un sinfín de aprendizajes que me ha transmitido con su valioso ejemplo.

A mi hermana Abril, por estar siempre dispuesta a escucharme, apoyarme, reconfortarme, darme su sabio consejo y ser mi confidente.

A mi hermana Lili, por ser una niña tan linda, tolerarme, reír conmigo y apoyarme siempre que lo necesito.

A mis abuelitos, algunos con nosotros, otros ya no, pero gracias por sus apapachos, amor e invaluable consejos que con amor he recibido.

A mis amigas Judith, Alejandra, Mariana, Blanca y Noelia por ser una parte muy importante en mi formación universitaria, compartiendo conmigo tantas experiencias dentro y fuera de los salones de clases, por su apoyo incondicional y su amistad. A Michel, que me ha brindando su apoyo, comprensión, paciencia y ánimos desde el comienzo en la realización de esta tesis.

A la UNAM, por ser fuente inagotable de sabiduría, por brindarme los recursos humanos y materiales para la culminación mi carrera. Estoy orgullosa de

pertenecer a esta honorable institución que me ha brindado invaluables conocimientos, oportunidades y experiencias.

A mi asesora, la Dra. Paty. Gracias por su orientación, su importante aporte y su participación activa en la realización de esta tesis.

A mis maestros y sinodales, por su paciencia y entrega a esta valiosa labor que es la enseñanza, por su profesionalismo y por sembrar en nosotros, los alumnos, la semilla del conocimiento. Gracias por su tiempo, porque su notable participación así como atinadas correcciones han enriquecido enormemente este trabajo.

A mis tíos, primos y personas especiales que han estado involucradas directa o indirectamente en este proceso (tío Beto, tía Gaby...) y que me han apoyado con sus emotivos consejos y ánimos.

¡GRACIAS!

Por mi raza hablará el espíritu.

Se agradece al programa PAPIME PE 203211 “Innovación y fortalecimiento de la enseñanza teórico práctica de la Biotecnología para las asignaturas terminales de las Ciencias Biológicas” por el apoyo económico brindado para la realización de esta tesis.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mis padres: Tomás y Rosy, éste logro es suyo, porque me han apoyado no sólo durante la carrera sino toda la vida con amor verdadero, cariño, comprensión, motivación y todos los recursos necesarios (y más) para superarme; a quienes debo todo y no tengo palabras para expresarles mi infinito agradecimiento pero que simplemente son mis héroes y mi ejemplo a seguir; y a mis hermanas, que han compartido conmigo tantos momentos de alegría, tristeza, enojo, diversión y me motivan a ser mejor.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE GRÁFICOS	vi
ÍNDICE DE ECUACIONES	vii
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES	5
1.1 Características funcionales de los ingredientes	6
1.1.1 Quitosán.....	6
1.1.2 Avena.....	11
1.2 Colesterol.....	15
1.2.1 Características generales.....	15
1.2.2 Tipos de colesterol	16
1.3 Productos de panificación	17
1.3.1 Clasificación de los productos de panificación	18
1.3.2 Galletas	19
1.4 Evaluación sensorial	28
1.4.1 Tipos de pruebas.....	28
1.4.2 Tipos de jueces	29
1.5 Parámetros texturales	30
1.5.1 Textura en galletas.....	32

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	34
2.1 Cuadro metodológico	35
2.2 Objetivos	36
2.3 Actividades preliminares	36
2.3.1 Obtención del quitosán.....	36
2.3.2 Determinación del grado de desacetilación.....	37
2.3.3 Determinación del peso molecular	38
2.3.4 Elección de las formulaciones iniciales	40
2.4 Evaluación sensorial	46
2.5 Análisis químico	47
2.5.1 Determinación de humedad	47
2.5.2 Determinación de actividad de agua	48
2.5.3 Determinación de nitrógeno total.....	48
2.5.4 Determinación de fibra cruda	49
2.5.5 Determinación de cenizas totales.....	51
2.5.6 Determinación de lípidos.....	52
2.6 Análisis de perfil de textura	53
2.7 Recuento microbiológico.....	55
2.8 Determinación el efecto de la avena y quitosán sobre el colesterol <i>in vivo</i>	58
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
3.1 Actividades preliminares	61
3.1.1 Obtención del quitosán.....	61
3.1.2 Determinación del grado de desacetilación.....	61
3.1.3 Determinación del peso molecular	62
3.2 Evaluación sensorial	64

3.2.1 Prueba de aceptación	64
3.2.2 Prueba de preferencia.....	65
3.2.3 Prueba del nivel de agrado	65
3.3 Análisis químico	67
3.4 Análisis de perfil de textura	68
3.5 Análisis microbiológico.....	70
3.6 Medición de colesterol	71
CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	73
BIBLIOGRAFÍA	77
ANEXOS	83

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Reacción química para la obtención de quitosán (Hayashi e Ito 2002).	6
Figura 2. Estructura química del β -glucano de la avena (Othman et al., 2011).	13
Figura 3. Curva general del análisis de perfil de textura (Rosenthal, 2001).	31
Figura 5. Diagrama del tubo de Ostwald.	39
Figura 4. Baño térmico para viscosimetría intrínseca.	39
Figura 6. Diagrama de proceso de elaboración de galletas sin quitosán.	42
Figura 7. Diagrama del proceso de elaboración de galletas con quitosán.	44
Figura 8. Matraz con reactivos Kjeldahl.	49
Figura 9. Muestra digerida.	49
Figura 10. Recolección del destilado.	49
Figura 11. Muestra con H_2SO_4 y $NaOH$	50
Figura 12. Montaje del embudo Buckner y matraz kitastato.	50
Figura 13. Filtración de la fibra.	50
Figura 14. Incineración de la muestra.	51
Figura 15. Enfriamiento a T_{amb} en el desecador.	51
Figura 16. Ubicación de cursores en la curva fuerza-tiempo.	54
Figura 17. Ajuste de pH.	58
Figura 18. Dilución de la muestra.	58
Figura 19. Incubación.	58

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Análisis dimensional de parámetros texturales	32
Tabla 2 Comparación de ingredientes de los prototipos de formulación.....	41
Tabla 3 Cálculo de parámetros texturales	54
Tabla 4 Especificaciones microbiológicas para productos de panificación.....	58
Tabla 5 Resultados de viscosimetría intrínseca para diluciones de quitosán.....	62
Tabla 6 Porcentaje de aceptación vs rechazo.....	64
Tabla 7 Análisis estadístico para prueba de aceptación	64
Tabla 8 Resultados de prueba de preferencia	65
Tabla 9 Resultados de la prueba de nivel de agrado	65
Tabla 10 Resultados ANOVA para prueba de nivel de agrado.....	65
Tabla 11 Comparación de las formulaciones control y modificada.....	66
Tabla 12 Resultados de análisis químico proximal	67
Tabla 13 Parámetros texturales para galletas con y sin quitosán.....	69
Tabla 14 Resultados de análisis microbiológico	71
Tabla 15 Valores de referencia para niveles de colesterol	71

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Puntos de inflexión en la titulación	61
Gráfico 2 Determinación de viscosidad intrínseca mediante estimación lineal	63
Gráfico 3 Curva fuerza-tiempo para galletas sin quitosán	68
Gráfico 4 Curva fuerza-tiempo para galletas con quitosán	69
Gráfico 5 Resultados clínicos del perfil lipídico en los días 1, 15 y 30	71

ÍNDICE DE ECUACIONES

Página

Ecuación 1 Porcentaje de rendimiento	37
Ecuación 2 Grado de desacetilación	38
Ecuación 3 Viscosidad relativa	39
Ecuación 4 Viscosidad específica	39
Ecuación 5 Viscosidad específica reducida	40
Ecuación 6 Ecuación de Mark-Houwink	40
Ecuación 7 Peso molecular	40
Ecuación 8 Porcentaje de Nitrógeno total	49
Ecuación 9 Porcentaje de fibra cruda	50
Ecuación 10 Porcentaje de cenizas	52
Ecuación 11 Porcentaje de grasa extraíble	53
Ecuación 12 Concentración de microorganismos	57
Ecuación 13 Factor de dilución	57

RESUMEN

El quitosán ha demostrado tener efectos hipocolesterolémicos y es notablemente conocido por inhibir la absorción de grasa, de hecho tiene la habilidad de absorber en promedio de 4 a 5 veces su peso en grasa (Nauss et. al., 1983). Actualmente es usado como nueva fuente de fibra dietética debido a su alta biocompatibilidad, a su baja toxicidad y a su estructura parecida a la celulosa, que no es digerida por las enzimas humanas.

Por su parte la avena contiene una fibra dietética soluble que es encontrada en el endospermo de la misma, llamada betaglucano, el cual ha generado un considerable interés debido a sus propiedades reductoras de colesterol. Una gran cantidad de investigaciones apoya la afirmación que ingerir diariamente avena en dosis de al menos 3 g al día puede reducir el nivel de colesterol LDL (“colesterol malo”) en la sangre de un 5% a 10%.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un producto (galleta de avena tipo pasta blanda) con efecto hipocolesterolémico –que reduce el colesterol- adicionando los dos ingredientes antes mencionados. La formulación que sirvió como control (sin quitosán) se eligió mediante evaluación sensorial. A la misma, se le añadió quitosán, obteniéndose de esta manera la formulación modificada.

Se evaluó humedad, nitrógeno total, lípidos, cenizas totales, fibra cruda, actividad de agua, coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos, levaduras, y perfil de textura en las dos formulaciones de galleta (control y modificada) para compararlas y determinar la influencia del quitosán en la composición química final.

Por otro lado, se suministró una dosis diaria de 1.5 g de quitosán y 6 g de avena por medio de tres galletas antes de desayunar y tres antes de comer durante 30 días consecutivos a un paciente de sexo masculino con edad de 45 años y niveles de colesterol elevados (228 mg/dL), que no tomaba ningún medicamento y no tenía una

dieta especial. Se realizó un perfil lipídico en el paciente tomando en cuenta colesterol total, colesterol HDL y LDL antes de comenzar con el experimento, a los 15 y a los 30 días.

Con respecto al análisis químico proximal, en la formulación modificada aumentaron de forma significativa los lípidos (debido a que la estructura del quitosán atrapa las grasas), la fibra (ya que este polímero es una fibra dietética) y el nitrógeno total (porque el quitosán es una molécula nitrogenada). La humedad y actividad de agua no tuvieron diferencia significativa con respecto a la formulación control. En el análisis microbiológico todas las muestras cumplen con las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana 147, ya que no se detectaron microorganismos viables. El análisis de perfil de textura mostró que adicionando quitosán, se obtiene una textura más dura, menos frágil, más firme y resistente a la ruptura, pero menos crujiente.

En el perfil lipídico del paciente se observó un decremento en el colesterol total, y colesterol LDL (colesterol malo), llegando a un nivel limítrofe, y el nivel de colesterol HDL (colesterol bueno) -que era bajo en un principio- aumentó, aunque siguió en el mismo nivel.

Se concluyó que el quitosán en conjunto con la avena adicionada a una galleta, si pueden ayudar a reducir los niveles de colesterol LDL y colesterol total en la sangre, y aumentan los de HDL, por lo tanto podrían contribuir a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una marcada tendencia en México al aumento del consumo de grasas. Aproximadamente el 30% de los hombres y 25% de las mujeres sufren de colesterol elevado, con más de 200 g/dL, nivel que se considera riesgoso (Rodríguez, 2006), en tanto que las enfermedades cardiovasculares se han reportado como una de las causas principales de mortalidad en nuestro país (Secretaría de Salud, 2007); de hecho la Organización Mundial de la Salud reconoce que la epidemia de las enfermedades cardiovasculares avanza rápidamente tanto en los países desarrollados como aquellos en vías de desarrollo. En América Latina y el Caribe las enfermedades cardiovasculares representan el 31% del total de las defunciones.

La presencia de grasas en la sangre puede elevar los niveles de colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL), el cual es considerado malo para la salud, pues un nivel elevado de LDL es un factor de riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, así como promotor de la obesidad. Actualmente se cree que reduciendo la concentración de colesterol plásmico se reduce el riesgo de infartos al miocardio (Manson et al., 1992) y una forma de hacerlo es consumiendo alimentos ricos en fibra debido a su virtud de proporcionar una sensación de saciedad, reduciendo así el consumo de grasas. Algunas fibras tienen la capacidad de atrapar las grasas en su matriz gelatinosa y prevenir su absorción en el cuerpo. La más efectiva para prevenir su absorción es el quitosán, cuya acción puede ser potenciada en combinación con ácido ascórbico, ácido cítrico, entre otros, haciéndolo mucho más efectivo como reductor de grasa (Hennen, 1996). Otra importante fibra conocida por tener propiedades reductoras de colesterol, es la avena (Othman, 2011). Una gran cantidad de evidencia de la relación entre el consumo de avena y la reducción de los niveles de colesterol en la sangre se ha acumulado en los últimos 30 años, siendo los betaglucanos los elementos responsables de tal efecto en este cereal (Ripsin y Keenan, 1992).

Debido a lo anterior, desarrollar productos que promuevan la salud cardiovascular reduciendo los niveles de colesterol LDL en la sangre se ha convertido en una necesidad que incrementa día a día en nuestra sociedad. Adicionando ingredientes con efecto hipocolesterolémico, como la avena y quitosán se pretende desarrollar un producto con las características anteriores. Se eligió una galleta debido a su practicidad, a que es fácil de llevar, antojable, y sumado a eso su actividad de agua es baja, lo que hace que si vida de anaquel sea alta.

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Características funcionales de los ingredientes

1.1.1 Quitosán

Concepto

El quitosán es la forma desacetilada de la quitina, un amino-polisacárido encontrado en el exoesqueleto de artrópodos y ciertos hongos, y tiene la habilidad de inhibir la absorción de los lípidos en el estómago a través del aparato digestivo en el torrente sanguíneo (Furda, 1983).

Puede ser definido químicamente como una fibra dietética ya que es un polisacárido que no puede ser digerido por las enzimas humanas (Razdan y Pettersson, 1996).

Origen y obtención

El quitosán fue descubierto en 1859 por el profesor C. Rouget. (Zikakis, 1984). Es obtenido de la desacetilación alcalina de la quitina. El grado de desacetilación de esta molécula es una forma de caracterizarlo, y depende de la proporción de D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina (Figura 1)

Después de ser preparado, las uniones de la cadena de quitosán están compuestas de unidades de glucosamina, y cada una de ellas contiene un grupo amino libre (ver Figura 1). Estos grupos pueden tomar una carga positiva en condiciones alcalinas, lo que proporciona sus sorprendentes propiedades reductoras de colesterol, antimicrobianas, antimicóticas y emulsionantes (Knorr, 1984).

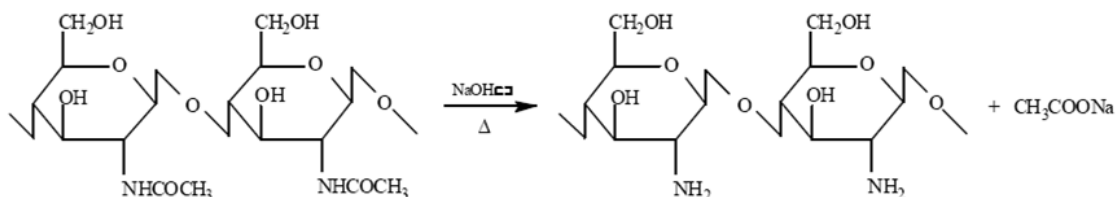


Figura 1. Reacción química para la obtención de quitosán (Hayashi e Ito 2002).

La quitina es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza, siendo la celulosa el más abundante.

La quitina es encontrada en el exoesqueleto de crustáceos, insectos e incluso algunos hongos (*Aspergillus niger*, *Mucor rouxii*, *Penecillium notatum*). Este polímero tiene una estructura rígida cristalina a través de la cual se forman uniones inter e intramoleculares. Las principales fuentes comerciales de quitina son desperdicios marinos de camarón, langosta, crustáceos y cangrejos. En el mundo millones de toneladas de quitina son recolectadas anualmente (Knorr, 1984).

Características físicas y químicas

La quitina y quitosán son biopolímeros compuestos por unidades de glucosamina y glucosamina N-acetilada unidas mediante enlaces glucosídicos [1--->4], (Koide, 1998). En general el quitosán es insoluble en agua, solventes orgánicos y bases acuosas; y soluble en ácidos como el acético, nítrico, hidrocórico, perclórico y fosfórico en condiciones de agitación.

Su caracterización se realiza principalmente de acuerdo con dos parámetros: el grado de desacetilación (%DD) y peso molecular (PM).

El %DD está determinado por la proporción de D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina. Un alto grado de desacetilación significa que hay un mayor número de grupos amino libres en la molécula de quitosán y mayor número de cargas positivas en solución (Liu et al., 2008). La solubilidad, biodegradabilidad, reactividad y absorción de sustratos dependen de la cantidad de grupos amino protonados en la cadena polimérica, y en consecuencia en la proporción de unidades de D-glucosamina acetiladas y desacetiladas. Los grupos amino están completamente protonados en ácidos con pKa menor a 6.2, haciendo soluble al quitosán.

Sin embargo, las variaciones en método de preparación resultan en diferentes grados de desacetilación, distribución de grupos acetilo, longitudes de la cadena y estructuras

conformacionales del quitosán (Tsai et al, 2002); por lo tanto habrá una influencia en la solubilidad y otras propiedades.

Vahouny et al. (1983) reportaron que la actividad hipocolesterolémica del quitosán fue mayor al tener un %DD alto (≥ 90), ésto puede deberse a las fuerza electrostáticas entre el quitosán y aniones tales como los ácidos grasos y los biliares.

El peso molecular del quitosán es proporcional a su viscosidad, y representa el tamaño promedio de las moléculas. Este parámetro también está relacionado con el efecto hipocolesterolémico, y su mecanismo de acción debe ser similar al de algunas otras fibras como la pectina y la goma guar (Vahouny et al., 1983). Se piensa que tal mecanismo de reducción de colesterol se debe a la estructura de un polisacárido viscoso, el cual podría reducir la absorción de grasa y colesterol en la dieta (Kanauchi et al., 1995). Sin embargo la relación entre el peso molecular del quitosán y su efecto hipocolesterolémico está aún bajo discusión.

Aplicaciones

Las aplicaciones del quitosán y sus derivados son muy extensas, son usadas en agricultura, medicina, ecología, alimentos, entre otras.

En medicina tiene diferentes usos como inmunopotenciador, antihiperténsico, reductor de colesterol, antibacterial y promotor de curación de heridas (Hayashi e Ito, 2002). En este ámbito es considerado uno de los polímeros más valiosos debido a su biodegradabilidad, biocompatibilidad, y a sus propiedades antimicrobianas, no tóxicas y anticancerígenas. Es usado en forma de nanopartículas, microesferas, hidrogeles, películas y fibras. Ejemplos de estas aplicaciones incluyen suministro de medicamentos vía nasal, ocular, parenteral y transdérmica (Kumar, 2000).

En el campo de alimentos y bebidas, el quitosán se utiliza principalmente como aditivo. Ya sea como espesante (proporcionando mayor viscosidad al producto), gelificante (debido a que precipita a un pH superior a 6), emulsionante o como agente

preservante (utilización en productos de panificación por su acción antifúngica y antibacteriana). Adicionalmente el quitosán se utiliza como recubrimiento protector de frutas y hortalizas. Las películas de quitosán son resistentes, duraderas y flexibles incidiendo directamente en la vida útil del producto. De esta manera, las películas minimizan la velocidad de respiración y pérdida de agua de la fruta o del vegetal.

Cuando se elaboran alimentos mínimamente procesados, la acción del quitosán es importante como agente conservador frente a microorganismos como bacterias, levaduras y hongos. El uso de concentraciones mayores al 0.02% protegen al alimento de una posible contaminación por *Escherichia coli*. La acción antimicrobiana se realiza privando a los microorganismos de iones vitales como el cobre, bloqueando o destruyendo su membrana, filtrando constituyentes intracelulares, y formando complejos polielectrolíticos con polímeros ácidos y células de superficie. La acción antimicrobiana del quitosán es influenciada por factores intrínsecos tales como tipo de quitosán, el grado de polimerización, la composición química y las condiciones ambientales (Baxter, 2004).

Es notablemente conocido por inhibir la absorción de grasa. Tiene la habilidad de absorber en promedio de 4 a 5 veces su peso en grasa (Nauss et al, 1983). Actualmente es usado como nueva fuente de fibra dietética debido a su alta biocompatibilidad, a su baja toxicidad y a su estructura parecida a la celulosa, que no es digerida por las enzimas humanas.

En purificación de agua, este polímero ha sido usado por aproximadamente tres décadas. Cuando se extiende por los derrames de petróleo, atrapa el aceite haciendo más fácil la limpieza. Las plantas purificadoras de agua alrededor del mundo usan quitosán para remover aceites, grasas, metales pesados y partículas finas que causan turbidez en flujos de aguas residuales (Liao et al., 2007).

Mecanismo de reducción del colesterol

La manera exacta en la que el quitosán actúa para reducir el colesterol todavía no está completamente descifrada, pero bastantes investigaciones concuerdan con dos mecanismos básicos. El primero involucra la atracción de cargas opuestas las cuales pueden ser comparadas con la atracción de polos magnéticos opuestos. El segundo mecanismo propuesto puede ser comparado con el efecto “atrapador” de una red.

En el primer mecanismo las cargas positivas del quitosán atraen las cargas negativas de los ácidos grasos y biliares, uniéndolos a la fibra indigestible del quitosán. Este mecanismo explica por qué se reducen los niveles de LDL (lipoproteína de baja densidad, por sus siglas en inglés). Nuestro cuerpo produce ácidos biliares en el hígado usando el colesterol de LDL. Cuando el quitosán se une a éstos, se incrementa la pérdida de LDL mejorando así la relación LDL-HDL (lipoproteína de alta densidad, por sus siglas en inglés). Si suficientes ácidos biliares son unidos, las grasas no se solubilizan, lo cual previene su digestión y absorción.

El segundo mecanismo describe un efecto de red. El quitosán envuelve las gotas de grasa y previene que sean digeridas por las enzimas lipídicas. Las grasas no absorbidas por el quitosán, son digeridas (Hennen, 1996).

El incremento de la excreción de ácidos biliares puede reducir la concentración del colesterol debido a que el colesterol plasmático o del hígado puede ser utilizado para mantener el pool de ácidos biliares. Alternativamente, las uniones de ácidos biliares dentro del intestino delgado podría interrumpir la formación de micelas, reduciendo la habilidad para solubilizar el colesterol (así como los monoglicéridos y ácidos grasos) y, por lo tanto, reduciendo la absorción de colesterol (Gallaher et al., 2000).

Maezaki et al. (1993) reportaron mediante un estudio un incremento en la excreción de dos ácidos biliares, cólico y quenodesoxicólico, en hombres que consumían de 3 a 6 g/día de quitosán. Además se reportó un aumento en la excreción de grasa, lo cual es de gran interés, pues indica que consumiendo quitosán se acelera la pérdida de peso en personas con una dieta hipocalórica.

Gallagher et al. (2000), reportaron una reducción significativa en los niveles de colesterol plasmáticos consumiendo 2.4 g/día de suplemento de quitosán con glucomanano, ligado al aumento de la excreción de esteroides en heces fecales, sugiriendo que ese es el mecanismo primario de reducción de colesterol plasmático.

La tendencia en el aumento de la excreción de ácidos biliares, en conjunto con la habilidad del quitosán de unirlos, in vitro y ex vivo, podría favorecer la unión de ácidos biliares con la interrupción de micelas y el decremento de la solubilización del colesterol como el mecanismo del efecto hipocolesterolémico.

1.1.2 Avena

Antecedentes

La avena (*Avena sativa*) es una planta hexaploide que evolucionó de tres diferentes especies de diploides (Legget y Thomas, 1995). Una importante característica que distingue a la *Avena sativa* de muchas especies "salvajes", es que esta no se despoja de su grano durante su madurez. La avena en conjunto con el centeno, fueron introducidos a Europa desde Asia como maleza en escasez y cultivos de trigo en el periodo prehistórico tardío. Los cambios climáticos que ocurrieron antes del año 1000 A.C. dieron como resultado condiciones húmedas en Europa norte y este. Esto favoreció el crecimiento de la avena, que pudo tolerar estos cambios mejor que el trigo o la cebada.

La avena ha sido cultivada desde esos tiempos prehistóricos, a lo largo del periodo romano y la Edad Media hasta los tiempos actuales.

Ha sido utilizada tanto como alimento para animales como alimento para humanos. Sin embargo los cambios industriales, agrícolas y sociales que iniciaron en el siglo XVIII, y que persistieron durante el siglo siguiente, provocaron cambios graduales en la dieta humana, de manera que el trigo sustituyó a la avena y otros granos.

El declive en el consumo de avena continuó en el siglo XX. Fue en el año de 1886 que la empresa *Quaker Oats* fue pionera en la venta al por menor de cereal empaquetado. Estos desarrollos ayudaron a establecer la avena como el desayuno más popular en los E.U. y como un importante ingrediente en muchos cereales de desayuno listos para comer (Dendy y Dobraszczyk, 2001).

Producción

La avena es un cultivo templado y, comparado con otros cereales crecen bien en climas húmedos y regiones altas. Dependiendo de la variedad, puede ser sembrada en otoño o en primavera.

Actualmente la producción mundial anual total excede los 30 millones de toneladas. Sin embargo, esto representa menos del 2% de la producción total de cereal. El continente Americano reporta un 24% de la producción mundial. De éste, Canadá y E.U. son los principales productores con un 14% y 7% respectivamente de la producción mundial (Dendy y Dobraszczyk, 2001).

Características químicas

Los carbohidratos son el principal macronutriente de la avena, estando en forma de almidón. Como en la mayoría de los cereales, el almidón está compuesto de cadenas lineales de amilosa y cadenas ramificadas de amilopectina. Estudios muestran que el contenido de amilosa es de 18% a 34%.

La fibra de avena es de particular interés porque la fracción soluble es el principal ingrediente reductor de colesterol. Ésta también es llamada goma de avena y se encuentra entre 3% a 5.4% y la fibra insoluble de 3.2% a 8%.

El principal constituyente de la fibra soluble es el polímero de glucosa (1→3),(1→4)-β-D-glucano, conocido más comúnmente como “β-glucano o betaclugano” (Wood, 1994). De los cereales, sólo la avena y la cebada contienen cantidades significativas de betaglucanos.

Las hojuelas de avena son una excelente fuente de betaglucanos. Éstos son fibras solubles de alta viscosidad localizadas principalmente en el endospermo de las paredes celulares de la avena (Sadiq, 2008). Están compuestos de moléculas de glucosa con enlaces mezclados β - (1 \rightarrow 4) y/o β - (1 \rightarrow 3).

Esta estructura química (Figura 2) específica es la responsable de las propiedades físicas, como viscosidad y solubilidad, así como de su potencial de influenciar el metabolismo del colesterol (Brown et. al, 1999).

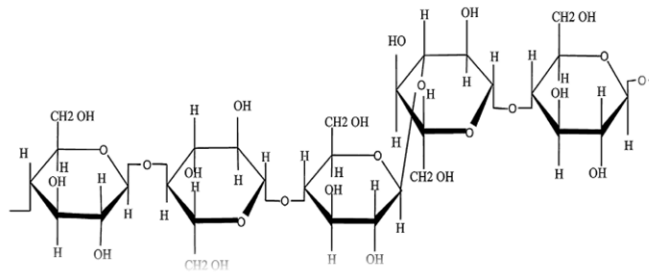


Figura 2. Estructura química del β -glucano de la avena (Othman et al., 2011).

La FDA (Food and Drug Administration, por sus siglas en inglés) en Estados Unidos aprobó en 1997 la afirmación que los betaglucanos de la avena reducen el colesterol plásmico y el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Por su parte en el 2004, el JHCI (Joint Health Claims Initiative, por sus siglas en inglés) en el Reino Unido, permitió el anuncio de los betaglucanos de la avena como reductores de colesterol. Resultados de diversos estudios de los pasados 13 años muestran que el consumo de betaglucanos de avena en dosis de al menos 3 gramos al día puede reducir el nivel de colesterol LDL en un 5 % a 10 % en pacientes normocolesterolémicos e hipercolesterolémicos (Othman et al., 2011).

Mecanismo de reducción de colesterol

Principalmente han surgido 4 tipos de hipótesis en cuanto al mecanismo de reducción de los niveles de colesterol por betaglucanos:

La primera es que la viscosidad de la fibra afecta la absorción de ácidos grasos, ha sido demostrado *in vitro* que la viscosidad de la fibra en solución puede reducir la absorción de nutrientes, incluyendo los ácidos grasos, obstruyendo su acceso a la superficie de la mucosa intestinal.

La segunda hipótesis sugiere que los ácidos biliares podrían ser adsorbidos por componentes de las fibras de los cereales, incrementado la excreción y por lo tanto también la síntesis de ácidos biliares a expensas de la síntesis endógena de colesterol.

Diferentes estudios en animales y humanos han demostrado una relación entre el incremento de los niveles de los ácidos biliares en heces fecales y el incremento en el consumo de fibra.

La tercer hipótesis señala que el propionato media el efecto de la fibra dietética en los niveles de colesterol en la sangre. El efecto reductor de colesterol de los betaglucanos de las hojuelas de avena es principalmente mediado por una capa viscosa en el intestino delgado, inhibiendo el consumo de colesterol dietario y la reabsorción de los ácidos biliares. Al ser los ácidos biliares los responsables de la absorción y digestión del colesterol, la inhibición de su reabsorción puede, por lo tanto, incrementar la síntesis de éstos, y reducir los niveles de colesterol (Othman, 2011). La microflora intestinal incrementa los polisacáridos (no provenientes del almidón) en el colon produciendo cadenas cortas de ácidos grasos, incluyendo el propionato. Se ha demostrado que el propionato inhibe la síntesis de colesterol *in vitro*, así como en ratas (Topping et al., 1990).

La cuarta teoría sugiere que los tocotrienoles asociados a las grasas que se encuentran en los productos de avena podrían inhibir el hidroximetilglutaril- CoA reductasa, la cual es la enzima limitante en la síntesis del colesterol (Querishi et al., 1986).

Los análisis han revelado que suministrando una dosis diaria de al menos 3 g/día de avena en individuos con un nivel inicial de colesterol alto, reportaron mayor reducción

de colesterol total que a los que se les suministraron menos de 3 g/día (Ripsin y Keenan, 1992).

1.2 Colesterol

1.2.1 Características generales

El colesterol es un lípido de alto peso molecular encontrado exclusivamente en animales. Es sintetizado principalmente en el hígado e intestino. La concentración de colesterol sérico es afectada por numerosos factores, incluyendo enfermedades hepáticas, endócrinas, factores hereditarios, y por la dieta.

Es el compuesto esencial de las membranas celulares. Además el precursor de tres clases importantes de compuesto biológicos activos: el ácido biliar, las hormonas esteroideas y la vitamina D. Los desórdenes del metabolismo del colesterol juegan un papel importante en la etiología de la enfermedad cardiovascular.

El colesterol es una sustancia grasa (un lípido) presente en todas las células del organismo. El hígado elabora todo el colesterol que el organismo necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas.

Aunque a menudo atribuimos la elevación del colesterol en sangre al colesterol que contienen los alimentos que comemos, la causa principal de este aumento es, en realidad, la grasa saturada. La materia grasa de los lácteos, la grasa de la carne roja y los aceites tropicales tales como el aceite de coco son algunos alimentos ricos en grasa saturada.

Los niveles de colesterol en sangre, que indican la cantidad de lípidos o grasas presentes en la sangre, se expresan en miligramos por decilitro (mg/dL). En general, se recomienda un nivel de colesterol inferior a los 200 mg/dL. Entre los 200 mg/dL y los 239 mg/dL, el nivel de colesterol se considera elevado o limítrofe y es aconsejable

reducirlo. Un nivel de 240 mg/dL o más de colesterol se considera elevado y es necesario tomar medidas para reducirlo.

El colesterol del organismo tiene dos orígenes: endógeno, procedente de la síntesis en el cuerpo, y exógeno, procedente de la dieta. El colesterol se absorbe en el intestino gracias a los ácidos biliares y a los fosfolípidos que son vertidos desde el hígado. La cantidad absorbida es muy variable y está controlada por la familia de transportadores ABC, los ácidos biliares y por otros factores, algunos de los cuales son hoy en día desconocidos.

1.2.2 Tipos de colesterol

La sangre lleva el colesterol a las células en partículas transportadoras especiales denominadas «lipoproteínas». Dos de las lipoproteínas más importantes son la lipoproteína de baja densidad (LDL) y la lipoproteína de alta densidad (HDL).

Lipoproteína de baja densidad

Las partículas de LDL transportan el colesterol a las células. El colesterol LDL a menudo se denomina «colesterol malo» porque se cree que los niveles elevados de esta sustancia contribuyen a la enfermedad cardiovascular. Un exceso de LDL en la sangre da lugar a una acumulación de grasa (denominada «placa») en las paredes de las arterias, la cual inicia el proceso de la enfermedad aterosclerótica. Cuando se acumula placa en las arterias coronarias que riegan el corazón, aumenta el riesgo de sufrir un ataque cardíaco. Los niveles de LDL pueden ser elevados en personas cuya alimentación tiene un alto contenido de grasa saturada, colesterol o ambas cosas. A veces una glándula tiroides hipoactiva (lo que se denomina «hipotiroidismo») también puede elevar los niveles de LDL.

Lipoproteína de alta densidad

Las partículas de HDL transportan el colesterol de las células nuevamente al hígado, donde puede ser eliminado del organismo. El colesterol HDL es denominado «colesterol bueno» porque se cree que los niveles elevados de esta sustancia reducen

el riesgo cardiovascular. Las personas con niveles bajos de HDL tienen un mayor riesgo cardiovascular, incluso si su colesterol total es inferior a 200 mg/dL. Los niveles bajos de HDL a menudo son una consecuencia de la inactividad física, la obesidad o el hábito de fumar. También es común que las personas que padecen de diabetes tipo 2 tengan niveles bajos de colesterol HDL. Los hombres, en general, tienen niveles más bajos de colesterol HDL que las mujeres, porque la hormona femenina estrógeno aumenta el HDL. Pero cuando las mujeres dejan de menstruar, sus niveles de HDL pueden disminuir.

Colesterol total

El colesterol total en sangre es la suma del colesterol transportado en las partículas de LDL, HDL y otras lipoproteínas. Todos los adultos mayores de 20 años de edad deben realizarse un perfil lipoproteico completo cada 5 años. Es necesario ayunar durante las 10 a 12 horas anteriores al análisis y, durante ese espacio de tiempo, el único líquido permitido es el agua. Este perfil completo permite determinar los niveles de colesterol total, LDL, HDL y triglicéridos. El LDL es el lípido más importante para predecir el riesgo cardiovascular (Colesterol, 2012).

1.3 Productos de panificación

La principal base para la mayoría de estos productos es la harina de trigo. La adición de diferentes materias primas nos da la enorme variedad de productos de panificación que están disponibles hoy en día. Las galletas y pasteles son algunos de los bocadillos más antiguos conocidos. Los pasteles sin azúcar y secos tipo galleta fueron utilizados desde los tiempos prehistóricos. Usados tanto antes como ahora, estos productos tienen en común la característica de permanecer en buen estado por un largo periodo de tiempo, es decir que su vida de anaquel es larga. Además, su facilidad de transportación y de consumo inmediato sin alguna otra preparación las hacen una de las principales botanas.

El ingrediente básico, la harina de trigo, tiene entre 10% de proteína y 74% de carbohidratos. Todos los productos de panificación son aireados en algún grado durante el proceso, dándoles generalmente una estructura abierta y una textura fácilmente rompible, ya sea crujiente, suave o húmeda. Por lo tanto, lo hacen el bocadillo ideal ya que necesitan poca o nula preparación y usualmente pueden ser consumidas sin necesidad de utensilios.

1.3.1 Clasificación de los productos de panificación

Es necesario considerar los cuatro ingredientes básicos (harina, grasa, azúcar y huevo), y cómo pueden ser combinados en diferentes proporciones. Esto nos conduce a toda una familia de productos, donde éstos pueden ser identificados por su formulación o por sus características como producto terminado.

En cuanto a la formulación -en el caso de la masa- puede ser dura, donde una suficiente cantidad de agua ha sido usada para permitir que la proteína de la harina se hidrate y forme el gluten, o suave, donde la cantidad de grasa es mayor y de agua menor, previniendo la formación de gluten. La energía de mezclado también difiere para estos dos tipos de masa. Una alta energía se usa para aumentar la temperatura y formación de gluten como una masa viscoelástica (Dendy y Dobraszczyk, 2001).

De acuerdo a la NMX-F-516-1992, los productos de panificación comprendidos en la misma, se clasifican de acuerdo a su composición en:

TIPO I: Pan Blanco, Bolillo y Telera

TIPO II: Pan de Harinas Integrales

TIPO III: Pan, Productos de Bollería

TIPO IV: Pan Dulce

TIPO V: Galletas

TIPO VI: Pastas secas

TIPO VII: Pastel

TIPO VIII: Pay o Tarta

1.3.2 Galletas

Definición

Son el producto elaborado fundamentalmente, por una mezcla de harina de trigo u otros cereales, grasas, aceites comestibles o sus mezclas y agua, con o sin relleno, adicionada o no de azúcares, de otros ingredientes opcionales y aditivos para alimentos, sometida a proceso de amasado o batido, y otros procesos como fermentación, modelado, troquelado y posterior tratamiento térmico, dando lugar a un producto de presentación muy variada, caracterizado por su bajo contenido en agua (NOM-247-SSA1-2008).

Este producto es una de las botanas más conocidas. Dependiendo de su contenido de grasa, pueden suplir entre 350 kcal y 500 kcal por cada 100 gramos.

Así como son una deliciosa y nutritiva parte de la dieta, algunas galletas cubren necesidades nutricionales específicas, por ejemplo, funcionan como un buen vehículo de vitaminas y minerales. Como parte de una dieta de calorías controladas, el consumidor es exhortado a reemplazar un alimento por día con tres o cuatro porciones del producto, limitando así el consumo de calorías pero asegurando los nutrientes esenciales adecuados. Otras necesidades dietéticas especiales pueden ser cubiertas. Las galletas con alto porcentaje de fibra son un ejemplo, donde el alto nivel de fibra de trigo o de cualquier otro cereal es usado en la formulación.

Las galletas altas en proteína son otra especialidad. Una galleta normal de 10 g, contendría 1 g o menos de proteína. Usando ingredientes con altos contenidos de proteína como harina de soya o caseinatos (proteína de leche), el contenido puede ser duplicado (Young, Fellow y Mitchell, 1985).

Clasificación

Las galletas tienen una amplia clasificación y esta incluye entre las más comunes, las siguientes (Gil, 2010):

- a) *Galletas tipo María, tostadas y troqueladas*: Se caracterizan por la formación de una masa elástica como consecuencia del desarrollo del glúten, cortado mediante prensa o rodillo troquelado y posterior horneado.
- b) *Galletas Cracker y de aperitivo*: Se elaboran con harinas y grasas comestibles, generalmente sin azúcar, y las masas se someten a una ligera fermentación para conseguir su tradicional ligereza.
- c) *Barquillos con relleno o sin él*: Se denominan barquillos, obleas o ambrosías los productos obtenidos de la cocción en planchas metálicas de pastas en estado líquido viscoso, formadas por harinas, féculas, glucosa y sal, adquiriendo diferentes formas. Pueden o no rellenarse con azúcar, glucosa, grasa y aromas.
- d) *Biscochos*: Se elaboran con harina, azúcar y huevos, batido todo a gran velocidad para conseguir que monte adecuadamente, depositándose en moldes lista para su horneado. A su vez estos pueden ser clasificados en secos y blandos de acuerdo al porcentaje de humedad del producto acabado.
- e) *Pastas blandas*: Son galletas obtenidas a base de masas cuya peculiaridad consiste en batir adecuadamente los componentes (azúcar, grasa y otros productos alimenticios), añadir harina, moldear rápidamente para impedir el desarrollo del gluten y hornear. Las galletas de avena pueden ser incluidas en esta clasificación.
- f) *“Sándwiches”*: Es el conjunto de dos galletas tradicionales, a las que se adiciona entre ambas un relleno consistente en una mezcla de azúcar, grasa y otros componentes alimenticios y alimentarios debidamente autorizados.
- g) *Bañadas con aceite vegetal*: Para elaborar esta especialidad se parte de galletas tradicionales, las cuales, después de ser horneadas, son sometidas a una dispersión o baño de aceite vegetal muy atomizado por su superficie e incluso por su parte inferior.
- h) *Recubiertas de chocolate*: Cualquier clase de galletas antes definidas podrán presentarse recubiertas de chocolate, pasta de cacao o mezcla de azúcar, gelatina y agua.

- i) *Surtidos*: Se conoce con esta denominación el conjunto de galletas de las diferentes especialidades que se elaboran, las cuales se agrupan en un solo envase.
- j) *Elaboraciones complementarias*: Cuando los fabricantes de galletas elaboren productos que están sujetos a Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de preparados alimenticios para regímenes dietéticos y/o especiales, a la norma de pan y panes especiales y otras relacionadas, deberán observarse las especificaciones y exigencias que dichas disposiciones determinen. La relación de denominaciones incluidas en este artículo, no tiene carácter limitativo.

Materias primas para la elaboración de las galletas

La composición de estos productos comienza básicamente con cuatro ingredientes: harina, grasa, azúcar y huevo. Estos, junto con sal y otros ingredientes usados en cantidades menores, permiten el amplio rango de productos desarrollados.

Harina

Es el principal componente en la mayoría de las recetas y, en la mayoría de los casos proviene del trigo, el cual es el cereal más cultivado alrededor del mundo. La producción de un año no será exactamente a la del año anterior en cuestión de composición química, esto es porque el clima puede tener muchas variaciones durante el periodo de crecimiento de la semilla.

Al moler el trigo entero se incorpora el salvado, endospermo, y el germen en sus proporciones naturales y esto da como resultado una harina color café que conocemos como harina integral.

Tanto en pan como en galletas, el uso de harina integral ha aumentado considerablemente su popularidad en los últimos años, y no sólo por sus propiedades nutricionales sino también por su característico sabor que es cada vez más apreciado.

Sin embargo, aunque el germen y el salvado proporcionan color, sabor, nutrientes y fibra a la harina, no contribuyen de manera importante en el proceso de horneado, a diferencia del endospermo, que es la parte blanca de la harina. Cada partícula es un grupo de pequeñas células vegetales que consisten principalmente en almidón pero con una parte de proteína. Cuando se adiciona agua, durante el procesamiento de la masa, se llevan a cabo algunos cambios importantes: el almidón comienza a absorber el agua pero los granos permanecen casi intactos en esta etapa, de manera que el efecto no es contundente. Sin embargo la proteína en la harina, bajo las condiciones adecuadas, absorbe rápidamente el agua y reacciona con ella formando una masa llamada gluten. Esta masa tiene interesantes propiedades, puede ser estirada en longitud y atenuada sin romperse, pero también tiene una propiedad elástica y tiende a regresar a su forma original.

Grasas y aceites

Estos componentes existen ampliamente en la naturaleza y pueden ser de origen animal, vegetal o marino.

Si es líquido a temperatura ambiente, es conocido como aceite. Si es semisólido o sólido a temperatura ambiente se conoce como grasa, sin embargo su composición y propiedades son muy similares.

Los aceites vegetales provienen de frutas y semillas de una amplia variedad de plantas. Los más usados en panificación son la soya, canola, palma, girasol y coco. Las fuentes marinas de peces pequeños son líquidos a temperatura ambiente; a diferencia de los animales terrestres cuyos lípidos generalmente son sólidos a temperatura ambiente. Los aceites y grasas de esta categoría son extraídos de los cadáveres de peces y animales, a excepción de la mantequilla que es hecha de la extracción de grasa de la leche de vaca.

El principal efecto de las grasas en productos de panificación es la formación de la textura "suave", particularmente en galletas y productos de pastelería. Esa textura suave, placentera y desmoronable es la propiedad creada cuando no se permite la formación de gluten de la proteína de la harina. La grasa actúa como una

barrera, y si hay suficiente en la formulación, cubrirá totalmente las partículas de harina y evitará que el agua tenga contacto con la proteína. En este caso el gluten no se forma, y los ingredientes no están fuertemente ligados entre sí, dando la textura requerida.

Azúcares

Muchas plantas retienen en sus tejidos ciertas cantidades de azúcar como fuente de energía en lugar de almidón. Las dos más importantes y que son las principales fuentes de este ingrediente son la caña de azúcar y la remolacha azucarera. En panificación, se utilizan diferentes tipos de azúcar dependiendo del efecto requerido en cuanto a sabor y color.

En un producto en el que se ha usado azúcar no refinada, solo una parte de ésta se disolverá durante el horneado, por lo que el resultado final será un producto menos dulce que si se hubiera usado azúcar refinada. La dureza del producto final se obtiene como resultado de los cambios que ocurren en el azúcar debido al calor durante el horneado. Esta se disuelve en el agua contenida en la masa para formar una solución altamente concentrada. Cuando el producto se enfría, la solución solidifica y no regresa a su cristal original sino se convierte en un material duro, amorfo y con apariencia cristalina dando una textura crujiente.

El azúcar da un efecto de coloración en los productos horneados como resultado de varias reacciones químicas, algunas de ellas muy complejas, que ocurren durante el horneado.

En el caso del azúcar blanca (sacarosa), algunos de los constituyentes contenidos en el agua de la molécula de azúcar, se pierden cuando están a una temperatura igual o mayor a 140°C para dar lugar a una fina capa de caramelo. Alternativamente otros componentes estrechamente relacionados con la familia de los azúcares se pueden combinar con fragmentos de moléculas de proteína provenientes de huevo o leche en polvo para dar el característico sabor, aroma y color café de los productos recién horneados. Estas reacciones son conocidas como "*Reacciones de Maillard*", y ocurren

principalmente en la superficie del producto donde la temperatura es mayor. El grado de coloración café depende de la cantidad de azúcar de la formulación, su composición química y la temperatura del horneado. Es importante destacar que sólo el grupo de azúcares reductores (glucosa, fructosa y lactosa) pueden participar en las reacciones de Maillard.

Finalmente, está el efecto de conservación. En los alimentos generalmente reducir la cantidad de agua disponible para los microorganismos es una forma efectiva de prevenir su crecimiento. Tener altas concentraciones de sólidos disueltos asegura una baja actividad de agua, y el azúcar es particularmente efectivo para lograr este propósito. Sin embargo, la conservación no sólo tiene que ver con la protección contra el crecimiento de microorganismos sino también con la preservación de una buena calidad sensorial.

Huevo

El huevo es un ingrediente de vital importancia en muchos productos horneados. Como materia prima está disponible en diversas presentaciones: entero (fresco o conservado), procesado (en líquido o polvo) o separado en yema y clara. La importancia del huevo como ingrediente radica en su contribución al valor nutricional y al mejoramiento de la apariencia y características sensoriales del producto final. Actúa como emulsificante contribuyendo a aumentar la suavidad del producto. También ayuda a retener el aire que es incorporado a la masa durante el batido/mezclado. En el horneado, este aire se expande y siendo retenido en una fina red de proteína de huevo (albúmina) y harina, no puede escapar de manera que el volumen del producto final se ve incrementado.

Otros ingredientes

La lista de éstos es bastante larga y se continúan adicionando nuevos. En general, son llamados ingredientes minoritarios porque son usados en menores proporciones que los cuatro básicos (harina, grasa, azúcar y huevo). Tienen algún papel funcional,

ya sea para modificar la naturaleza del proceso en algún punto o para contribuir a la apariencia o sabor.

Los ingredientes funcionales que actúan como modificadores de textura son los gasificantes -que aligeran la estructura de los productos horneados- tales como bicarbonato de sodio y amonio, y emulsificantes, que actúan permitiendo que la grasa se disperse mejor en la masa.

Los cereales, aparte del trigo, también son utilizados para la fabricación de la harina, por ejemplo avena, soya y salvado son comunes, enriqueciendo el producto con proteína o fibra adicional, así como proporcionando una textura y sabor característicos.

Aparte del azúcar, otra útil fuente de dulzura en el producto proviene de los siropes: de caña, glucosa o malta comúnmente, pero cualquiera que sea éste forma parte activa de las reacciones de Maillard, impartiendo olor y sabor al producto terminado. Otra gran fuente de este tipo de ingredientes, son los derivados de productos lácteos. Los fragmentos de aminoácidos de proteína de leche se combinarán con las azúcares y siropes, dando una gama entera de efectos de coloración y produciendo colores y sabores muy diferentes a los de los ingredientes originales.

Otros ingredientes pueden ser usados para adicionar un sabor, como trozos de chocolate, nuez, almendras, entre otros (Dendy y Dobraszczyk, 2001).

Elaboración de galletas

La elaboración de galletas consiste en una serie de procesos consecutivos que convierten los ingredientes originales en un producto final. El mezclado de los ingredientes suele ser una operación intermitente, pero una vez hecho esto, la masa estará sujeta a procesos continuos a través del moldeado, horneado, posibles adiciones de crema o chocolate, y envasado. Los detalles de estas operaciones varían en gran medida de producto a producto y de un productor a otro, no obstante es posible, para cada proceso, resumir los principales cambios que se llevan a cabo y los métodos para lograrlos.

A continuación se presenta una descripción general de las etapas en la elaboración de galletas tipo pasta blanda, que fueron utilizadas en este proyecto.

Mezclado

Este paso tiene dos propósitos. El primero es el entremezclado de los ingredientes, para que cada producto terminado tenga la porción justa de cada uno. En segundo lugar, a través del mezclado se obtienen ciertos cambios físicos y químicos que son esenciales para el proceso de manufactura.

Las galletas de pasta blanda, tienen usualmente un bajo contenido de agua y altos niveles de azúcar y grasa, esto significa que no hay suficiente agua para disolver completamente todo el azúcar. La cantidad que se disuelve debe ser controlada, y esto se hace estableciendo dos etapas en el proceso de mezclado. En la primera, todos los ingredientes, excepto la harina son mezclados. De esta manera, el agua tiene contacto con el azúcar, permitiendo disolverla sin competir con el almidón ni la proteína de la harina. La grasa es añadida también en esta primera etapa, permitiendo la formación de una consistencia tipo cremosa con el azúcar disuelto, y el agua usualmente termina como emulsión de pequeñas gotas dentro de la grasa. En la segunda etapa de mezclado, se añade la harina y se forma la masa. Debido a que el agua se queda atrapada dentro de la grasa, sólo una pequeña cantidad de ésta se mezcla con la proteína de la harina, por lo que no se forma el gluten. Mantener la masa a temperaturas bajas también evita la formación de gluten.

Moldeado

El siguiente paso es formar piezas de masa de acuerdo a lo requerido para el producto final. Esta etapa es muy importante, ya que es el primer punto en todo el proceso donde se afecta la apariencia del producto. No es sólo acerca de la forma básica de una galleta, si no también cualquier diseño, letrero o agujero que permita el paso del aire durante el horneado. A nivel industrial, dependiendo del tipo de masa, es el equipo utilizado, debido a que las masas blandas son muy pegajosas por lo que a

menudo son extrudidas, a diferencia de las masas para galletas de pasta dura, que son extensibles y elásticas, con las cuales se usa un proceso de laminado y cortado.

Horneado

La energía calorífica es generada usualmente por gas en hornos o elementos eléctricos, pero cualquiera que sea el método de transferencia de calor, los cambios que se dan en la masa serán los mismos. Estos cambios pueden ser resumidos como desarrollo, seguido de secado y después coloración.

En la primera etapa, la estructura de la galleta se desarrolla. La pieza de masa entra en el horno caliente y aumenta su temperatura alrededor de 40 °C antes de que se den muchos cambios, entre los cuales se derrite la grasa. El aumento de temperatura continúa, y alrededor de los 60 °C, los agentes gasificantes comienzan a emitir los gases que contienen. Poco después de esto, entre 80 °C y 100 °C, el almidón de la harina se gelatiniza y la proteína se desnaturaliza, transformando la pieza de masa en una estructura más rígida, que tiene más o menos la forma y tamaño del producto final. Sin embargo, sigue teniendo un color pálido y aún cuenta con la mayor parte del contenido original de agua. Las siguientes dos etapas, secado y coloración, en realidad se traslapan de cierta forma. Por encima de los 100°C, el calor del horno aleja la humedad, y el color se comienza a formar cuando el producto se seca. Al final la galleta el color de la costra siempre será más oscuro comparado con el color de la parte interna, debido a que las áreas externas son las que se secan primero por estar más expuestas.

Envasado

A nivel industrial, se espera que el empaque proteja y preserve el producto, que sea suficientemente atractivo físicamente y que describa el producto adecuadamente. La mayoría de las galletas son bastante frágiles y necesitan mantenerse unidas rígidamente para que no se agiten durante el transporte y se rompan.

También están muy secas después del horneado y tienen una menor presión de vapor de agua que el aire que las rodea, por lo tanto el envase necesita ser hermético para

evitar que el producto absorba humedad del ambiente y su textura se ablande. Actualmente las películas flexibles son por mucho el material de empaque más común. Algunos revestimientos son añadidos a la superficie de la película como barreras para la humedad y sellado (Dendy y Dobraszczyk, 2001).

1.4 Evaluación sensorial

El Instituto de Tecnología de Alimentos de E.U. (IFT por sus siglas en inglés), define la evaluación sensorial como “la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído.

Otro concepto que se le da a la evaluación sensorial es el de la caracterización y análisis de aceptación o rechazo de un alimento por parte del catador o consumidor, de acuerdo a las sensaciones experimentadas desde el mismo momento que lo observa y después que lo consume. Es necesario tener en cuenta que esas percepciones dependen del individuo, del espacio y del tiempo principalmente (Hernández, 2005).

1.4.1 Tipos de pruebas

A continuación se presentan los principales tipos de pruebas en el análisis sensorial (Pedrero y Pangborn, 1989).

- a) Pruebas de afectividad: El equipo o panel de catadores clasifica las muestras con relación a la preferencia que sienten por ella o a su nivel de satisfacción.
 - Preferencia: Permiten ordenar, según las opiniones de un grupo de consumidores, un par o una serie de muestras de acuerdo con un parecido personal o una preferencia.
 - Aceptación: Evalúan de acuerdo a un criterio personal-subjetivo si la muestra presentada es aceptable o rechazable para su consumo.
 - Nivel de agrado: Localizan el nivel de agrado o desagrado que provoca una muestra específica. Se utiliza una escala no estructurada (escala hedónica),

sin mayores descriptores que los extremos de la escala, en los cuales se puntualiza la característica de agrado.

b) Pruebas de discriminación: Permiten encontrar diferencias significativas entre las muestras o entre ellas y un patrón. Además deben permitir cuantificar la diferencia significativa.

- Pareada
- Triangular
- Dúo-trío
- Comparaciones apareadas
- Comparaciones múltiples
- Ordenación

c) Pruebas descriptivas: Permiten describir, comparar y valorar las características de las muestras en función de unas categorías o tipos (patrones) definidos previamente.

- Pruebas de calificación con escalas
- Medición de atributos con respecto al tiempo
- Definición de perfiles sensoriales
- Relaciones psico-físicas

1.4.2 Tipos de jueces

A partir del momento en que se pide al catador que emita una opinión o juicio se eleva a la categoría de juez sensorial, clasificados de la siguiente manera (Pedrero y Pangborn, 1989):

- a) Juez experto o profesional: Trabaja solo y se dedica a un solo producto a tiempo preferente o total.
- b) Juez entrenado o “panelista”: Miembro de un equipo o panel de catadores con habilidades desarrolladas, incluso para pruebas descriptivas (7-15 jueces por panel)

- c) Juez semientrenado o aficionado: Persona con entrenamiento y habilidades similares a las de un panelista, que sin formar parte de un equipo o panel estable, actúa en pruebas discriminatorias con cierta frecuencia.
- d) Juez consumidor o no entrenado: Persona sin habilidad especial para la cata, que se toma al azar o con un cierto criterio (consumidores potenciales o habituales) para realizar pruebas de aceptación.

1.5 Parámetros texturales

La palabra textura deriva del latín *textura*, que significa tejido, y originalmente se tomó en referencia a la estructura, sensación y apariencia de los tejidos. Varios intentos de definir la textura de un alimento han culminado en cierto acuerdo internacional con el desarrollo de la norma internacional ISO 5492, que se relaciona con el vocabulario utilizado con la evaluación sensorial. La textura se define como “Todos los atributos mecánicos, geométricos y superficiales de un producto perceptibles por medio de receptores mecánicos, táctiles y, si es apropiado, visuales y auditivos”. Evidentemente, la textura de un alimento trata de la percepción de la estructura del producto y cómo éste se comporta cuando es manipulado o comido.

Scott Blair (1958), clasificó las técnicas instrumentales utilizadas para medir la textura de los alimentos en tres grupos:

- Ensayos empíricos, que miden alguna propiedad física bajo condiciones bien definidas.
- Ensayos imitativos, que intentan simular las condiciones a las que el material está sometido en la boca.
- Ensayos fundamentales, que miden propiedades físicas bien definidas tales como la viscosidad o el módulo elástico.

Un ensayo empírico-imitativo que ha captado la imaginación de muchos tecnólogos en alimentos debido a que pretende proporcionar valores estándar de la textura de los alimentos es el *Análisis de perfil de Textura* (TPA-*Texture Profile Analysis*), creado por la *General Foods* a mediados de los años sesenta (Rosenthal, 2001).

El análisis de perfil de textura es una prueba que consiste en imitar la masticación por medio de dos compresiones aplicadas a una muestra del tamaño de una mordida en un movimiento alternativo que imita la acción de la mandíbula, y extrayendo como resultado de la curva fuerza-tiempo (Figura 3) ciertos parámetros texturales correlacionados con la evaluación sensorial de éstos (Friedman et al, 1963; Szczesniak et al, 1963).

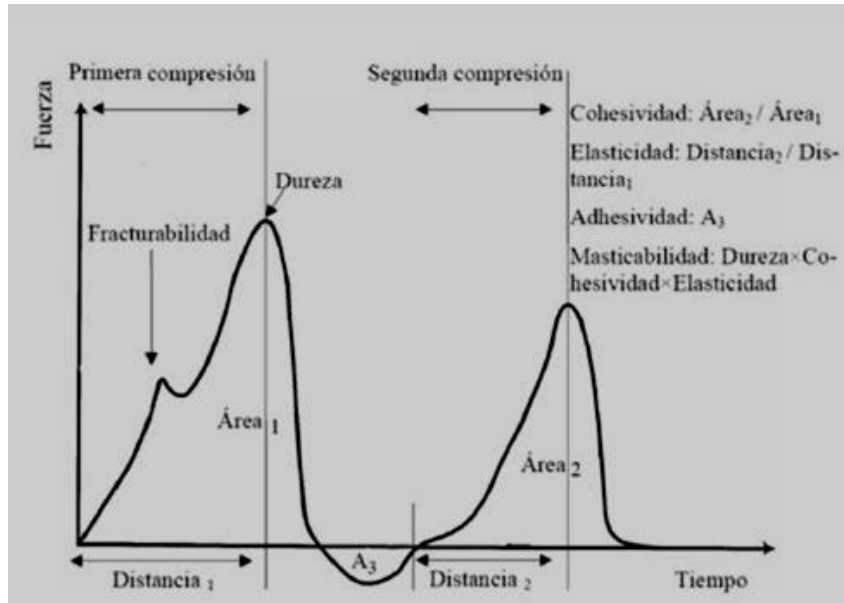


Figura 3. Curva general del análisis de perfil de textura (Rosenthal, 2001).

La altura de la fuerza del primer pico en el primer ciclo (primera compresión), fue definido como dureza. La fuerza de fractura fue definida como la fuerza de la ruptura significativa en la curva de la primera compresión. La razón de las áreas positivas de fuerza entre la primera y segunda compresión (A_2/A_1) fue definido como cohesividad. El área negativa de la fuerza en la primera compresión (A_3) representó el trabajo necesario para apartar el émbolo de la muestra de alimento y fue llamado adhesividad. La distancia a la que el alimento recobra su altura durante el tiempo transcurrido entre el final de la primera mordida y el inicio de la segunda (distancia 2), fue definido como elasticidad. Otros dos parámetros se derivaron del cálculo de los parámetros medidos: gomosis, que fue definido como el producto de la *dureza* \times *cohesividad*; y la

masticabilidad, definida como producto de *gomosidad* \times *elasticidad* (Szczesniak et al., 1963). El análisis dimensional de los parámetros anteriores se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Análisis dimensional de parámetros obtenidos de un Análisis de Perfil de Textura (Bourne, 1982).

Parámetro	Variable medida	Dimensiones
Dureza	Fuerza	kgf
Cohesividad	Proporción	Adimensional
Elasticidad	Distancia	mm
Adhesividad	Trabajo	Kgf*mm
Fuerza de fractura	Fuerza	Kgf
Masticabilidad	Trabajo	Kgfm
Gomosidad	Fuerza	kgf

1.5.1 Textura en galletas

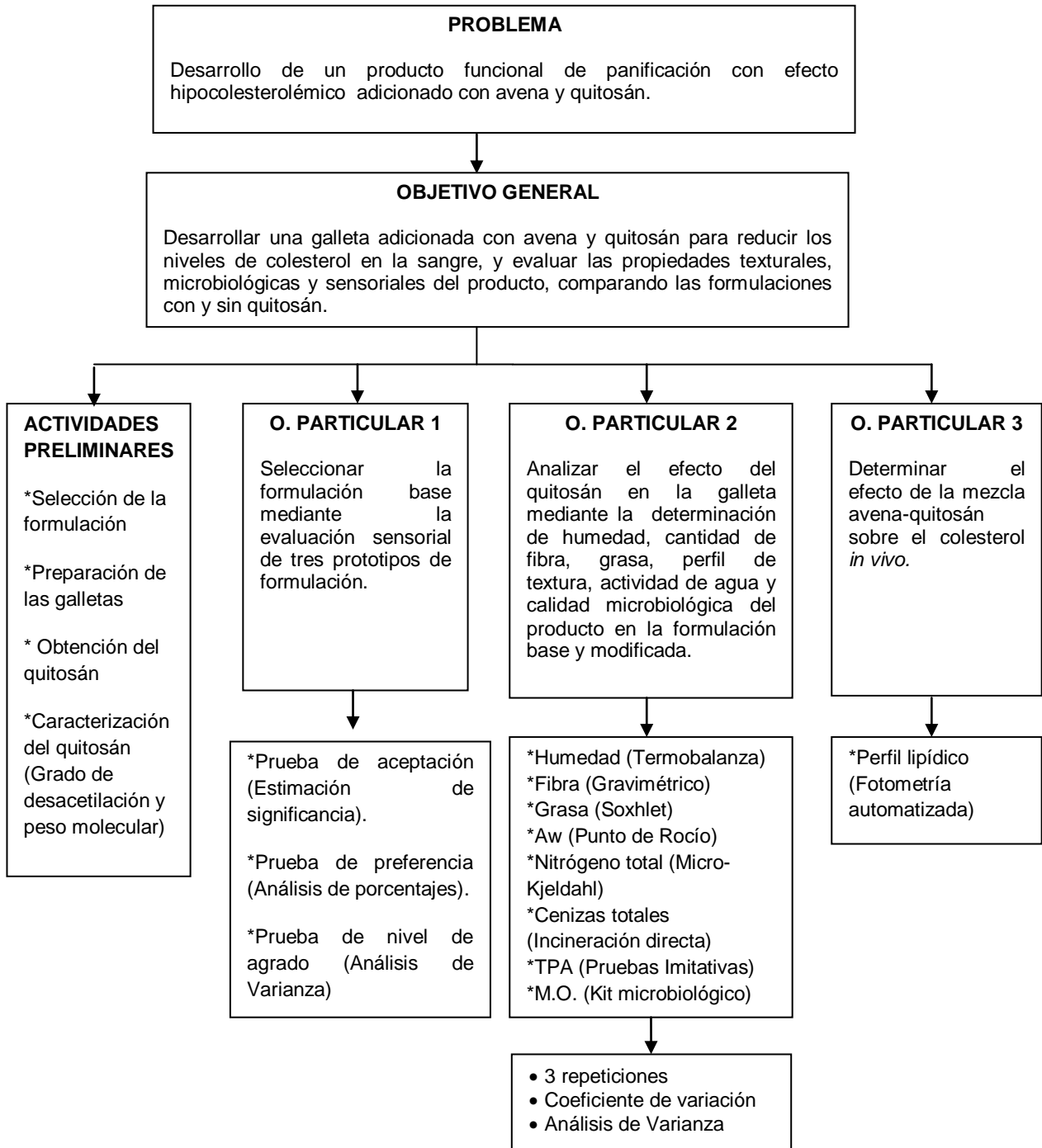
La textura es el parámetro de calidad de mayor importancia para el consumidor de productos horneados. La determinación de parámetros texturales en galletas, es particularmente difícil debido a su composición heterogénea y a su estructura poco uniforme. Usualmente no fluyen frente a esfuerzos de presión, pero son frágiles y quebradizas (Gaines, 1994). Los parámetros texturales más importantes para estos productos son dureza, fuerza de fractura, cohesividad y módulo.

La *dureza* se define como el máximo de fuerza que tiene lugar en cualquier tiempo durante el primer ciclo de compresión. En la mayoría de los casos, la dureza está relacionada con la fuerza de ruptura del material. Sensorialmente es la fuerza requerida para comprimir un alimento entre los molares. Se llama *fuerza de fractura* o *fracturabilidad* a la primera caída significativa de la curva fuerza-tiempo durante el primer ciclo de compresión. Es el punto de la primera fractura o grieta de la muestra. El *módulo* es la pendiente inicial de la curva fuerza-tiempo, ésta es una medida de cómo se comporta la muestra cuando se comprime una cantidad pequeña y usualmente se correlaciona muy estrechamente con la percepción sensorial de la

firmeza de la muestra y se expresa en unidades de fuerza por unidad de área (N/m^2). La *cohesividad* se mide tomando el trabajo total dado en la muestra durante el segundo ciclo y dividiéndolo por el trabajo dado durante el primer ciclo. Se define como la fuerza que los enlaces internos hacen sobre el alimento. Las muestras que son muy cohesivas tendrán altos valores y se percibirán como duras y difíciles de romper en la boca (Rosenthal, 2001).

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 Cuadro metodológico



2.2 Objetivos

Objetivo general

Desarrollar una galleta adicionada con avena y quitosán para reducir los niveles de colesterol en la sangre, y evaluar las propiedades texturales, microbiológicas y sensoriales del producto.

Objetivo particular 1

Seleccionar la formulación base mediante la evaluación sensorial de tres prototipos de formulación.

Objetivo particular 2

Analizar el efecto del quitosán en la galleta mediante la determinación de humedad, cantidad de fibra, grasa, perfil de textura, actividad de agua y calidad microbiológica del producto en la formulación base y modificada.

Objetivo particular 3

Determinar el efecto de la avena y quitosán sobre el colesterol *in vivo*.

2.3 Actividades preliminares

2.3.1 Obtención del quitosán

El procedimiento para obtener el quitosán fue de acuerdo al protocolo seguido por el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, de la Universidad Nacional Autónoma de México y a la patente “Proceso para la extracción de quitina a partir de crustáceos y su conversión a quitosán” (UNAM, 2011).

Secuencia de cálculo

El rendimiento es un importante factor en la obtención del quitosán ya que a partir de él podemos calcular la cantidad de materia prima que se necesita para extraer una determinada cantidad de quitosán en futuras investigaciones.

$$\% \text{rend}_{\text{peso seco}} = \frac{m_f \times 100}{m_i} \dots \text{Ec. 1}$$

Donde

m_f = masa final de quitosán (g)

m_i = masa inicial de caparazones de camarón (g)

2.3.2 Determinación del grado de desacetilación

Fundamento

Se basa en que los iones hidrógenos presentes en una muestra como resultado de la disociación, son neutralizados mediante titulación con un álcali estándar. Con un potenciómetro se mide y registra el pH después de la adición del álcali estándar. Para hallar la concentración del analito se construye una curva de titulación graficando los valores de pH observados contra el volumen acumulativo (mL) de la solución titulante empleada. La curva obtenida debe mostrar uno o más puntos de inflexión, donde la pendiente de la curva cambia de signo (Yuan et al., 2011).

Procedimiento

Se colocaron 0.3 g de quitosán previamente secado a 105°C en un vaso de precipitados y se agregaron 45 ml de HCl 0.2 M. Se agitó vigorosamente hasta quedar completamente disuelto. Se añadió NaOH 0.1 M a una bureta, y se tituló la mezcla anterior hasta llegar a un pH de 11, agregando incrementos de 1 mL de NaOH. En cada incremento se anotaron los valores de pH correspondientes a cada volumen.

Secuencia de cálculo

Se graficó el pH en función del volumen de la base. Del gráfico anterior se localizan los dos puntos de inflexión, el primero corresponde a la neutralización del HCl, y el segundo a la neutralización de los iones de amonio del quitosán. Se utilizó la siguiente ecuación para calcular el grado de desacetilación (%DD):

$$\%DD = \frac{16.1 (y - x) f}{w} \quad \dots \text{Ec. 2}$$

Donde:

y= Punto de inflexión mayor (ml)

x=Punto de inflexión menor (ml)

w= Peso de la muestra de quitosán (g)

f= Molaridad de la solución de NaOH

16.1 es un valor relacionado con el peso equivalente del quitosán.

2.3.3 Determinación del peso molecular

Método: Viscosimetría capilar (Mohammad, 2007).

Fundamento

La viscosidad es una magnitud que representa la "resistencia a fluir" o densidad de un fluido. A escala microscópica, la mayor o menor viscosidad de un fluido es consecuencia de la facilidad con que las partículas que lo constituyen se deslizan unas respecto a otras, ya que la viscosidad está relacionada con el rozamiento interno del fluido.

La viscosidad de un fluido se puede relacionar con el tiempo de flujo t , requerido para que un volumen determinado de disolución pase a través de un capilar por efecto de la gravedad.

Procedimiento

Se preparó una solución buffer de Acetato de Sodio 0.2 M y Ácido Acético 0.3 M a pH=4.6, una solución de quitosán al 0.01 g/ml y se realizaron 5 diluciones (0.00200, 0.00150, 0.00100, 0.00075, 0.00025), posteriormente se filtraron las soluciones. Se colocaron 4 ml de cada dilución de quitosán en el viscosímetro capilar y se introdujo el en el baño térmico regulado a 25°C (Figura 4). Se succionó la solución de quitosán con la ayuda de una propipeta hasta cubrir los puntos A y B (Figura 5), y se tomó el tiempo de caída entre los puntos A y B, con la ayuda de un cronómetro (procurando que los tiempos no tuvieran variación mayor a 0.02 s). Se registraron 3 repeticiones de cada muestra, incluyendo la solución de Buffer.



Figura 4. Baño térmico para viscosimetría intrínseca.

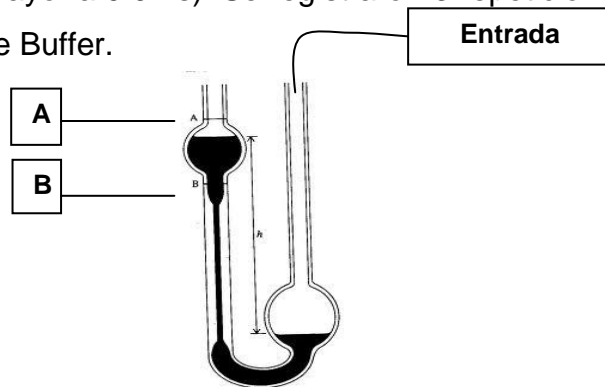


Figura 5. Diagrama del tubo de Ostwald.

Secuencia de cálculo

1.- Se determinó la viscosidad relativa de cada muestra con la ecuación no.3

$$\eta_{rel} = \frac{t_M}{t_0} \quad \dots \text{ Ec. 3}$$

Donde:

η_{rel} = Viscosidad relativa

t_M = Tiempo de recorrido de B a A de la muestra (s)

t_0 = Tiempo de recorrido de B a A del solvente (s)

2.- Determinar la viscosidad específica

$$\eta_{esp} = \eta_{rel} - 1 \quad \dots \text{ Ec. 4}$$

3.- Se determinó la viscosidad específica reducida

Donde:
$$\eta_{red} = \frac{\eta_{esp}}{[Quitosán]} \quad \dots \text{ Ec. 5}$$

η_{red} = Viscosidad específica reducida

η_{esp} = Viscosidad específica

[Quitosán]= Concentración de quitosán (g/dL)

4.- Se determinó la viscosidad intrínseca graficando η_{red} vs [Quitosán]. Se realizó regresión lineal la ordenada al origen será el valor de la viscosidad intrínseca.

5.- Se calculó peso molecular a partir de la ecuación de Mark-Houwink

$$[\eta]=KM^a \quad \dots \text{ Ec. 6}$$

Donde K y a son constantes que dependen del solvente y polímero, en este caso K= 7.6×10^{-4} , a= 0.76; y M el peso molecular.

6.- Se despejó M y se obtuvo el peso molecular

$$M = 10^{\frac{\log [\eta] - \log [k]}{a}} \quad \dots \text{ Ec. 7}$$

2.3.4 Elección de las formulaciones iniciales

El tipo de galleta elegida fue de pasta blanda con avena y chispas de chocolate, esto de acuerdo a los resultados obtenidos del cuestionario (Cuestionario I- ANEXO) aplicado a 30 personas sobre el tipo de galleta que preferían los consumidores.

Las tres formulaciones iniciales de galleta de chispas de chocolate fueron elegidas de recetas caseras distribuidas por una repostera independiente, de acuerdo a las que eran más vendidas y con menor porcentaje de grasa.

De las tres formulaciones anteriores (Tabla 2), se eligió una mediante evaluación sensorial (de acuerdo al objetivo particular 1). Esta formulación elegida sirvió como control. A esta misma se le añadió quitosán, convirtiéndose en la formulación modificada.

La cantidad de quitosán agregado fue de 1.5 g por dosis de 6 galletas (1.21%).

Tabla 2. Comparación de ingredientes de los prototipos de formulación.

INGREDIENTE	FORMULACIÓN		
	1	2	3
Margarina (%)	28.07	21.08	19.63
Huevo (%)	4.35	13.08	12.18
Harina de trigo (%)	19.65	29.51	34.35
Chispas de chocolate (%)	14.04	10.54	9.82
NaCO ₂ (%)	0.39	0.30	0.28
Royal (%)	0.16	0.47	0.43
Hojuelas de avena (%)	7.02	5.27	4.91
Azúcar (%)	26.32	19.76	18.40

Diagrama de proceso

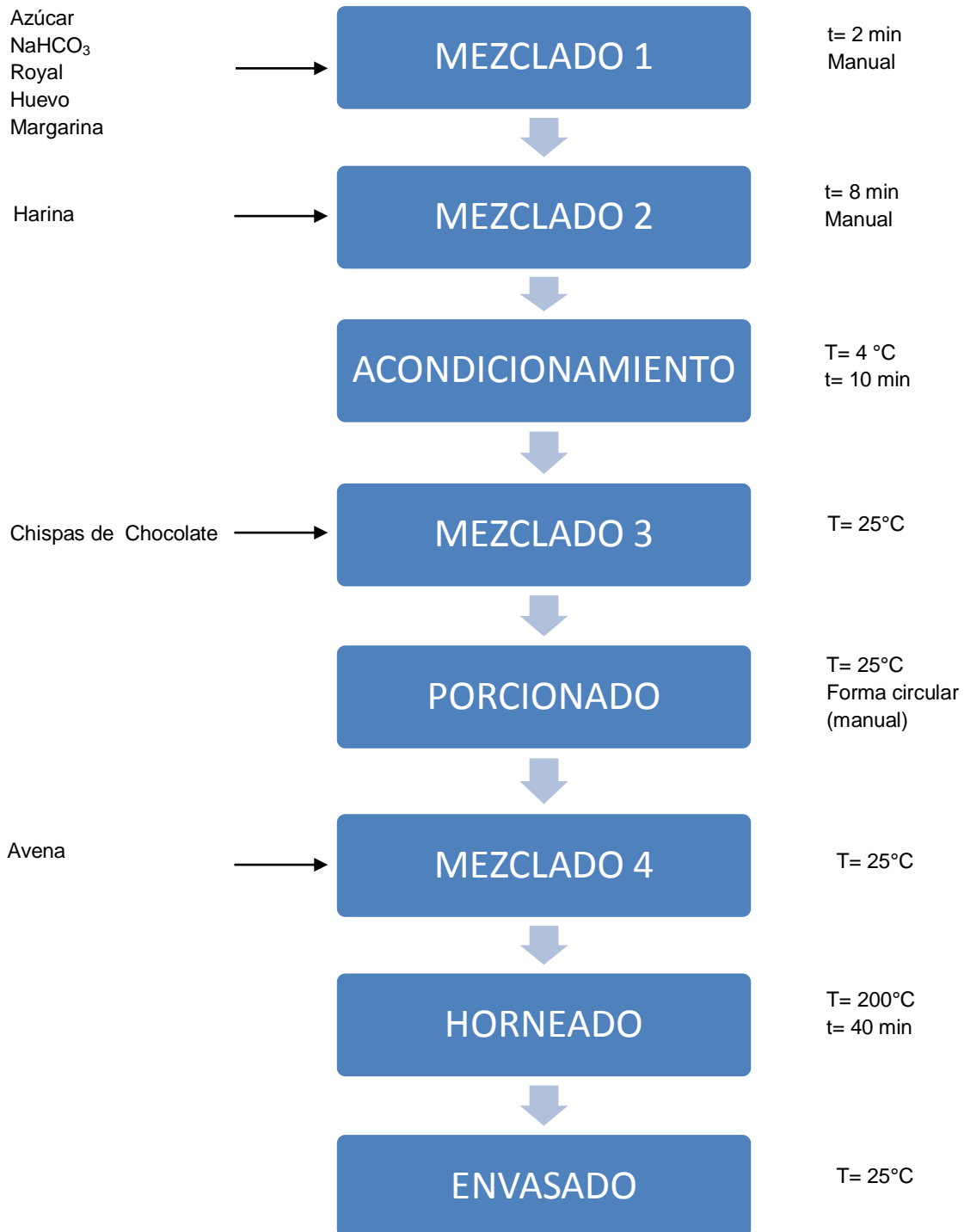


Figura 6. Diagrama de proceso de elaboración de galletas sin quitosán.

Descripción del diagrama de proceso

Mezclado 1: Se batió el huevo manualmente mientras se le añadía el azúcar, posteriormente se añadieron la margarina derretida, bicarbonato de sodio y el royal hasta que la mezcla tuviera una apariencia homogénea (alrededor de 2 minutos)

Mezclado 2: Se añadió la harina cernida. Se mezclaron por 8 minutos aproximadamente, o hasta lograr incorporar todos los ingredientes.

Acondicionamiento: La mezcla se introdujo en una envoltura plástica en el refrigerador por 10 minutos (temperatura de 4°C a 5°C) para conseguir una consistencia más fácil de manejar y moldear.

Mezclado 3: En esta etapa se incorporaron las chispas de chocolate, esto fue para evitar que se derritieran al tener contacto con la margarina caliente.

Mezclado 4: Se adicionaron 6 g de avena por cada 78 ± 1 g de masa, se mezclaron y se separaron en 6 partes. La avena se adiciona hasta este paso para controlar la cantidad.

Porcionado: Se formaron pequeñas bolas de masa y se distribuyeron en una charola para hornear sobre papel arroz dejando un espacio de 5 ± 1 cm entre cada una.

Horneado: La charola con producto se introdujo al horno precalentado a una temperatura de 200°C por 40 min.

Envasado: Las galletas se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 15 min y posteriormente cada lote de 6 galletas se guardó en bolsas de celofán con una etiqueta del día de elaboración y tipo de fórmula.

Para la elaboración de las galletas con quitosán, se modificó el procedimiento:

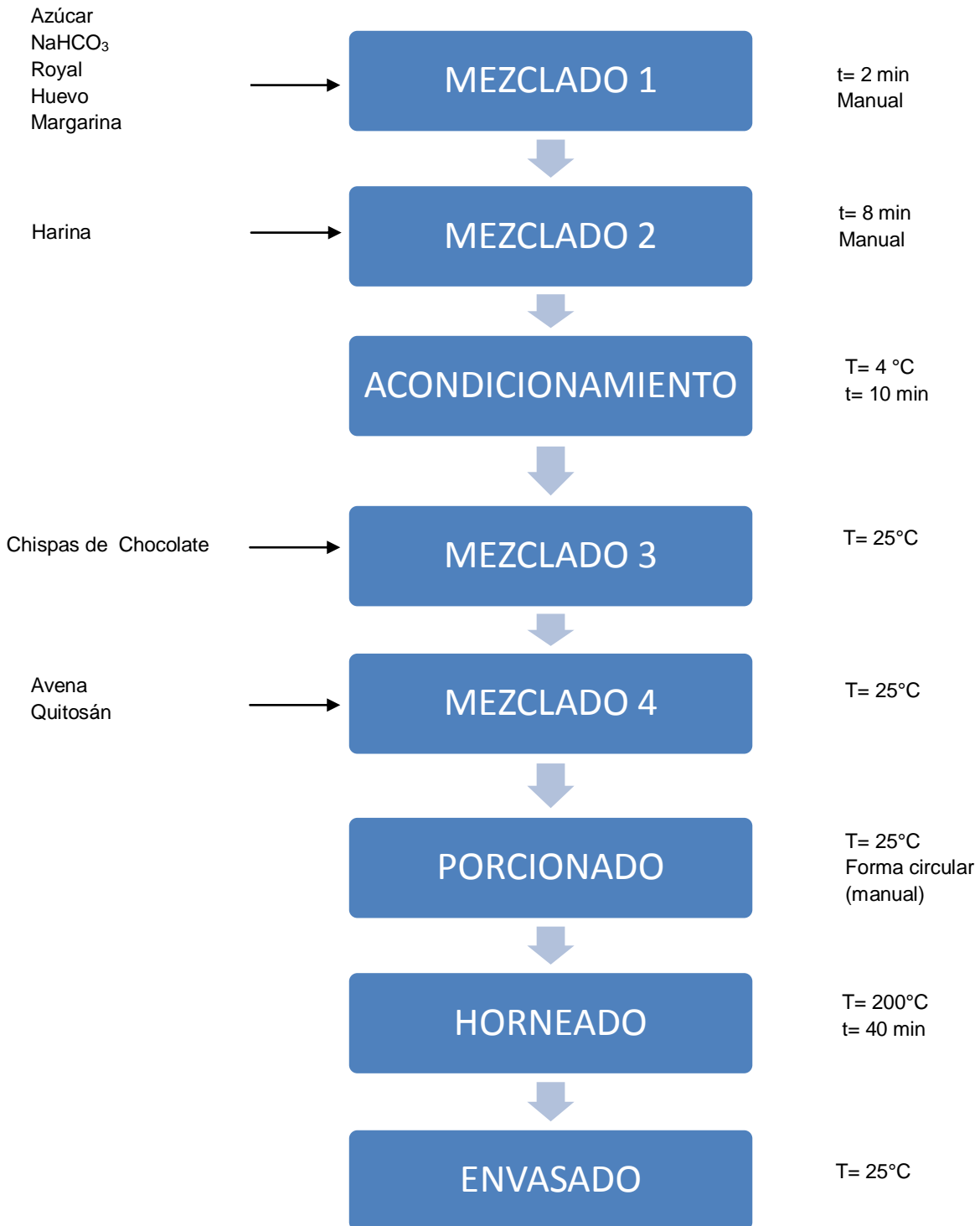


Figura 7. Diagrama del proceso de elaboración de galletas con quitosán.

Descripción del diagrama de proceso para elaboración de galletas con quitosán

Mezclado 1: Se batió el huevo manualmente mientras se le añadía el azúcar, posteriormente se añadieron la margarina derretida, bicarbonato de sodio y el royal hasta que la mezcla tuvo una apariencia homogénea (alrededor de 2 minutos).

Mezclado 2: Se añadió la harina cernida. Se mezclaron por 8 minutos aproximadamente, o hasta lograr incorporar todos los ingredientes.

Acondicionamiento: La mezcla se introdujo en una envoltura plástica en el refrigerador por 10 minutos (temperatura de 4°C a 5°C) para conseguir una consistencia más fácil de manejar y moldear.

Mezclado 3: En esta etapa a la mezcla acondicionada se le adicionaron las chispas de chocolate, esto con el fin de que no se derritieran al contacto con la margarina caliente.

Mezclado 4: Se adicionaron la avena y el quitosán previamente pesados. Por cada 78±1 g de masa se adicionaron 1.5 g de quitosán y 6 g de avena (6 galletas de 13±1 g de masa cada una). Se adicionan por separado para controlar la cantidad de estos ingredientes por cada dosis (6 galletas).

Porcionado: Una vez incorporados estos ingredientes a la masa, se separaron en 6 partes iguales y se formaron 6 bolas procurando que tuvieran el mismo tamaño, y se colocaron en una charola de horneado sobre papel arroz dejando un espacio de 5 cm entre cada una.

Horneado: La charola con producto se introdujo al horno precalentado a una temperatura de 200°C por 40 min.

Envasado: Las galletas se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 15 min y posteriormente cada lote de 6 galletas se guardó en bolsas de celofán con una etiqueta del día de elaboración y tipo de fórmula.

2.4 Evaluación sensorial

Método: Evaluación sensorial por pruebas afectivas (Pedrero y Pangborn, 1989)

Procedimiento

Se evaluaron tres formulaciones (sin quitosán) para elegir la formulación base.

Las tres pruebas realizadas fueron afectivas (prueba de aceptación, prueba de nivel de agrado y prueba de preferencia), las cuales se evaluaron en un solo cuestionario de la siguiente manera:

Fueron elegidos 21 jueces por ser consumidores potenciales; es decir, quienes afirmaron tener problemas de colesterol alto. Éstos no fueron entrenados (jueces afectivos) ya que para este tipo de prueba no es necesario.

A cada juez se le dio una muestra de cada galleta y una hoja de respuestas para responder a las tres pruebas. De acuerdo al método a cada formulación se le asignó un número diferente (al azar) con 3 dígitos, los cuales fueron 321, 836 y 955 para la 1, 2 y 3 respectivamente. Esto fue para evitar que el orden de presentación de las muestras influyera en las calificaciones del encuestado. El cuestionario (II) se encuentra en el ANEXO.

Los análisis estadísticos aplicados fueron:

Para la prueba de aceptación, se registró el porcentaje de aceptación vs porcentaje de rechazo. Se determinó si la aceptación fue significativa de acuerdo a la tabla de “estimación de significancia”, con $p=1/2$, de dos colas.

Para la prueba de preferencia se registró el porcentaje de consumidores que prefirieron determinada muestra.

Para la prueba de nivel de agrado se aplicó un análisis de varianza.

2.5 Análisis químico

Se analizó el efecto del quitosán en el producto mediante la determinación de humedad, cantidad de fibra, grasa, perfil de textura, actividad de agua y calidad microbiológica en la formulación base y modificada

Todas las determinaciones fueron por triplicado. En las pruebas de humedad, fibra, grasa, actividad de agua y proteína, se aplicó un análisis de varianza con $\alpha=0.05$ para determinar si hubo diferencia significativa entre las medias. Se realizaron pruebas extras de nitrógeno total y cenizas, sin embargo no estaban planeados.

Las muestras de galletas fueron preparadas en un molino de café marca “Braun” hasta obtener un polvo.

2.5.1 Determinación de humedad

Método: Método rápido de la termobalanza (NMX-F-428-1982).

Fundamento

La humedad es tomada como la pérdida de peso al secado, usando una termobalanza, el cual emplea una balanza de torsión sensible para pesar la muestra y una lámpara infrarroja para secar.

Procedimiento

Se especificaron las condiciones de la prueba en la termobalanza digital marca *Ohaus*, modelo MB-45 a una temperatura de 70°C, con el equipo limpio y seco. Se pesaron 5 g en la misma balanza y se distribuyeron cuidadosa y uniformemente en el platillo. Se tomó la lectura cuando el valor permaneció estable durante 2 minutos, el cual fue registrado como porcentaje total de humedad.

2.5.2 Determinación de actividad de agua

Método: Medición del punto de rocío (Gómez, 1992).

Fundamento

La medición se basa en la humedad en equilibrio. En un espacio cerrado en el que proporcionalmente hay una menor cantidad de aire que de materia sólida, el agua libre contenida en la materia sólida determina la humedad relativa del aire del ambiente. La actividad del agua (valor a_w) equivale prácticamente a la humedad en equilibrio en un espacio cerrado.

Procedimiento

Se realizó la medición en un equipo marca Testo, modelo 650 (USA). Se colocó la muestra molida en una caja de plástico a $\frac{3}{4}$ de su capacidad y se insertó en el espacio correspondiente para la medición. Se cerró la cámara y se registraron los datos de a_w y temperatura una vez que se estabilizó la lectura.

2.5.3 Determinación de nitrógeno total

Método: Determinación de nitrógeno total por Micro-Kjeldahl (AOAC, 2000).

Fundamento

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en:

- a) Ácido sulfúrico donde se forma sulfato de amonio y el exceso de ácido es valorado con hidróxido de sodio en presencia de rojo de metilo, o
- b) Ácido bórico formándose borato de amonio el que se valora con ácido clorhídrico.

Procedimiento

Se pesó la muestra anotando exactamente la masa, y se transfirió a un tubo de digestión (Figura 8), agregando el catalizador Copper (1.9 ± 0.1 g de K_2SO_4 , 40 ± 10 mg de HgO y 2 mL de H_2SO_4 concentrado). Se colocó en el aparato de digestión hasta que la muestra quedó transparente (Figura 9). Se dejó enfriar y se agregó un volumen mínimo de agua para disolver los sólidos. Posteriormente se transfirió el líquido obtenido al aparato de destilación. Se colocaron en un matraz Erlenmeyer 10 mL de solución de H_3BO_3 4% y 2-4 gotas de indicador bajo el condensador. Se agregaron 10 mL de solución $NaOH-Na_2S_2O_3$ para coleccionar 80 mL de destilado (Figura 10) y se tituló hasta el punto final con HCl estandarizado.



Figura 8. Matraz con reactivos Kjeldahl



Figura 9. Muestra digerida



Figura 10. Recolección del destilado

Secuencia de cálculo

$$\% \text{ Nitrógeno total} = \frac{(\text{mL HCl} - \text{mL blanco}) \times \text{molaridad} \times 14.007 \times 100}{\text{mg muestra}} \quad \dots \text{ Ec. 8}$$

2.5.4 Determinación de fibra cruda

Método: Gravimétrico (NMX-F-090-S-1978).

Fundamento

Este método se basa en la digestión ácida y alcalina de la muestra obteniéndose un residuo de fibra cruda y sales que con calcinación posterior se determina la fibra cruda.

Procedimiento

Se pesaron 2 g de muestra (con la grasa previamente extraída) y se transfirió a un vaso de 600 mL. Se agregaron 200 mL de ácido sulfúrico al 1.25% hirviendo, así como antiespumante “Tween” con un agitador de vidrio. Se colocó el vaso en el aparato sobre la placa caliente preajustada dejándolo hervir exactamente 30 minutos, y pasando ese tiempo se agregaron 200 mL de NaOH al 1.25% hirviendo y se calentó a ebullición otros 30 minutos (Figura 11). Después se retiró el vaso y se filtró en embudo Buckner en un matraz kitastato (Figura 12), con el papel filtro de masa y cenizas conocidas (Figura 13). Posteriormente se lavó con agua hasta que las aguas de lavado llegaron a un pH igual al del agua destilada (Figura 13). Se transfirió el residuo a un crisol a peso constante y se sometió a secado a 130°C durante 2 horas. Se dejó enfriar en el desecador durante 10 minutos y posteriormente se determinó su masa. La muestra fue calcinada a 600°C durante 30 minutos, se dejó enfriar y se determinó su masa.



Figura 11. Muestra con H₂SO₄ y NaOH.



Figura 12. Montaje del embudo Buckner y matraz kitastato.

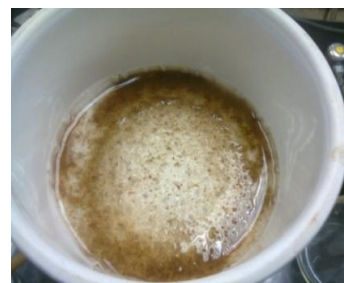


Figura 13. Filtración de la fibra.

Secuencia de cálculo

$$\% \text{ FIBRA CRUDA} = \frac{(P_s - P_p) - (P_c - P_{cp})}{M} \quad \dots \text{ Ec. 9}$$

En donde:

P_s = masa en gramos del residuo seco a 130°C.

P_p = masa en gramos de papel filtro.

P_{cp} = masa en gramos de las cenizas del papel.

M = masa de la muestra en gramos.

P_c = masa en gramos de las cenizas.

2.5.5 Determinación de cenizas totales

Método: Incineración directa (AOAC, 2000).

Fundamento

Las cenizas son el residuo que queda después de someter el alimento a un proceso de incineración en una mufla a 500-550 °C. Después de la incineración se pesa el residuo, el cual proporciona directamente la cantidad de cenizas del alimento considerado.

Procedimiento

Se pesaron 5 g de muestra y se agregaron a una cápsula de porcelana a peso constante, enfriada en desecador, y pesada después de alcanzar temperatura ambiente. Se incineró en mechero Fischer (Figura 14) hasta obtener cenizas de color gris claro y posteriormente se introdujo a la mufla a 550°C hasta llegar a peso constante. Se pesó una vez alcanzada la temperatura ambiente (Figura 15).



Figura 14. Incineración de la muestra.



Figura 15. Enfriamiento a T_{amb} en el desecador.

Secuencia de cálculo

$$\% \text{ cenizas} = \frac{m_1 - m_2}{m} 100 \quad \dots \text{ Ec. 10}$$

Donde:

m_1 = masa de crisol con muestra a peso constante (g)

m_2 = masa de crisol a peso constante (g)

m = masa inicial de la muestra (g)

2.5.6 Determinación de lípidos

Método: Extracción etérea por Soxhlet (Hart y Fischer, 1971).

Fundamento

Se basa en una extracción semicontinua con un disolvente orgánico. En este método el disolvente se calienta, se volatiliza y condensa goteando sobre la muestra la cual queda sumergida en el disolvente. Posteriormente éste es sifoneado al matraz de calentamiento para empezar de nuevo el proceso. El contenido de grasa se cuantifica por diferencia de peso.

Procedimiento

Se colocó a peso constante un matraz bola de fondo plano en la estufa a 100°C, aproximadamente 2 horas. Se pesaron de 2 gramos de muestra en un cartucho *Soxhlet* y se colocó dentro de un tubo extractor, conectándolo a un matraz bola de fondo plano a peso constante y a un refrigerante. Se agregaron 150 mL de disolvente (hexano) por el refrigerante, se calentó el matraz en parrilla por ebullición suave, dejando hasta haber extraído toda la grasa. Para verificar lo anterior, se dejó caer una gota de la descarga sobre el papel filtro, y al evaporarse el disolvente no quedó residuo de grasa. Una vez verificado lo anterior, se retiró el cartucho con la muestra desgrasada, y se siguió calentando hasta la casi total eliminación del disolvente, recuperándolo antes de la descarga. Se colocaron en la estufa los matraces con la grasa extraída hasta llegar a peso constante.

Secuencia de cálculo

$$\text{Grasa extraíble} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100 \quad \dots \text{Ec. 11}$$

W_1 : Peso de matraz sin grasa (g)

W_2 : Peso de matraz con grasa (g)

W : Peso de la muestra (g)

2.6 Análisis de perfil de textura

MÉTODO: Imitativo

FUNDAMENTO: Consiste en una prueba de doble compresión en la cual se someten muestras del producto a un porcentaje de compresión con relación a su altura inicial, lo cual resulta casi siempre en la ruptura del alimento (Demonte, 1995).

Procedimiento

La prueba se realizó bajo las siguientes condiciones en un Texturómetro (Máquina Universal de Deformación) marca Lloyd Instruments, modelo TA 500.

Protocolo de prueba:

- Geometría: Placa de aluminio de 35 mm de diámetro
- Carga de la celda: 500 N.
- Forma de la muestra: circular, superficie irregular, diámetro aproximado de 50 mm y un espesor de 10 mm aprox.
- Compresión: Uniaxial, 33.3%.
- Velocidad de ascenso y descenso: 1.50 mm/s con un tiempo de espera de 5 s.
- Historia de la muestra: Las muestras fueron hechas el día anterior a la prueba, dejándolas enfriar a temperatura ambiente por 25 minutos aproximadamente y se guardaron en bolsas de plástico.

La muestra se colocó sobre una caja de Petri de plástico, se encendió el equipo y se establecieron los parámetros a medir por medio de sus respectivas ecuaciones (Tabla 3). Se dio inicio a la prueba y una vez completada se establecieron los cursores en cada gráfica fuerza-tiempo obtenida como se muestra en la Figura 16.

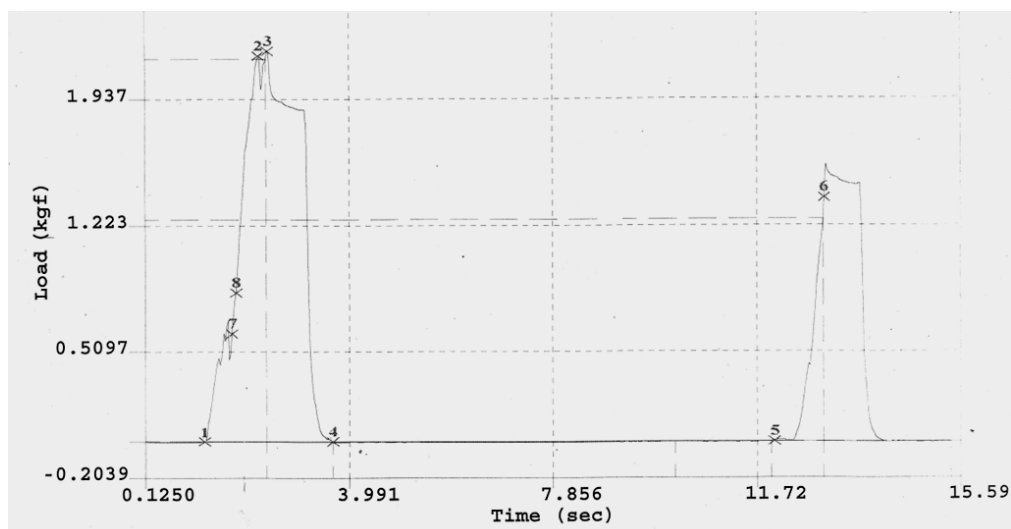


Figura 16. Ubicación de cursores en la curva fuerza-tiempo.

Tabla 3. Cálculo de parámetros texturales (Rosenthal, 2001).

Parámetro	Ecuación	Unidades
Dureza	$C2/9.81$	kgf
Fuerza de fractura	$C2/9.81$	kgf
Distancia de fractura	$C2E$	mm
Área de compresión 1	$(C3W-C1W)/9.81, A1$	kgf mm
Distancia de compresión 1	$DR1= (C3E-C4E)$	mm
Elasticidad instantánea	$E1= DR1/3$	Adimensional
Distancia de compresión 2	$D2= (C6E-C5E)$	mm
Elasticidad total	$ET= D2/3$	Adimensional
Área de compresión 2	$A2= (C6W-C5W)/9.81$	kgf mm
Cohesividad	$C= A2/A1$	Adimensional
Masticosidad	$M= D*C*ET$	kgf
Trabajo de fractura	$(C2W-C1W)/9.81$	kgf mm
Módulo	$((C8L-C7L/9.81)/(C8E-C7E))$	Kgf/mm

2.7 Recuento microbiológico

Método: Método rápido con kit microbiológico 3M™

Fundamento: Las placas Petrifilm™ contienen nutrientes, y agentes gelificantes que facilitan la enumeración de colonias de acuerdo con el microorganismo a contar. La lámina superior atrapa el gas producido por la fermentación de Coliformes y *E. coli*.

Coliformes: La Placa Petrifilm™ para recuento de coliformes totales (Coliform count CC) contiene nutrientes de bilis rojo violeta (VRB), un agente gelificante en agua fría y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. La lámina superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa de los coliformes. Las colonias de coliformes en las placas Petrifilm™ durante su crecimiento van generando ácido, por lo que el indicador de pH va oscureciendo el color del gel. El gas queda atrapado alrededor de la colonia confirmando la presencia de un coliforme.

Mohos y levaduras: Es un sistema de medio de cultivo listo para ser empleado, contiene nutrientes de “Sabhi”, dos antibióticos, indicador de fosfatos BCIP (5-Bromo-4-cloro-3-indolil fosfato), un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador que facilita la enumeración de las colonias.

Mesófilos aerobios: Las Placas Petrifilm™ para recuento de Aerobios son un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes del *Agar Standard Methods*, un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias.

***E. coli*:** Las placas Petrifilm™ contienen los nutrientes del VRB (Agar Violeta Rojo Bilis), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de la actividad glucuronidasa y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. El film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los Coliformes y *E. coli*.

Procedimiento

Todo el procedimiento fue seguido de acuerdo a los manuales anexos con el kit de placas *Petrifilm*TM de 3M.

a) Preparación de la muestra

Se preparó una dilución 1:10 de la muestra, pesando 1 g de muestra y agregando posteriormente 9 mL del diluyente (agua destilada) en un tubo de ensayo estéril, se ajustó el pH de la muestra (6.6 a 7.2), añadiendo 0.1 mL de NaOH 0.1 N y por último se mezcló y homogeneizó la muestra en el tubo de ensayo.

b) Inoculación

Se colocó la Placa *Petrifilm*TM en una superficie plana y nivelada, y con la pipeta perpendicular a la Placa *Petrifilm*TM se colocó 1 mL de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior. Después se extendió la muestra sobre la placa con ayuda del dispersor incluido, presionándolo ligeramente, para dejarlo solidificar la muestra durante 1 minuto y se procedió a la incubación.

c) Incubación

Las placas fueron incubadas cara arriba en forma apilada, de acuerdo a los siguientes métodos para cada determinación:

*Para *E. Coli*/Coliformes Totales: Para Coliformes Totales, incubar 24 h \pm 2 h a 37°C \pm 1°C; para *E. coli*, incubar 48 h \pm 2 h a 37°C \pm 1°C.

*Para Mesofílicos Aerobios: Incubar 48 h \pm 3 h a 35 °C \pm 1 °C.

*Para mohos y levaduras: Incubar 5 días entre 21°C y 25°C.

d) Interpretación

Las placas fueron leídas con un contador de colonias estándar.

E.coli: De acuerdo al método NMKL (Nordic Committee on Food Analysis): Se contaron todas las colonias azules con o sin gas.

Coliformes totales: Según la AOAC se contaron todas las colonias teñidas de rojo con gas.

Mohos: Todas las colonias con las siguientes características:

- Colonias grandes
- Colonias con bordes difusos
- Colonias de colores variables, por ejemplo: café, beige, naranja, azul verdoso, etc.
- Colonias con apariencia plana
- Tienen un centro oscuro y se expanden difusamente alrededor del mismo

Levaduras: Contar todas las colonias con las siguientes características:

- Colonias pequeñas
- Colonias con filos definidos
- Colonias con un rango de color desde beige o crema hasta azul verdoso, pueden tener también tonos rosas
- Colonias con apariencia abultada, es decir con una tercera dimensión: convexas.
- Color uniforme, no difusas.

Secuencia de cálculo

$$UFC/g = \frac{Cuenta \times Factor\ de\ dilución}{ml\ de\ muestra} \quad \dots\ Ec.\ 12$$

Donde:

$$Factor\ de\ dilución = \frac{10\ (Dilución\ 1:10)}{1\ ml\ de\ muestra} = 10 \quad \dots\ Ec.\ 13$$



Figura 17. Ajuste de pH.



Figura 18. Dilución de la muestra.



Figura 19. Incubación.

En la Tabla 4 se muestran los límites máximos para cada microorganismo de acuerdo a la NOM-247 para productos de panificación.

Tabla 4. Especificaciones microbiológicas para productos de panificación.

ESPECIFICACIONES	LIMITE MAXIMO
Mesofílicos aerobios	3000 UFC/g
Coliformes totales	<10 UFC/g
Mohos	20 UFC/g
Levaduras	20 UFC/g
E.Coli	NEGATIVO

2.8 Determinación el efecto de la avena y quitosán sobre el colesterol *in vivo*

Método: Fotometría automatizada (Laboratorios Chopo).

Procedimiento

El paciente de 45 años, de sexo masculino, fue elegido por tener un nivel elevado de colesterol total y LDL, y un nivel bajo de HDL. Para confirmar estos datos se le realizó un perfil lipídico previo. No tomaba medicamentos, y su dieta habitual consistía en dos

comidas fuertes (por la mañana y por la tarde) y una cena ligera. Por la mañana y la tarde una porción de carne, una porción de leguminosas, alrededor de 5 tortillas, algunas veces una porción de verduras. Por la noche té o café y una pieza de pan dulce.

Se le suministró una dosis diaria de 6 galletas durante 30 días, ingiriendo 3 por la mañana y tres por la tarde antes de comer. Cada galleta contenía 0.25 g de quitosán, lo cual dio un total de 1.5 g/día. El paciente no varió su dieta normal.

Se realizaron otros dos análisis de perfil lipídico los días 15 y 30 para determinar el cambio en sus niveles de colesterol total, de alta densidad (HDL) y de baja densidad (LDL). La medición de colesterol se llevó a cabo por estudios clínicos con un laboratorio independiente (Laboratorios Chopo) por el método de fotometría automatizada. Los resultados se obtuvieron directamente del laboratorio.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Actividades preliminares

3.1.1 Obtención del quitosán

En esta actividad un parámetro muy importante es el rendimiento, que a menudo es bajo. Se determinó en peso seco y se calculó tanto en cada etapa del proceso de extracción del quitosán, como para el rendimiento global de todo el proceso mediante la ecuación 1.

RENDIMIENTO GLOBAL

$$\% \text{ rend } TOTAL = \frac{43.8 \text{ g} \times 100}{200 \text{ g}} = 21.9 \% \text{ peso seco}$$

Esto quiere decir que por cada 100 g de materia prima (camarón), se obtuvieron 21.9 g de quitosán. Lo anterior significa que en el proceso se pierden muchos componentes como pigmentos y proteínas, y sólo una pequeña parte se convierte el quitosán.

3.1.2 Determinación del grado de desacetilación

Se presenta el Gráfico 1 con los puntos de inflexión, para realizar el cálculo del grado de desacetilación (%DD).

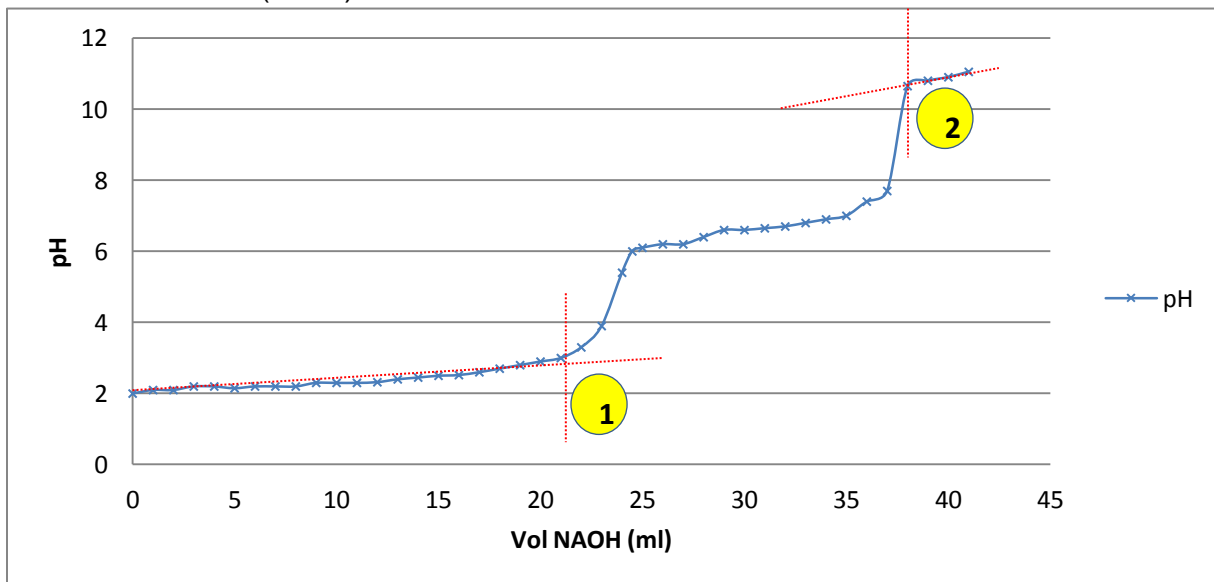


Gráfico 1. Puntos de inflexión en la titulación.

De acuerdo a la ecuación 2:

$$\%DD = \frac{16.1 (38 - 21)0.1}{0.3}$$

$$\%DD = 91.23$$

Un alto grado de desacetilación significa que existe una mayor cantidad de grupos amino libres en la molécula de quitosán, y por lo tanto más cargas positivas en solución. Se reportó que la actividad hipocolesterolémica del quitosán es mayor cuando el grado de desacetilación es alto (mayor a 90%), lo cual puede ser debido a las fuerzas electrostáticas entre el quitosán y las sustancias aniones, como ácidos grasos y biliares (Deuchi et al., 1995).

3.1.3 Determinación del peso molecular

Se tabularon los datos obtenidos por viscosimetría intrínseca (Tabla 5), de acuerdo a la secuencia de cálculo explicada. Se realizaron 3 repeticiones y se presenta el promedio de los tiempos medidos.

Tabla 5. Resultados de viscosimetría intrínseca para diluciones de quitosán.

MUESTRA	[Quitosán] g/dL	t prom (s)	η_{rel}	η_{esp}	η_{red}
A	0.125	169.73	1.972	0.972	7.777
B	0.083	114.63	1.332	0.332	3.999
C	0.0625	108.13	1.256	0.256	4.102
D	0.03125	90.33	1.050	0.050	1.586
E	0.0156	88.20	1.025	0.025	1.589
BUFFER	---	86.07	---	---	---

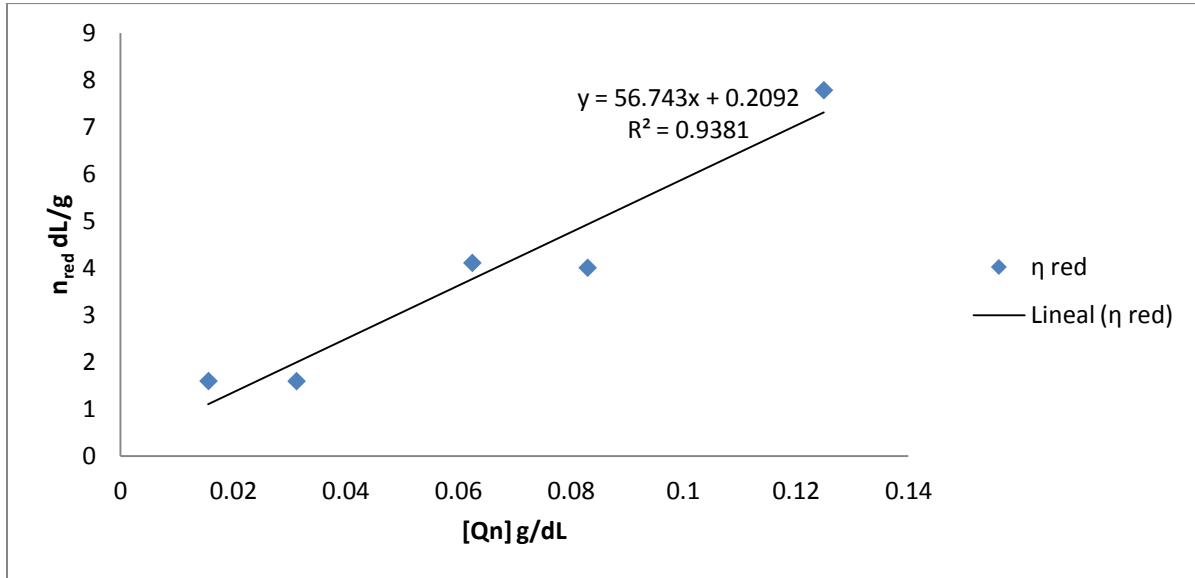


Gráfico 2. Determinación de viscosidad intrínseca mediante estimación lineal.

Mediante la estimación lineal se obtiene una ecuación de tipo $y = mx + b$

Donde la ordenada al origen (b) es el valor de viscosidad intrínseca η_{int}

$$b = \eta_{int} = 0.2092$$

$$k = 7.60 \text{ E-}04$$

$$a = 0.76$$

De acuerdo con la ecuación 7:

$$M = 10^{\frac{\log [0.2092] - \log [7.60 \text{ E-}04]}{0.76}}$$

$$M = 1622.96 \text{ Da} = 162.296 \text{ kDa}$$

Al obtener un resultado de 162.296 kDa, se considera que es un peso molecular bajo (Hernández, 2011), lo cual no resulta benéfico para el producto ya que, de acuerdo con diversos autores, el quitosán con alto peso molecular y alto grado de desacetilación tiende a reducir los niveles de triglicéridos y el colesterol plasmático de lipoproteína de baja densidad más efectivamente (Liu, Zhang y Xia, 2008).

3.2 Evaluación sensorial

Los resultados de la prueba de evaluación sensorial aplicada a los consumidores potenciales se muestran a continuación.

3.2.1 Prueba de aceptación

Tabla 6. Porcentaje de aceptación vs rechazo.

Muestra	# Aceptaciones	% Aceptación	# Rechazos	% Rechazo
321	16	76.19	5	23.81
836	17	80.95	4	19.05
955	18	85.71	3	14.29

Análisis estadístico:

Si el valor obtenido de tablas es menor que el de la prueba, se deduce que la muestra se acepta de manera significativa por dicha población. Se consultaron las “Tablas de estimación de significancia”

* $p = \frac{1}{2}$, dos colas, $\alpha = 0.05$, no. de ensayos = 21

De acuerdo a la tabla de estimación de significancia, el número mínimo de juicios correctos para establecer significancia para pruebas de preferencia por pares = 16

Tabla 7. Análisis estadístico para prueba de aceptación.

Muestra	# Aceptaciones	¿El valor de tablas es menor?	¿Se acepta significativamente?
321	16	NO	NO
836	17	SI	SI
955	18	SI	SI

Las tres muestras tuvieron un porcentaje de aceptación mayor al 50% (Tabla 6), sin embargo de acuerdo al análisis estadístico (Tabla 7) sólo las muestras 836 y 955 se aceptan significativamente. Esta última (955) fue la más aceptada por los jueces con

un 85.71%. La muestra con menor porcentaje de aceptación (76.19%) y mayor porcentaje de rechazo (23.81%) fue la 321.

3.2.2 Prueba de preferencia

Tabla 8. Resultados de prueba de preferencia.

Muestra	# Preferencias	% Preferencia
321	4	19.048
836	6	28.571
955	11	52.381

En la Tabla 8 se aprecia que a muestra que prefirió la mayoría de los jueces (52.38 %) fue la 955, seguida de la 836 (28.57 %) y por último la 321 (19.05%).

3.2.3 Prueba del nivel de agrado

Tabla 9. Resultados de la prueba de nivel de agrado.

Muestra	Me gusta mucho	Me gusta poco	Indiferente	Me disgusta un poco	Me disgusta mucho
321	4	7	3	7	0
836	9	8	3	1	0
955	12	6	1	2	0

Se aplicó un análisis de varianza, mostrado en la Tabla 10:

Tabla 10. Resultados ANOVA para prueba de nivel de agrado.

	F Tabla	F calculado	Diferencia significativa
MUESTRAS	2.23	5.10	SI
JUECES	1.84	0.51	NO

Se observa que el nivel de agrado es diferente significativamente entre las muestras (Tabla 10), y al tener la muestra 955 mayor cantidad de juicios positivos se deduce que es la que más agrada a los consumidores. En lo que se refiere a los jueces, se

concluye que hay congruencia en sus juicios debido a que no existe diferencia significativa entre sus opiniones. De acuerdo con los resultados de las tres pruebas realizadas, se eligió como formulación base la 955 al ser la más aceptada, la preferida entre las 3 muestras presentadas y la que encontraron con mejor sabor.

Con la formulación modificada cada galleta debe tener 0.25 g de quitosán, por lo tanto se le agregarán -como se especificó en el diagrama de elaboración- en un segundo mezclado, pesándolo previamente.

Las formulaciones sin quitosán (control) y con quitosán (modificada) se pueden apreciar en la Tabla 11.

Tabla 11. Comparación de las formulaciones control y modificada.

INGREDIENTE	FORMULACIÓN	
	<i>CONTROL</i>	<i>MODIFICADA</i>
Margarina (%)	19.63	19.39
Huevo (%)	12.18	12.03
Harina de trigo (%)	34.35	33.94
Chispas de chocolate (%)	9.82	9.70
NaCO₂ (%)	0.28	0.27
Royal (%)	0.43	0.43
Hojuelas de avena (%)	4.91	4.85
Quitosán (%)	0.00	1.21
Azúcar (%)	18.40	18.18

3.3 Análisis químico

Los resultados del análisis químico proximal se presentan en la tabla 12.

Tabla 12. Resultados de análisis químico proximal.

	% Promedio		% C.V.	
	Control	Quitosán	Control	Quitosán
a_w	0.119 ^a	0.120 ^a	0.794	1.717
Humedad	1.180 ^a	1.547 ^a	0.692	1.099
Nitrógeno total	1.508 ^a	1.590 ^a	1.099	0.624
Fibra cruda	4.520 ^a	6.020 ^b	6.291	3.995
Cenizas totales	1.674 ^a	1.624 ^a	2.485	2.18
Lípidos	21.898 ^a	22.756 ^b	0.4	1.29

De acuerdo con la tabla 12, al igual que la humedad, la actividad de agua (a_w) no muestra una diferencia significativa entre las dos formulaciones. Se considera que un alimento con a_w menor a 0.6, tiene “baja actividad de agua”, y por lo tanto los microorganismos no se multiplican en ese sistema; sin embargo pueden permanecer presentes durante largos periodos de tiempo. Este es el caso de ambas formulaciones de galletas.

Con respecto al nitrógeno total, en la fórmula modificada hay alrededor de 0.082 % más, y se debe a que la molécula de quitosán aporta nitrógeno tanto proteico como no proteico. En la literatura se reporta que el porcentaje de proteína en el quitosán es de 1.63% (Hernández et.al., 2009).

Se muestra un incremento de 4.52% a 6.02% en el porcentaje de fibra cruda de la muestra control con respecto a la modificada, con una diferencia significativa. Lo anterior se debe a la adición del quitosán, el cual es considerado como fibra dietética que no puede ser digerido por las enzimas del tracto digestivo de los humanos (Razdan y Pettersson, 1996).

En el caso del porcentaje de cenizas es menor en la formulación modificada, sin embargo la diferencia no es significativa, ya que la adición de quitosán no representa un cambio en la cantidad de minerales para el producto (Tabla 12). La cantidad de lípidos en las galletas se vió afectada por la adición de quitosán, con un incremento significativo, ya que debido a la estructura ramificada el polímero tiene propiedades secuestrantes. En la práctica se observó que al término del horneado, las galletas con quitosán tenían menos grasa en la charola que las galletas control, lo cual indica que las primeras secuestraron mayor cantidad de este componente.

El C.V fue menor a 10% en todas las determinaciones, por lo tanto los resultados son confiables.

3.4 Análisis de perfil de textura

Los gráficos 3 y 4 muestran las curvas obtenidas por medio del TPA en las muestras de galleta sin quitosán y con quitosán respectivamente.

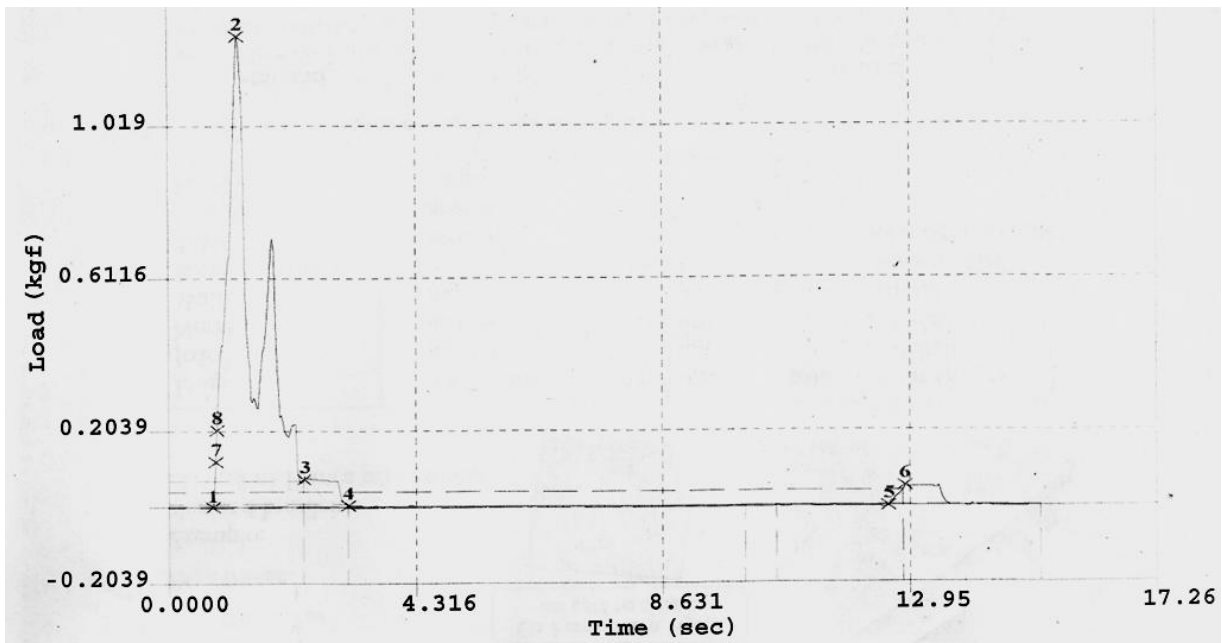


Gráfico 3. Curva fuerza-tiempo para galletas sin quitosán.

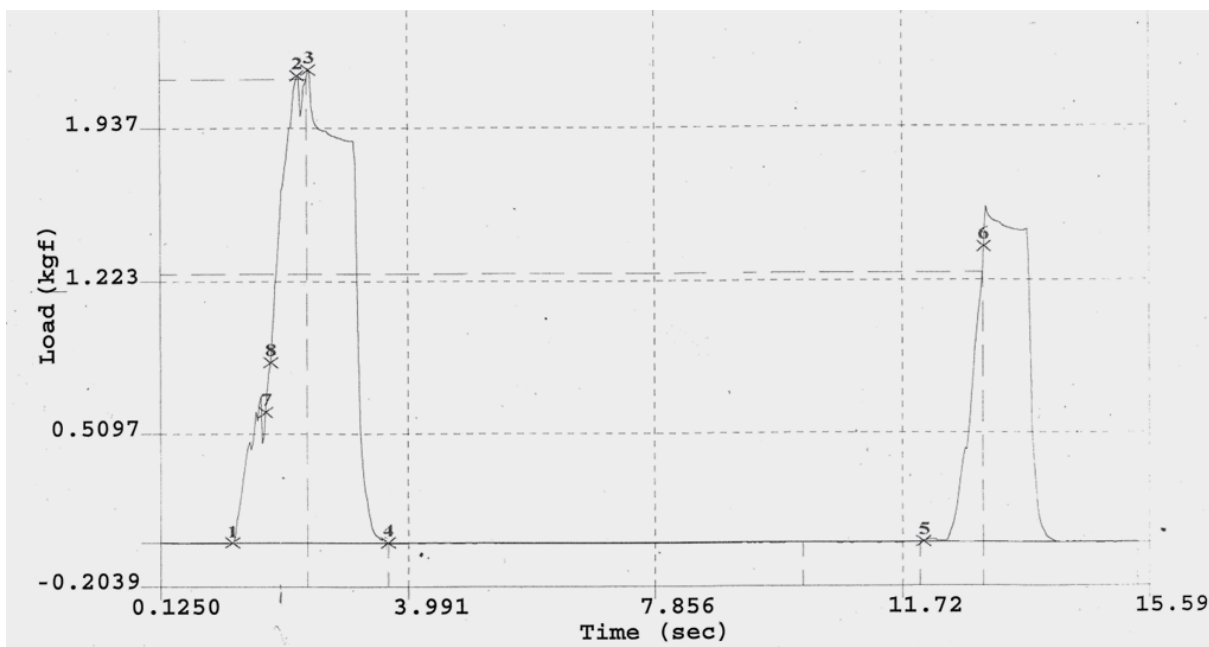


Gráfico 4. Curva fuerza-tiempo para galletas con quitosán.

En la Tabla 13 se muestran los valores de los parámetros texturales cada repetición, así como promedio y desviación estándar en ambas formulaciones.

Tabla 13. Parámetros texturales para galletas con y sin quitosán.

	Promedio		D.E	
	Control	Quitosán	Control	Quitosán
Dureza (kgf)	1.367	2.153	0.154	0.513
Fuerza de fractura (kgf)	1.367	2.153	0.154	0.513
Dist. Fractura (mm)	1.369	2.100	0.132	0.571
Cohesividad	0.0491	0.2065	0.0153	0.1857
Masticosidad (kgf)	0.0057	0.1229	0.0029	0.1349
Módulo (kgf/mm)	1.781	2.209	0.190	0.285

Las galletas con quitosán tienen una dureza mayor, dado que se necesita una mayor fuerza para comprimir la muestra. La galleta control se fractura antes de llegar al punto máximo de compresión (en este caso 3 mm) y por lo tanto el trabajo requerido para

fracturarla es menor. En cuanto a la fuerza de fractura, en la galleta modificada se observan pequeñas fracturas a lo largo de la primera compresión, pero sin llegar a fracturarse completamente –lo que significa que es un producto crujiente- a diferencia de la galleta control, en donde sucede a una menor distancia y tiempo (ver Gráficos 3 y 4). Se observa que el valor de dureza y fractura es el mismo debido a que al llegar a la máxima fuerza, se llega a la primera fractura significativa también. De los parámetros presentados en la Tabla 13 es importante mencionar que la distancia de fractura aumentó casi en un 100% y el trabajo de fractura aproximadamente en un 150% al adicionar el quitosán. En la segunda compresión, al haberse destruido la galleta control, el área comprimida es aproximadamente 10 veces menor que en la otra muestra. La cohesividad aumentó con la adición de quitosán, es decir que en la galleta modificada la fuerza que los enlaces internos hacen sobre el alimento es mayor. Los valores de módulo y masticosidad también se vieron incrementados en la galleta modificada, y como consecuencia se obtuvo una textura más firme y a la vez más difícil de romper.

3.5 Análisis microbiológico

Tabla 14. Resultados de análisis microbiológico.

ESPECIFICACIONES	LIMITE MAXIMO	CONTROL	QUITOSÁN
Mesofílicos aerobios	3000 UFC/g	<10	<10
Coliformes totales	<10 UFC/g	<10	<10
Mohos	20 UFC/g	<10	<10
Levaduras	20 UFC/g	<10	<10
E.Coli	NEGATIVO	<10	<10

La Tabla 14 muestra que todos los indicadores de higiene en cuanto a microbiología, están dentro de los parámetros establecidos por la NOM 247 para productos de panificación para ambas formulaciones. No se muestra diferencia entre la muestra control y modificada, por lo que en este producto no se puede apreciar el efecto antimicrobiano y antimicótico que proporciona el quitosán, sin embargo en este producto debido al tiempo y temperatura de horneado (200° C por 40 min), no es necesario un tratamiento posterior ya que este funciona como tratamiento térmico.

3.6 Medición de colesterol

Se presentan a continuación los valores obtenidos de los 3 perfiles lipídicos así como los valores de referencia (Tabla 15) para cada parámetro medido.

Tabla 15. Valores de referencia para niveles de colesterol.

LDL (mg/dL)	HDL (mg/dL)	TOTAL (mg/dL)
<100 Óptimo 130-159 Limítrofe 160-189 Alto ≤ 190 Muy alto	< 40 Bajo ≤ 60 Óptimo	< 200 Deseable 200 - 239 Limítrofe ≤ 240 Alto

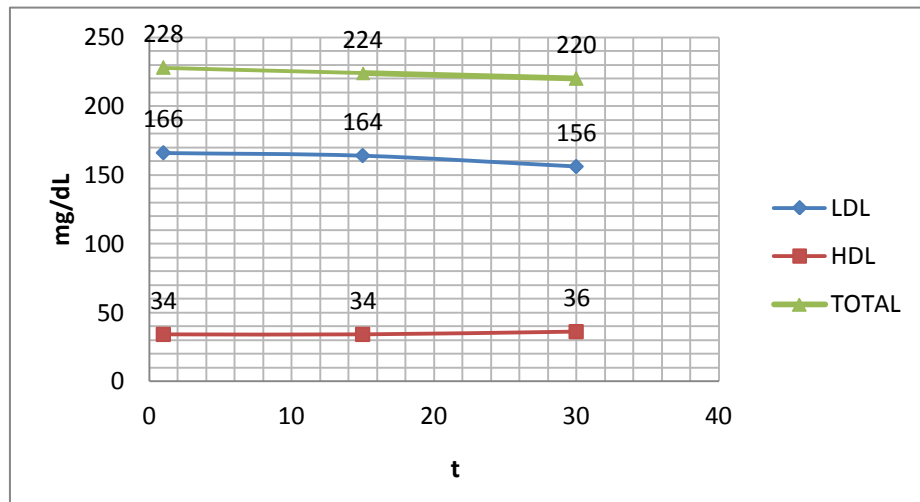


Gráfico 5. Resultados clínicos del perfil lipídico en los días 1, 15 y 30.

El paciente tuvo los siguientes niveles de colesterol en la sangre durante el experimento (Gráfico 5):

Colesterol LDL: –considerado malo para la salud por contribuir a las enfermedades cardiovasculares-. Se comenzó con un nivel considerado “Alto”, a los 15 días se reportó un decremento pero permaneciendo en el nivel alto. A los 30 días de ingerir el quitosán, se logró una reducción mayor hasta llegar al nivel limítrofe de este parámetro.

Para el colesterol HDL – considerado “colesterol bueno” porque se cree que los niveles elevados de esta sustancia reducen el riesgo cardiovascular -, se inició con un nivel bajo (34 mg/dL), a los 15 días la concentración fue la misma y a los 30 días subió a 36 mg/dL, siguiendo en el nivel bajo de este componente según los valores de referencia (Tabla 15).

En el caso del colesterol total, que es la suma del colesterol transportado en las partículas de LDL, HDL y otras lipoproteínas, se comenzó con un nivel limítrofe de 228 mg/dL, a los 15 días se registró un decremento de 4 unidades, y a los 30 días el decremento fue el mismo (4 unidades), llegando a una concentración de 220 mg/dL. Es decir, hubo un decremento del nivel de colesterol total pero permaneciendo en el nivel limítrofe.

CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

En cuanto al Análisis Químico Proximal -en la formulación adicionada con quitosán- se incrementó el porcentaje de grasa en un 0.86% debido a la estructura ramificada del quitosán que atrapa tanto agua como lípidos indistintamente gracias a sus grupos amino con carga positiva; fibra 1.5% debido a que el quitosán es considerado una fibra dietética y la adición de este polímero incrementa el porcentaje total de fibra, y nitrógeno total en un 0.082% pues el quitosán es una molécula nitrogenada, aunque el quitosán en sí no adiciona proteínas a la fórmula.

De acuerdo al análisis estadístico realizado, la diferencia sólo fue significativa en el contenido de fibra, proteína y grasa, en tanto que en lo referente a la humedad, actividad de agua y cenizas totales el cambio no fue significativo estadísticamente.

El coeficiente de variación indica que en todos los casos, los datos son confiables, ya que su valor es menor a 10%.

Se puede concluir que la adición de quitosán sí influye en la composición química final y la textura del producto, al aumentar el porcentaje de nitrógeno, fibra y lípidos. En el caso de los lípidos, una parte de ellos son absorbidos por el quitosán así que el consumidor los desechará junto con la molécula, aunque esto afecta la capacidad del quitosán de absorber lípidos en el cuerpo.

En cuanto a la textura, la galleta con quitosán presentó una mayor dureza, menor cohesividad, menor fuerza de fractura y menor valor de módulo; lo que nos indica que sensorialmente el polímero le confirió al producto una textura mucho menos frágil y más firme, al endurecerla y provocar que resista más a la ruptura, la fuerza de los enlaces internos fue mayor (mayor cohesividad). No obstante para un producto como las galletas, es más benéfico tener una baja cohesividad, alta dureza, y firme a la vez, para que al consumirla la sensación sea crujiente.

El efecto antimicrobiano del quitosán no se apreció en este experimento debido a que el horneado funcionó como tratamiento térmico, y las galletas después de llegar a temperatura ambiente se envasaron y se realizó el análisis microbiológico, no obstante

la baja actividad de agua se ve reflejada en los resultados obtenidos. En ambas formulaciones el producto cumple las especificaciones microbiológicas establecidas en la norma correspondiente.

Para el efecto hipocolesterolémico, se logró una reducción del colesterol LDL, que es el lípido más importante para predecir el riesgo cardiovascular, de un nivel alto a un nivel limítrofe, sin embargo en el colesterol HDL permaneció en un nivel bajo. El nivel colesterol total también bajó permaneciendo en el nivel limítrofe. Este efecto puede verse aumentado al utilizar quitosán de alto peso molecular, ya que con esta característica, según otros estudios, se logra una mayor reducción de colesterol LDL.

Este proyecto nos da una idea de cómo el producto puede reducir y equilibrar los niveles de colesterol sérico en persona con hipercolesterolemia, y puede conducir a futuras investigaciones tomando en cuenta a más pacientes.

RECOMENDACIONES

Utilizar un tamaño de partícula del quitosán menor, ya que los artículos sugieren que con menor tamaño de partícula existe mayor capacidad de reducción de colesterol pues tiene mayor superficie de contacto, lo cual puede facilitar la absorción de grasa.

Utilizar una dosis mayor de quitosán, para acelerar y aumentar el efecto hipocolesterolémico. Diversos artículos sugieren utilizar una cantidad de 2.4 - 3.5 g/día (Gallaher et. al, 2002), y con mayor peso molecular para aumentar el efecto hipocolesterolémico, aproximadamente 750 kDa.

Utilizar un sustituto de grasa para reducir el contenido de colesterol en el producto y por lo tanto en la cantidad consumida, ya que se utilizó margarina y ésta contiene un alto porcentaje de grasas saturadas. Debido a que la molécula de quitosán absorbe grasa, la margarina puede ser absorbida también, sin embargo se desecha igualmente por que el quitosán es una molécula no digerible.

Agregar un aditivo que mejore la textura del producto con quitosán para obtener una mejor calidad sensorial, que sea más crujiente y menos dura.

Realizar un estudio de vida de anaquel para apreciar el efecto antimicrobiano del quitosán en la galleta, ya que como se explicó, la evaluación fue hecha después de un lapso corto de tiempo tras obtener el producto.

Determinar la cantidad de carbohidratos totales, aunque en este caso no fue factible realizarlo por diferencia, debido a que la cantidad de proteína para galletas modificadas no fue la real por que se detectó el nitrógeno del quitosán.

Realizar el estudio con un mayor número de personas para obtener resultados más representativos y realizar los perfiles lipídicos en tres laboratorios diferentes para determinar si hay diferencia entre las mediciones.

Determinar el efecto por una parte de la avena y por otra parte del quitosán para compararlos.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC (2000). *Methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, D.C.

Baxter, S.R. (2004). Molecular Weight and Degree of Acetylation of Ultrasonicated Chitosan. *The University of Tennessee*. E.U.

Bourne, M. (1982). "Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement". Academic Press. E.U.

Brown, L., Rosner, B., Willett, W., Sacks, F.M. (1999). Cholesterol lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 30–42.

Colesterol (2012). Consultado el 21 de noviembre 2012. Texas Heart Institute. Luke's Episcopal Hospital. Centro de Información Cardiovascular: (http://texasheart.org/HIC/Topics_Esp/HSmart/cholspan.cfm)

Demonte, Philippe. (1995). Evaluación sensorial de la textura y búsqueda de correlaciones con medidas instrumentales. Memorias de seminario Textura y Reología de alimentos. Colombia.

Dendy, D. A., Dobraszczyk, B.J. (2001). "Cereales y productos derivados: Química y tecnología". Acribia. España

Deuchi, K., Kanauchi, O., Imasato, Y., & Kobayashi, E. (1995). Effect of the viscosity or deacetylation degree of chitosan on fecal fat excreted from rats fed on a high-fat diet. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 59(5), 781–785.

Friedman, H., Whitney, J., Szczesniak, A. (1963). The Texturometer- a new instrument for objective texture measurement. *Journal of Food Science*. 28, 390-396.

Furda, I. (1983). Aminopolysaccharides—their potential as dietary fiber. In: Furda I, editor. Unconventional sources of dietary fiber. ACS Symposium Series 214. Washington (DC): American Chemical Society, 105- 122.

Gaines C.S., (1994). "The Science of Cookie and Cracker Production", Faridi H, New York.

Gallaher, C.M., Munion, J., Hesslink, Jr. R., Wise, J., Gallaher, D.D. (2000). Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. *Journal of Nutrition*, 130, 2753–2759.

Gallaher, D., Gallaher C., Mahrt, G., Carr, T., Hollingshead, C., Hesslink, R., Wise, J. (2002). A Glucomannan and Chitosan Fiber Supplement Decreases Plasma Cholesterol and Increases Cholesterol Excretion in Overweight Normocholesterolemic Humans. *Journal of the American College of Nutrition*, 21 (5), 428–433.

Gil H. A. (2010). "Tratado de nutrición Tomo II, Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos". Panamericana. Madrid.

Gómez, D. R. (1992). "Actividad de agua de los Alimentos: Métodos de determinación". *Alimentaria*, Enero- Febrero, 92,77.

Hart, F.L., Fischer, H.J. (1971). "Análisis Moderno de los Alimentos". Acribia. España.

Hayashi, K., Ito, M. (2002). Antidiabetic Action of Low Molecular Weight Chitosan in Genetically Obese Diabetic KK-Ay Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25 (2), 188—192.

Hennen, J. W., (1996). "Chitosan". Woodland Publishing Inc. E.U.

Hernández, A. E. (2005). Evaluación Sensorial. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Argentina.

Hernández, H., Águila, E., Flores, o., Viveros, E., Ramos, E. (2009). Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Superficies y vacío*, 22(3), 57-60.

Hernández, O., González, A., Gutiérrez, M., Muñoz, L., Quintero, R., (2011). Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes

pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos. *Revista mexicana de Ingeniería Química (serie online)*. 10 (3), Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-27382011000300011&script=sci_arttext.

Kanauchi, O., Deuchi, K., Imasato, Y., Shizukuishi, M., & Kobayashi, E. (1995). Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect of ascorbate. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 59(5), 786–790.

Knorr, D. (1984). Use of chitinous polymers in food—A challenge for food research and development. *Food Technology*, 38, 85–97.

Koide, S.S. (1998). Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. *Nutrition Research*, 18, 1091- 1101.

Kumar, M. N. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers*, Vol. 46, pp. 1–27.

Legget, J.M., Thomas, H. (1995). Oat evolution and cytogenetics. Chapman & Hall. *The oat crope-production and utilization* (pp. 120-149). London.

Liao, F., Shieh, M., Chang, N., Chien, Y. (2007). Chitosan supplementation lowers serum lipids and maintains normal calcium, magnesium, and iron status in hyperlipidemic patients. *Nutrition Research*, 27,146– 15.

Liu, J., Zhang, J., Xia, W. (2008). Hypocholesterolaemic effects of different chitosan samples *in vitro* and *in vivo*. *Food Chemistry*, 107 (1), 419-425.

Maezaki, Y., Tsuji, K., Nakagawa, Y., Kawai, Y., Akimoto, M. (1993). Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 57, 1439–1444.

Manson, J. E., Tosteson, H., Ridker, P.M., Satterfield, S., Hebert, P., O'Connor, G.T., Buring, J.E., Hennekens. (1992). “The primary prevention of myocardial infarction.” *The New England Journal of Medicine*, 326, 1406–1416.

Mohammad, R. K. (2007). Calculation of Mark-Houwink-Sakurada (MHS) equation viscosimetric constants for chitosan in any solvent-temperature system using

experimental reported viscosimetric constants data. *Carbohydrate Polymers*, 68, 477-488.

Nauss, J.L., Thompson, J.L., and Nagyvary, J. (1983). The binding of micellar lipids to Chitosan. *Lipids*, 18(10), 714-19.

NMX-F-090-S-1978. Determinación de fibra cruda en alimentos. Normas mexicanas. Dirección general de normas.

NMX-F-428-1982. Alimentos. Determinación de humedad. Método rápido de la termobalanza. Foods. Normas mexicanas. Dirección general de normas.

NMX-F-516-1992. ALIMENTOS. PRODUCTOS DE PANIFICACIÓN. CLASIFICACIÓN Y DEFINICIONES. FOODS. BAKERY PRODUCTS. DEFINITIONS AND CLASIFICATION. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS

Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba.

Othman, R.A., Moghadasian, M.H, Jones, J.H., (2011). "Cholesterol-lowering effects of oat β -glucan" *Nutrition Reviews*, 69(6), 299–309.

Pedrero, D., Pangborn R.M., (1989) "Evaluación sensorial de los alimentos: Métodos analíticos". Alhambra Mexicana. México.

Querishi, A., Burger, W., Peterson, D.M. and Elson, C.E. (1986). *Biochemical Journal*, 261, 10544-10550.

Razdan, A., Pettersson, D. (1996). "Hypolipidaemic, gastrointestinal and related responses of broiler chickens to chitosans of different viscosity. *British Journal of Nutrition*, 76(3), 387–397."

Ripsin, C.M., Keenan, J.M., (1992). "The effects of dietary oat products on blood cholesterol". *Trends in Food Science & Technology*, 3, 137-141.

Rodríguez, G.E (2006). Mitos y verdades del colesterol. *Acta universitaria*, 16, 8-11.

Rosenthal, A. J. (2001). "Textura de los alimentos: medida y percepción". Acribia. España.

Sadiq Butt, M., Tahir-Nadeem, M., Khan, M.K., Shabir, R., Butt, M.S. (2008). Oat: unique among the cereals. *European Journal of Nutrition*, 47, 68–79.

Scott-Blair, G. (1958). Rheology in food research. *Advances in food research*, 8, 1-56.

Secretaría de Salud (2007). Programa Nacional de Salud 2007-2012. Por un México sano: construyendo alianzas para una mejor salud. México.

Szczesniak, A., Brandt, M.M., Friedman, H. (1963). Development of standard rating scales for mechanical parameters of texture and correlation between the objective and the sensory methods of texture evaluation. *Journal of Food Science*, 28, 397-403.

Topping, D.L., Illman, R.I., Dowling, K. and Trimble, R.P. (1990). Dietary Fibre: Chemical and Biological Aspects (Southgate, DAT., Waldron, K., Johnson, I.T. and Fenwick, G.R., eds), *Royal Society of Chemistry*, 300-304.

Tsai, G.J., Su, W.H., Chen, H.C., Pan, C.L. (2002). Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Science*, 68, 170–177.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. "Proceso para la extracción de quitina a partir de crustáceos y su conversión a quitosán". Miranda, C. S., Lara, S. México. V. Patente 293022. No. Expediente: 005444. No de folio: 11759305, 05 de diciembre 2011.

Vahouny, G. V., Satchithanandam, S., Cassidy, M. M., Lightfoot, F. B., Furda, I. (1983). Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rats. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 38, 278–284.

Wood, P.J. (1994) Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. *Journal of Nutrition*, 72, 731–743.

Young, H., Fellows, P., Mitchell, J. (1985). Development of a high energy biscuit for use as a food supplement in disaster relief. *Journal of Food Technology*, 20 (6),20689–20695.

Yuan, Y., Chesnutt, B., Haggard, W., Bumgardner, J. (2011). “Deacetylation of Chitosan: Material Characterization and in vitro Evaluation via Albumin Adsorption and Pre-Osteoblastic Cell Cultures”. *Materials*, 4, 1399-1416.

Zikakis, J.P. (1984). Chitin, Chitosan and Related Enzymes. Academic Press, Inc. E.U.

Desarrollo de un producto funcional de panificación con efecto hipocolesterémico
adicionado con avena y quitosán

ANEXOS

ANÁLISIS DE VARIANZA

Se aplicó a los resultados del objetivo particular 2, para determinar si existe diferencia significativa entre las medias. Utilizando una distribución de Student, con 5 grados de libertad y $\alpha=0.05$, el valor fue de $t_t= 2.776$.

t_c =Valor calculado

t_t = Valor de tablas

El método dice que si $t_c > t_t$, entonces existe una diferencia significativa.

	AW	HUM	FIBRA	CENIZAS	PROTEINA	GRASA
tc	0.626	1.291	5.690	1.291	5.977	3.958
tt	2.776					
¿tc es mayor?	no	no	si	no	si	si

De acuerdo a lo anterior, solo existe diferencia significativa en el contenido de fibra, proteína, grasa y carbohidratos.

CUESTIONARIO I

Buenos días/tardes, estamos realizando una encuesta para evaluar el lanzamiento de una nueva marca de galletas altas en fibra para reducir colesterol. Le agradeceremos brindarnos un minuto de su tiempo y responder las siguientes preguntas:

FECHA: _____ EDAD: _____ SEXO: F M
OCUPACIÓN: _____

1.- ¿Tiene problemas de colesterol alto?

- a) Si b) No c) Tal vez

1. ¿Consumes galletas?

- a) Si b) No

2. ¿Con qué frecuencia?

- a) Diario b) De 2 a 4 veces por semana c) Una vez por semana
d) Cada 15 días e) Cada mes f) Otro: _____

2. ¿Qué marcas de galletas prefiere?

- a) Chips Ahoy!
b) Quaker
c) Príncipe
d) Otra: _____

3. ¿Al momento de comprar una galleta, qué es lo primero que toma en cuenta?

- a) La marca b) La calidad c) Beneficios a la salud d) El sabor
e) El precio f) El empaque g) Las promociones h) Otro: _____

4. ¿Qué sabor de galletas prefiere?

- a) Manzana-canela b) Con chispas de chocolate c) Fresa
d) Vainilla e) Chocolate f) Mantequilla g) Avena

10. ¿Estaría dispuesto(a) a comprar galletas que le ayuden a mejorar su salud reduciendo su nivel de colesterol?

- a) Sí b) No

11.- ¿Cuánto estaría dispuesto a pagar por un paquete de galletas (4) que le ayuden a reducir su nivel de colesterol?

- a) \$10 a \$15 b) \$16 a \$20 c) \$21 a \$30 d) Más

CUESTIONARIO II

NOMBRE: _____

FECHA: _____

INSTRUCCIONES: Pruebe las muestras de izquierda a derecha. Indique con una "x" su respuesta al probar cada muestra presentada.

¿Le gusta esta muestra de galleta?

	SÍ	NO
321	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
836	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
955	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

De las muestras anteriores, ¿cuál prefiere? Marque con una "x"

321	<input type="checkbox"/>
836	<input type="checkbox"/>
955	<input type="checkbox"/>

Indique la respuesta para cada muestra presentada

321	836	955
___ Me gusta mucho	___ Me gusta mucho	___ Me gusta mucho
___ Me gusta poco	___ Me gusta poco	___ Me gusta poco
___ Me es indiferente	___ Me es indiferente	___ Me es indiferente
___ Me disgusta un poco	___ Me disgusta un poco	___ Me disgusta un poco
___ Me disgusta mucho	___ Me disgusta mucho	___ Me disgusta mucho

OBSERVACIONES: _____

¡¡¡GRACIAS POR TU PARTICIPACIÓN!!!