

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Biotecnología

DESARROLLO DE MARGARINAS DE ALTA PLASTICIDAD A PARTIR DE ACEITE DE ORUJO DE OLIVA PARA SU APLICACIÓN EN MASAS DE HOJALDRE.



Autora: María Fernández de Araoz García-Miñaur

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quería agradecer a toda mi familia que me han enseñado dándome unos valores y educación. Gracias por apoyarme y animarme siempre a seguir a delante con todo y aconsejarme en la vida.

Asimismo, agradecer a mi tutora externa María Dolores Álvarez, con quien he tenido el placer de trabajar, por acogerme y dejarme desarrollar esta investigación, por ofrecerme su apoyo y dedicación que han sido de gran ayuda para lograr este trabajo, además de la documentación e información aportada, que me han servido para adquirir nuevos conocimientos y habilidades. También por su ayuda en la investigación, con la que he mejorado mi manejo en el laboratorio y la capacidad de razonar. También gracias a mi tutora interna Rafaela Paz García por sus consejos y ayuda para guiarme a hacer posible la realización de este trabajo con éxito.

Muchas gracias a todos.

Desarrollo de margarinas de alta plasticidad a partir de aceite de orujo de oliva para su aplicación en masas de hojaldre.

El presente Trabajo Fin de Grado se ha realizado en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN), un centro dedicado a la Investigación y con titularidad propia de la Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). El ICTAN se dedica a realizar investigaciones científicas y tecnológicas de manera innovadora y de calidad, a fin de poder producir, envasar y conservar alimentos seguros y saludables, y estableciendo evidencias científicas sobre los efectos fisiológicos de los alimentos, sus constituyentes y subproductos para la salud y prevención de enfermedades. Además, se ocupa de establecer colaboraciones con grupos de investigación nacionales e internacionales, formar estudiantes y profesionales para la transferencia y divulgación de los conocimientos adquiridos.

Este trabajo se ha desarrollado de manera experimental en el grupo de investigación de reología y textura de alimentos (REOTEXTAL), liderado por María Dolores Álvarez Torres, y cuyos objetivos son la caracterización reológica, estructural y sensorial de los alimentos e ingredientes, la obtención de productos con una textura y calidad óptima, estable y estandarizada, y la optimización de la textura de alimentos mediante tecnologías de conservación en frío y emergentes.



INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y NUTRICIÓN

Tutoras Externas: María Dolores Álvarez Torres y Susana Cofrades Barbero.

Tutora Interna: Rafaela Paz García Álvarez.

INDICE DE CONTENIDO

GLOSARIO DE ACRÓNIMOS.....	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 Antecedentes y situación actual.....	6
1.2 Margarinas, sus características en la elaboración de masas de hojaldre y el uso de aceite de orujo en su formulación.....	7
1.2.1 Margarinas	7
1.2.2 Los oleogeles y la organogelificación	9
1.2.3 Margarinas para la elaboración de masas de hojaldre.....	9
1.2.4 Empleo de aceite de orujo de oliva (AOO)	11
1.3 Medida de propiedades reológicas y texturales para la caracterización y calidad de los alimentos.....	11
1.3.1 Medida instrumental de las propiedades reológicas	12
1.3.2 Medida instrumental de la textura	14
OBJETIVOS.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1 Materias primas	17
3.2 Formulación de las margarinas: factores de composición y procesado.....	19
3.3 Elaboración de masas de hojaldre	21
3.4 Medida de propiedades reológicas de las margarinas formuladas	23
3.5 Medida instrumental de la textura de las margarinas formuladas	24
3.6 Análisis de la microestructura mediante microscopía de luz polarizada.....	24
3.7 Medida de propiedades térmicas de margarinas seleccionadas.....	25

3.8 Determinación del perfil lipídico de margarinas seleccionadas	25
3.9 Medida de la textura de los hojaldres finales horneados	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1 Propiedades reológicas de las margarinas formuladas	27
4.1.1 Ensayos en barrido de tiempo (<i>Time sweeps</i>).....	27
4.1.2 Ensayos en barrido de tensión o esfuerzo (<i>Stress sweeps</i>).	29
4.1.3 Ensayos de barrido de frecuencia (<i>Frequency sweeps</i>).....	31
4.2 Parámetros texturales de las margarinas.....	36
4.2.1 Ensayos de penetración para la medida instrumental de la textura de las margarinas	36
4.3 Correlaciones entre propiedades reológicas y de textura de las margarinas	39
4.4 Estructura microscópica de las margarinas formuladas	41
4.5 Determinación del comportamiento térmico de las margarinas mediante DSC...	41
4.6 Perfil lipídico de las margarinas	44
4.7 Propiedades y parámetros texturales de los hojaldres finales horneados	45
4.7.1 Ensayos de “análisis de perfil de textura” (TPA) y corte con cuchilla para la medida instrumental de la textura de los hojaldres.....	46
CONCLUSIONES.....	49
BIBLIOGRAFÍA	51
ANEXOS	56
ANEXO I: Figuras de Materiales y Métodos	56
ANEXO II: Tablas de Materiales y Métodos	63
ANEXO III: Figuras de Resultados y Discusión.....	66
ANEXO IV: Tablas sin estadística de Resultados y Discusión.....	72
ANEXO V: Adaptación del TFG a la sostenibilidad	76
ANEXO VI: Asistencia a cursos durante el periodo de estancia en el ICTAN-CSIC	77

GLOSARIO DE ACRÓNIMOS

δ : Ángulo de desfase

σ_{\max} : Esfuerzo Oscilatorio Crítico.

γ_{\max} : Deformación Oscilatoria Crítica.

η^* : Viscosidad Compleja.

A: Resistencia de la Red Tridimensional

ABC: Área Bajo la Curva.

AG: Ácidos Grasos.

AGI: Ácidos Grasos Insaturados.

AGM: Ácidos Grasos Monoinsaturados.

AGP: Ácidos Grasos Poliinsaturados.

AGS: Ácidos Grasos Saturados.

AOO: Aceite de Orujo de Oliva

Col.: Colaboradores.

Dra.: Doctora.

DG: Diglicéridos

DSC: Calorimetría Diferencial de Barrido.

FA: Fase Acuosa

FO: Fase Oleosa

GS: Grasa saturada

G' : Módulo Elástico o de Almacenamiento.

G'' : Módulo Viscoso o de Pérdida.

G^* : Módulo Complejo.

G^*_{\max} : Módulo Complejo Crítico.

LVR: Intervalo de Viscoelasticidad Lineal.

MG: Monoglicéridos

OG: Oleogel.

PC: Penetración cónica

PP: Penetración plana

SAOS: Barridos Oscilatorios de Pequeña Amplitud.

T^a : Temperatura

TAG: Transglutaminasa

TG: Triglicéridos.

TFG: Trabajo Fin de Grado.

$\tan \delta$: Tangente o Factor de Pérdida.

$\tan \delta_{\max}$: Tangente o Factor de Pérdida Crítica.

TPA: Análisis de Perfil de Textura Instrumental.

W/O: Emulsión de Agua en Aceite

z: Extensión o Conectividad de la Red Tridimensional.

Desarrollo de margarinas de alta plasticidad a partir de aceite de orujo de oliva para su aplicación en masas de hojaldre.

RESUMEN

Debido a su aroma y sabor característicos, y a su plasticidad elevada, las masas de hojaldre elaboradas con mantequilla tienen una aceptación mayor que las elaboradas con margarinas, pero el consumo elevado de ácidos grasos saturados está asociado con enfermedades cardiovasculares. Este Trabajo Fin de Grado estudia el potencial del aceite de orujo de oliva como materia prima en la elaboración de margarinas para masas de hojaldre más saludables. Para ello, se prepararon margarinas con diferente composición, modificándose también la temperatura y tiempo de emulsificación y la velocidad de cristalización. Asimismo, con algunas margarinas se elaboraron masas de hojaldre, optimizándose las condiciones del horneado. En las margarinas formuladas se midieron propiedades reológicas y texturales y, adicionalmente, en margarinas seleccionadas se analizó el perfil térmico y lipídico, y propiedades estructurales; en los hojaldres horneados se determinaron propiedades texturales. Las margarinas formuladas presentaron valores del módulo elástico (G') mayores, inferiores, y muy próximos a los de un preparado graso control, siendo factible reproducir la elasticidad del mismo. Sin embargo, las margarinas formuladas tuvieron valores del módulo viscoso (G'') y del factor de pérdida ($\tan \delta$) siempre inferiores a los del control, respectivamente, resultando muy complejo imitar su viscoelasticidad. G'' y $\tan \delta$ parecen ser propiedades reológicas determinantes de la plasticidad de la margarina, y algunos parámetros texturales correlacionaron con ambas propiedades. Las temperaturas de cristalización y fusión de algunas margarinas seleccionadas fueron parecidas a las del preparado graso, reflejando la existencia de una estructura polimórfica de cristales de grasa bastante similar, aunque una cristalización lenta es más adecuada. El perfil lipídico de margarinas formuladas y seleccionadas, con un 50% de grasa no saturada, es mucho más saludable que el de una mantequilla comercial (20%), y con estas margarinas se elaboraron hojaldres con dureza y elasticidad similares a las de dos hojaldres control.

Palabras clave: aceite de orujo de oliva, margarina, masas de hojaldre, reología, textura, perfil lipídico, cristales de grasa.

Development of high plasticity margarines from olive pomace oil for application in puff pastry doughs.

ABSTRACT

Due to their characteristic aroma and flavor, and their high plasticity, puff pastry doughs made with butter are more widely accepted than those made with margarine, but high consumption of saturated fatty acids is associated with cardiovascular disease. This Final Degree Project studies the potential of olive pomace oil as a raw material in the preparation of margarines for a healthier puff pastry dough. For this purpose, margarines with different composition were prepared, modifying the temperature and time of emulsification and the speed of crystallization. Likewise, some margarines were used to make puff pastry doughs, optimizing the baking conditions. Rheological and textural properties were measured in the formulated margarines and, additionally, the thermal and lipid profile and structural properties were analyzed in selected margarines; textural properties were determined in the baked puff pastries. The formulated margarines presented higher values of elastic modulus (G'), lower and very close to those of a control fatty preparation, being feasible to reproduce its elasticity. However, the formulated margarines had values of the viscous modulus (G'') and loss factor ($\tan \delta$) always lower than those of the control, respectively resulting very complex to imitate its viscoelasticity. G'' and $\tan \delta$ seem to be rheological properties determining the plasticity of the margarine, and some textural parameters were correlated with both properties. The crystallization and melting temperatures of some selected margarines were similar to those of the fat preparation, which would reflect the existence of a quite similar polymorphic fat crystal structure, although a slow crystallization seems to be more suitable. The lipid profile of formulated and selected margarines, with 50% unsaturated fat, is much healthier than that of a commercial butter (20%), and with these margarines, puff pastries were made with similar hardness and elasticity to those of two control puff pastry.

Keywords: olive pomace oil, margarine, puff pastry, texture, lipid profile, fat crystals.

INTRODUCCIÓN

El consumo excesivo de grasas saturadas (GS) en la alimentación se asocia a graves problemas de salud como enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo II, síndrome metabólico y obesidad (1,2). No obstante, estas grasas confieren varias características tecnológicas de alta calidad a diferentes alimentos: textura, aroma, sabor, palatabilidad y estabilidad (3,4). Esta contribución positiva hace que la reducción o sustitución de algunas GS sea un proceso muy complejo para desarrollar nuevos alimentos con mejor perfil lipídico. Gracias a los avances científicos y a la concienciación de la población, se intenta buscar alternativas saludables a las GS dándole importancia a la cantidad y calidad de las grasas que se consumen (5,6).

1.1 Antecedentes y situación actual

Los lípidos son moléculas orgánicas no solubles en agua y ricas en energía debido a su número de enlaces carbono-hidrógeno. Aunque son esenciales para almacenar energía, niveles altos en el torrente sanguíneo se relacionan con aterosclerosis, riesgo de enfermedad cardíaca y accidente cerebrovascular (7,8). Los triglicéridos (TG) son la forma más común de lípido que encontramos en el cuerpo y en los alimentos. Están compuestos de tres moléculas de ácidos grasos (AG) y una molécula de glicerol. Los TG se conocen como grasas si solidifican a 20°C, mientras que si son líquidos a esta temperatura (T^a) se conocen como aceites. Podemos encontrar TG en aceites de cocina, mantequilla y grasa animal (7).

La grasa puede ser saturada o insaturada. Aunque la mayoría de las GS son de origen animal, también se ha visto la presencia de ácidos grasos saturados (AGS) en algunos aceites de origen vegetal, como son el aceite de palma, aceite de colza o aceite de coco. Por ello, el propósito científico actual se dirige a reemplazar AGS por ácidos grasos insaturados (AGI), mono- (AGM) y polinsaturados (AGP), utilizando otros aceites vegetales con un perfil lipídico más saludable (oliva, orujo de oliva, girasol), o mediante distintos métodos y metodologías de incorporación (8).

Los aceites más saludables generalmente son líquidos a T^a ambiente, por lo que sus propiedades difieren de las que presenta la GS sólida que se desea reemplazar. Ello implica que es necesario realizar distintas modificaciones que permitan su uso en la

reformulación de alimentos, de manera que impartan la calidad tecnológica propia de las GS. Para ello, se han planteado propuestas como la modificación estructural del material lipídico líquido por hidrogenación parcial, interesterificación o fraccionamiento. Aunque estos métodos se han empleado en la industria alimentaria, su uso presenta limitaciones debido a la generación de AG *trans*, que tienen consecuencias negativas en la salud, o bien por el alto coste de implantar de la tecnología, como la interesterificación. Como consecuencia, resulta de especial interés tanto para la industria como para el consumidor buscar alternativas que sean más saludables, eficientes y que permitan obtener resultados similares a los que proporcionan las GS (4).

1.2 Margarinas, sus características en la elaboración de masas de hojaldre y el uso de aceite de orujo en su formulación

1.2.1 Margarinas

La margarina es un preparado graso inventado en 1869 por Henri Mege-Mouries, quién obtuvo una grasa plástica a partir del sebo de vacuno que era capaz de reemplazar a la mantequilla, ya que entonces era cara y escasa (9). Se trata de una emulsión de agua en aceite (W/O), cuya estabilidad se consigue elevando la viscosidad de la fase continua mediante la cristalización parcial de la grasa por empleo de emulsionantes como la lecitina, monoglicéridos (MG) y diglicéridos (DG) (9).

Hoy en día existen diferentes tipos de margarinas clasificadas según su aplicación. En primero lugar, las margarinas de cocción, vegetales o mixtas con aceites animales, que soportan las cocciones y se emplean para asados, braseados y salteados. A continuación, tenemos las margarinas de uso profesional que se diferencian de las anteriores por su consistencia y punto de fusión, y se emplean en masas de hojaldre y pastas. Finalmente, las margarinas “de untar” o de mesa son vegetales, y son las más similares a una mantequilla, se emplean sobre todo en la repostería y en otras aplicaciones culinarias (10).

Estos tres tipos de margarinas contienen diferentes cantidades de grasa de origen animal o vegetal, agua, sal, emulsionantes, vitaminas y distintos aditivos, y se presentan en forma sólida o semisólida a T^a ambiente dependiendo de su formulación y proceso de elaboración. Algunas características y propiedades más importantes que hay que considerar en las margarinas son la composición nutricional, la calidad sensorial, la

untabilidad, la plasticidad y su punto de fusión (10). Entre ella destaca la plasticidad, una propiedad que permite que algunos materiales puedan comportarse como sólidos, resistiendo a la acción de pequeñas fuerzas, además de ser dúctiles y de poder fluir como un líquido cuando se aplica una fuerza de deformación superior a un valor mínimo (9).

En repostería, las grasas tienen la apariencia de sólidos blandos más o menos homogéneos, y observadas en el microscopio aparecen como una masa de pequeños cristales, humedecidos por una gran cantidad de aceite líquido. Tienen la estructura característica de un sólido plástico, pero su viscosidad aumenta al aplicar sobre ellas un trabajo mecánico, haciéndolas temporalmente más suaves.

La cristalización es el proceso de enfriamiento de mezclas de lípidos que conlleva la formación de los cristales líquidos que conforman una grasa sólida. El tipo de cristal formado dependerá de la conformación molecular de los AG, la cantidad de sólidos grasos y las condiciones de enfriamiento empleadas (9). Las formas cristalinas primarias o polimorfos de los TG son α , β' y β , aunque se producen transformaciones entre estos cristales líquidos que se dirigen hacia la forma polimórfica más estable, es decir, desde α hasta β' . En general, el polimorfismo de la grasa depende tanto de la T^a de cristalización como de la velocidad de enfriamiento (11).

Por ejemplo, mientras que se detectaron cristales α al cristalizar aceite de palma a 18°C , cristales β' se formaron directamente a partir de la grasa fundida a 22°C (12,13). En lo que respecta a la velocidad de enfriamiento, los cristales α dominaron durante el primer período de un enfriamiento rápido de grasa de leche anhidra, y la transición polimórfica $\alpha \rightarrow \beta'$ se produjo principalmente en etapas isotérmicas durante un tiempo más largo (14), aunque los cristales β' también se pueden formar directamente a partir de la grasa fundida de grasa de leche anhidra, si se utiliza una velocidad de enfriamiento muy baja ($<1^\circ\text{C}$).

El tipo de cristales presentes en una margarina puede determinarse por difracción de rayos X y por la transición de calor determinada mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). En este último caso, se determina la conducta de las margarinas frente a la fusión, la cristalización o ambas, representando la energía o flujo de calor en función de la T^a . Por ejemplo, las margarinas con estructuras cristalinas β no poseen propiedades plásticas debido a que esta red cristalina es muy resistente, y al ser expuestas a una fuerza de deformación se rompen. Por el contrario, las margarinas conformadas por estructuras

cristalinas β' , además de tener una apariencia plástica, no se rompen cuando se someten a una deformación, y tienen la propiedad de reestablecer su red cristalina (9).

1.2.2 Los oleogeles y la organogelificación

La organogelificación es una técnica de estructuración que permite emplear oleogeles (OG) como sustitutos de grasas sólidas reemplazando a los shortenings convencionales y preparados grasos. El uso de esta técnica ha ido ganando popularidad en industria farmacéutica y cosmética, siendo recientemente aplicada a helados, masas para panadería, salchichas y galletas, a fin de mejorar el perfil lipídico de estos alimentos.

Los OG, también conocidos como organogeles, se definen como sistemas semisólidos generados por la transformación de un aceite líquido en un gel o red reticular, termorreversible y tridimensional, y que ha sido autoensamblada y está formada por un agente estructurante (cera de abeja) y que es el responsable del atrapamiento físico del aceite líquido. Esta red aporta características viscoelásticas que aumentan la consistencia de los aceites, dándoles una funcionalidad de grasa sólida y mejorando su textura y su aplicación en alimentos (7).

Las sustancias que han demostrado formar OG para atrapar diferentes aceites comestibles se clasifican en gelificantes de bajo peso molecular y gelificantes poliméricos. Entre los primeros se encuentran los AG, MG, DG y TG, cerámidas, ceras, fitoesteroles y derivados de sorbatán. Por otro lado, los gelificantes poliméricos o indirectos constituyen un grupo más limitado debido a la baja solubilidad que presentan los polímeros en aceite. Entre ellos se encuentran los hidrocoloides, que representan un grupo heterogéneo de sustancias poliméricas de cadena larga (15–17). Estos poseen propiedades gelificantes bien caracterizadas, y se comportan muy bien como estructurantes de solventes acuosos, por lo que se usan frecuentemente en alimentos como espesantes y gelificantes por su alta capacidad para modificar la reología (textura y viscosidad) de los sistemas alimentarios.

1.2.3 Margarinas para la elaboración de masas de hojaldre

El hojaldre es un producto horneado laminado formado por finas capas de masa y grasa elaboradas partiendo de una masa que es sometida a numerosas dobleces. Después de hornearlo durante un tiempo adecuado, se consigue un producto de aspecto uniforme, crujiente y de volumen adecuado. En la elaboración de masas de hojaldre, la grasa no se

mezcla con la masa, sino que se sitúa sobre la misma en forma de bloque, se envuelve con la masa y se realizan varios dobleces con ayuda de un rodillo, formando múltiples capas finas que alternan grasa y masa. La porción de grasa evita que las capas de masa se junten, y tras la evaporación de agua durante el horneado se produce una expansión y separación de las capas que afecta a la elevación y descamación del hojaldre (18).

Las margarinas empleadas para masas de hojaldre requieren de un mayor contenido de sólidos que las margarinas de mesa para garantizar unas buenas propiedades de horneado y alta plasticidad para que la masa se expanda correctamente. En la elaboración de estas margarinas, el tipo y contenido de GS, entre las que se encuentran el aceite y la estearina de palma, son los que confieren estas características y propiedades.

El aceite de palma es un aceite vegetal muy utilizado en la industria alimentaria y que ofrece varias ventajas en la elaboración de alimentos procesados. No obstante, este aceite contiene un porcentaje mucho mayor de GS que otros aceites vegetales y, por tanto, se ha visto que tiene impactos negativos en la salud. El aceite de palma es semisólido a T^a ambiente, y contiene la misma cantidad de AGS e insaturados (AGI), condición que tienen únicamente los aceites y grasas vegetales. Contiene aproximadamente un 48% de AGS, un 37% de AGM, y el 10% restante de AGP (19,20). Puesto que es semisólido a T^a ambiente, el aceite de palma puede incorporar un componente líquido y proporcionar una textura y estructura cremosa. Además, es muy resistente a la oxidación, debido a su bajo contenido en AGP y a la presencia de tocoferoles y tocotrienoles que son antioxidantes naturales, por lo que su uso proporciona estabilidad oxidativa a las margarinas. Por todo ello, el uso del aceite de palma en la industria alimentaria es muy frecuente, además de que tiene un coste reducido (21).

Asimismo, un producto derivado del aceite de palma es la estearina sólida, obtenida por fraccionamiento, y comúnmente empleada en la elaboración de margarinas para masas de hojaldre por tener un punto de fusión más elevado, y proporciona dureza, estructura y mejora la plasticidad. Ayuda a evitar que los productos se derritan, y a mantener la estructura y la forma de los productos finales. Además, se puede mezclar fácilmente con otros aceites, proporcionando al producto unas características plásticas específicas.

1.2.4 Empleo de aceite de orujo de oliva (AOO)

Actualmente, es muy común investigar la posible aplicación de diferentes aceites como ingredientes lipídicos sustitutos de GS para la elaboración de margarinas para masas de hojaldre. Concretamente, el AOO es un aceite vegetal que tiene propiedades beneficiosas para la salud, debido a su composición en AG. Su AG principal es el ácido oleico (C18:1), que representa hasta un 85% del total de los AG presentes en su composición, si bien también contiene cantidades importantes de ácido palmítico (C16:0) y linoleico (C18:2). En cantidades menores presenta esteroides, escualeno, ácidos, alcoholes triterpénicos, alcoholes grasos aromáticos y compuestos fenólicos. Estos últimos compuestos mencionados son los que le hace diferenciarse de otros aceites empleados en la elaboración de margarinas, tales como los aceites de palma, soja o girasol (22,23).

En algunos productos, se está utilizando el aceite de oliva como sustituto de las GS, incorporándolo de manera directa o en forma de OG. Sin embargo, no existen precedentes del uso del AOO ni en la preparación de OG ni en la elaboración de alimentos, por lo que se desconoce su viabilidad tecnológica para su estructuración, así como su comportamiento y las propiedades que pueda impartir a la margarina u otros alimentos. Por lo tanto, es necesario un estudio de su aptitud tecnológica en el proceso de elaboración, tanto de la margarina, como de las masas de hojaldre finales. Ello implica la obtención de productos con calidad tecnológica elevada, seguros, saludables, palatables, y aceptables por parte del consumidor (23).

1.3 Medida de propiedades reológicas y texturales para la caracterización y calidad de los alimentos

La medida de las propiedades reológicas y de textura es importante en la industria alimentaria para la caracterización física de los ingredientes alimentarios y los propios alimentos procesados. Diversos métodos instrumentales y sensoriales permiten determinar parámetros que se relacionan con las características sensoriales que definen la textura, la calidad, el comportamiento del alimento y la aceptación o rechazo del consumidor. Esto es de vital importancia para poder entender la contribución de cada ingrediente o componente a las propiedades reológicas y mecánicas de las margarinas, las relaciones con su estructura, y su relación con las propiedades sensoriales. De esta manera, la reología y la textura son herramientas indispensables en el control de la calidad

de los alimentos, dado que permiten entender la funcionalidad tecnológica de los ingredientes alimentarios y los cambios que se producen como consecuencia de diferentes tipos de procesado y conservación (24).

1.3.1 Medida instrumental de las propiedades reológicas

La reología es la ciencia que estudia la deformación y el flujo de la materia bajo la acción de fuerzas externas (24). La reología se aplica en la industria alimentaria en cualquier etapa del proceso de elaboración de un producto, ya sea para el diseño de procesos industriales, formulación de alimentos o la evaluación de la textura de los productos, permitiendo analizar los cambios estructurales que ocurren durante el proceso de fabricación (25). Los estudios reológicos en alimentos se llevan a cabo mediante técnicas de análisis instrumental, utilizando ensayos reológicos dinámicos y/o estacionarios, que presentan la ventaja de ser rápidos, precisos y de generar datos muy reproducibles.

Los *ensayos reológicos dinámicos u oscilatorios* son ensayos en los que el producto objeto de estudio se somete a una fuerza que varía con el tiempo, a frecuencia fija y/o variable (26). Constituyen una de las herramientas fundamentales para la caracterización de las propiedades viscoelásticas, en relación con su estructura de los alimentos. Estos ensayos no destructivos mantienen la estructura de la muestra, dado que aplican deformaciones o esfuerzos oscilatorios de pequeña amplitud SAOS (Small Amplitud Oscillation Shear). Para ello, se hace uso de un reómetro rotacional donde la muestra se coloca, por ejemplo, entre dos placas paralelas, aunque existen otros tipos de geometrías como plato cono, cilindros concéntricos, etc. La placa inferior es fija (placa estacionaria), y controla la T^a de la muestra a través de un sistema peltier, y la superior (placa oscilatoria) está conectada al motor del reómetro y aplica un esfuerzo o deformación oscilatoria.

A partir de los ensayos dinámicos, se obtienen diferentes propiedades o funciones viscoelásticas para la caracterización de los distintos tipos de alimentos o muestras:

- ***G'*: Módulo elástico o de almacenamiento.** Índice del comportamiento elástico. Es directamente proporcional a la energía almacenada por el material en un ciclo de deformación.

- **G'' : Módulo viscoso o de pérdida.** Índice del comportamiento viscoso. Es directamente proporcional a la energía disipada por el material en un ciclo de deformación.
- **G^* : Módulo complejo.** Representa la resistencia total de una sustancia frente a la deformación aplicada. Es definido como: $G' + iG''$.
- **δ : Ángulo de desfase.** Índice de la viscoelasticidad. Nos da una primera idea de la naturaleza reológica del material, ya que mientras en los sólidos elásticos el desfase es muy próximo a cero, en los líquidos newtonianos el desfase es 90° . Los materiales viscoelásticos poseen un desfase intermedio. Un material elástico posee un elevado G' y un pequeño G'' , ya que δ se aproxima a cero. Cuanto mayor es el carácter viscoso del material, el desfase δ aumenta, y G'' también aumentan en detrimento de G' .
- **$\tan \delta$: Tangente o factor de pérdida.** Es la tangente δ , representa el grado de solidez. Indica la relación entre la componente viscosa y elástica del material: $\tan \delta = G''/G'$.
- **η^* : Viscosidad compleja.** Describe la resistencia total de un material a la cizalla dinámica. Es definida como: G^*/ω .

Los ensayos reológicos dinámicos de uso más generalizado que se han utilizado son los siguientes:

1) Ensayo en barrido de tiempo (*Time sweeps*).

Este ensayo permite estudiar la evolución temporal de los parámetros reológicos, es decir, de los valores de G' y G'' en función del tiempo, a una frecuencia (f) y esfuerzo de cizalla (σ) determinados y fijos, y dentro del intervalo o región de viscoelasticidad lineal (LVR). Esta evolución está relacionada con fenómenos de reestructuración. Por ello, es común y recomendable realizar este ensayo en la muestra, para así permitir que se alcance el equilibrio térmico y la reestructuración de la misma, antes de realizar otras medidas. No obstante, ello implica un conocimiento previo del LVR de cada margarina o muestra.

2) Ensayo en barrido de tensión o esfuerzo (*Stress sweeps*).

Determina el LVR de la muestra, a una f determinada, normalmente intermedia del intervalo de frecuencias disponible experimentalmente, aumentando progresivamente la

amplitud de la onda de σ . A medida que ésta aumenta, la respuesta del sistema se caracteriza por la constancia de las funciones viscoelásticas dinámicas, G' y G'' , hasta que se alcanza una amplitud del esfuerzo de cizalla crítica (σ_{\max}), a partir de la cual los valores de G' y G'' comienzan a variar mucho con la tensión, y se produce la salida del LVR.

3) Ensayo en barrido de frecuencia (*Frequency sweeps*)

Conocida, mediante el ensayo anterior, la amplitud de la onda de σ a la que se va a investigar la influencia de la frecuencia en cada margarina dentro del LVR, se obtienen los espectros mecánicos. Se conoce así la dependencia de G' y G'' respecto a f . El espectro mecánico o barrido en frecuencia es la “huella dactilar” de la muestra, margarina en este caso, dado que proporciona los valores de G' y G'' a distintas escalas de tiempo (27).

4) Ensayo en barrido de temperatura (*Temperature sweep*)

Permite obtener los perfiles térmicos de las muestras, G' y G'' en función de la T^a , a una f y σ fijos, dentro del LVR. Proporciona gran información estructural, y permiten caracterizar el comportamiento termorreológico de las margarinas (28).

1.3.2 Medida instrumental de la textura

En 2002, Szczesniak definió la textura como la “manifestación sensorial y funcional de las propiedades estructurales, mecánicas y de superficie de los alimentos detectada a través de la vista, el oído, el tacto y la cinestesia” (29). Las propiedades texturales están determinadas por las características físicas de los elementos estructurales del producto a analizar, y están relacionadas con la respuesta a la deformación, el modo de desintegración, y el flujo por la aplicación de una fuerza. El proceso de transformación o productivo de un producto alimenticio, le proporciona diferentes propiedades texturales, y que son función de los ingredientes, interacciones moleculares, disposición espacial, y la concentración (30). Las propiedades texturales son factores determinantes de la calidad final de un producto, y determinan su aceptación o rechazo por parte del consumidor.

Los ensayos para la caracterización de la textura de un alimento pueden ser de tres tipos:

- a) **Ensayos fundamentales:** son objetivos porque los resultados son independientes del método de medida. Proporcionan valores de las propiedades físicas básicas como la elasticidad, la flexibilidad conformacional, la solidez y la resistencia a la

deformación (28). Utilizan unas condiciones de medida dentro de los límites del comportamiento viscoelástico lineal.

- b) **Ensayos empíricos:** miden, en condiciones definidas, variables relacionadas con alguno de los atributos texturales característico de un alimento. Entre estos ensayos se incluye la penetración, el cizallamiento y la extrusión. El ensayo de corte con cuchilla aplicado en los hojaldres finales horneados es, asimismo, un ensayo empírico. El ensayo de penetración, aplicado en las margarinas mide la fuerza que se necesita para penetrar una sonda en la muestra, y a una distancia fija, lo que ocasiona su deformación o flujo.
- c) **Ensayos imitativos:** intentan simular los procesos que experimentan los alimentos durante su masticación y consumo. Entre ellos se encuentra el “análisis de perfil de textura” (TPA), y que se ha aplicado en los hojaldres finales horneados.

OBJETIVOS

El objetivo principal del presente TFG fue estudiar la potencial aplicabilidad del AOO como materia prima en la elaboración de margarina para su posterior utilización en masas de hojaldre de repostería. Para ello, se mezclaron diferentes ingredientes de manera que se obtuvieran margarinas con suficiente plasticidad para poder ser incorporadas en masas de hojaldre, previamente a su horneado final.

Para dar respuesta a este objetivo general, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Caracterización de las propiedades reológicas y de textura de un preparado graso y de una mantequilla comerciales, ambos específicos para la elaboración de masas de hojaldre.
2. Formulación de margarinas de alta plasticidad: estudio de factores de composición y procesado.
 - 2.1 Factores de composición: tipo y proporción de componentes en la fase acuosa (FA), y de ingredientes lipídicos y agentes emulsificantes en la fase oleosa (FO), y su modo de incorporación.
 - 2.2 Factores de procesado: temperatura y tiempo de emulsificación, y velocidad de cristalización.
3. Caracterización de las margarinas formuladas: estudio de las propiedades reológicas, texturales, así como de propiedades térmicas, estructura microscópica, y perfil lipídico, en algunas margarinas seleccionadas por tener una plasticidad más adecuada.
4. Elaboración de masas de hojaldre con algunas margarinas formuladas, optimización de las condiciones de horneado, y caracterización de la respuesta del hojaldre final al horneado mediante la medida de sus propiedades texturales.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este TFG, todas las margarinas formuladas se comparan con un preparado graso comercial para masas de hojaldre, considerado como control, dado que su caracterización reológica, textural y térmica, no ha permitido disponer de unas medidas instrumentales objetivas, para su comparación con las margarinas formuladas a lo largo de este trabajo.

Todas las Tablas y Figuras correspondientes a los Materiales y Métodos de este TFG, se recogen y presentan en los Anexos I y II.

3.1 Materias primas

Los ingredientes y aditivos que se han utilizado en la formulación de las margarinas, y que han constituido la fase oleosa (FO) y acuosa (FA), se detallan seguidamente:

- **Preparado graso** (suministrado por St. Auvent, Vandermoortele Europe, Bélgica). Margarina comercial control constituida por un 78% de materia grasa, y empleada para elaborar hojaldres.
- **Aceite de orujo de oliva (AOO)** (suministrado por la Interprofesional del Aceite de Orujo de Oliva ORIVA, Sevilla, España). Aceite líquido mayoritario y de principal interés en esta investigación. Su composición en AGM es de hasta un 85%, predominando el C18:1. Contiene antioxidantes y otros compuestos bioactivos con potenciales propiedades beneficiosas para la salud (23).
- **Estearina de palma refinada** (donada por el grupo Vandemoortele Europe NV, Bélgica). Grasa sólida obtenida del aceite de palma. Posee una proporción de un 79% de AGS, siendo el principal el C16:0. Se emplea mayoritariamente en la formulación de margarinas y shortenings, dado que eleva el punto de fusión. Su relación con la salud y las enfermedades cardiovasculares debe ser estudiada (31).
- **Cera de abeja** (donada por Lasenor, Barcelona, España). Organogelificante hidrofóbico que forma una red tridimensional capaz de retener grandes cantidades de aceite y, por tanto, conferir estructura sólida o semisólida al aceite líquido. Su incorporación en distintos alimentos ha ganado un gran interés, debido a su origen natural, su actividad antimicrobiana y propiedades gelificantes y emulsificantes, mejorando la consistencia y la plasticidad, incluso en bajas concentraciones (32).

- **Mantequilla** (Covap con sal, adquirida en Mercadona, Madrid). Mantequilla de leche de vaca con un contenido graso de un 82% (y un 56% de AGS). Se incorpora comúnmente en los preparados grasos o margarinas comerciales, en un porcentaje de hasta un 10%, a fin de impartir plasticidad y conferir aroma a mantequilla.
- **Mantequilla** (Le grand tourage, de Flechard). Mantequilla principalmente empleada para elaborar masas de hojaldre. Está constituida por un 82% de materia grasa (con un 56% de AGS); se incorpora para aportar plasticidad y aroma.
- **Verolec Non GMO IP** (donada por Lasenor, Barcelona, España). Se trata de una lecitina de soja empleada como emulgente.
- **Palsgaard 1311** (donado por Palsgaard, Juelsminde, Dinamarca). Es una mezcla de ésteres cítricos de mono y diglicéridos de AG vegetales y ésteres de poliglicéridos de AG (100% materia grasa, AGS 37%). Se usa principalmente como emulsificante, aportando una distribución fina y uniforme del agua, mejorando la plasticidad y garantizando la estabilidad.
- **Palsgaard 6111** (donado por Palsgaard, Juelsminde, Dinamarca). Son TG procedentes de aceite de canola totalmente hidrogenado, y que favorecen el proceso de cristalización de los productos grasos.
- **Verol P-Flakes (E-475)** (donado por Lasenor, Barcelona, España). Ésteres de poliglicéridos de AG, se usa como agente aireante y potenciador de la plasticidad. El producto Verol P interactúa con el agua, disminuyendo su tensión superficial.
- **Verol N90 (E-471)** (donado por Lasenor, Barcelona, España). Es un agente dispersante, humectante y emulsionante. Reduce la tensión interfacial entre la FA y FO en emulsiones, promoviendo una estructura uniforme y mejora la cremosidad de los alimentos.
- **Gelatina Alimenticia Triturada 200/220 Blooms 750g** (donado por Manuel Riesgo S.A). Es una proteína natural derivada de la hidrólisis parcial del colágeno contenida en las pieles de origen bovino. Es soluble en agua y gelifica en frío, modificando la textura del producto sin aportarle sabor u olor.
- **TAG (EB)** (ACTIVA®, Ajinomoto Food Europe, Paris, Francia). Preparado alimentario compuesto por caseinato sódico, maltodextrina y transglutaminasa (TAG), y aporta consistencia al producto.

- **Agua** fría del grifo.
- **Sal** (fina de mesa, Aliada) utilizada como conservante y saborizante.
- **Ácido Cítrico** o ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico ($C_6H_8O_7$) Corrector de acidez que posee propiedades antioxidantes y secuestra trazas de metales.
- **Aroma de mantequilla** (comprado a Arconsa, S.A, Murcia, España). Sustancias aromatizantes naturales, destinado a la alimentación como aroma líquido.
- **Cremer tártaro** (Chefdelíce, Alcantarilla, Murcia, España). Impulsor químico de panadería capaz de aumentar el volumen de las masas, y estabilizar.

Todos los ingredientes y/o aditivos grasos, se conservaron en condiciones aptas para protegerlos del estrés oxidativo.

3.2 Formulación de las margarinas: factores de composición y procesado

Con las materias primas mencionadas y utilizando siempre una proporción FO/FA muy próxima a 80/20, se formularon 17 margarinas con diferente composición. Además, se ensayaron diferentes condiciones de procesado, a fin de obtener una margarina con propiedades tecnológicas (principalmente consistencia y plasticidad) similares a las del preparado graso comercial utilizado como control, y designado como F0.

A este respecto, hay que señalar que el trabajo experimental realizado se enmarca dentro de un Contrato con Empresa más amplio, y que ya se había iniciado y avanzado en su desarrollo antes de mi incorporación en el ICTAN. En la Tabla 1 (Anexo II) se detallan las distintas formulaciones desarrolladas a lo largo de este TFG, y designadas como F1-F17. No se incluye F0 ni F0', dado que esta formulación (F0) corresponde al preparado graso comercial, utilizado como control. F0' se diferencia de F0 en que fue fundida y recristalizada en el laboratorio, a fin de borrarle a la muestra de preparado graso su historia térmica previa. En cuanto al procesado, se han elaborado margarinas en lotes de 600-800g, utilizándose un homogeneizador Thermomix® TM5-1 (Vorwerk, Alemania) y un agitador de varilla (Bunsen AGV-8), y que se muestran en la Figura 1 (Anexo I).

El proceso básico de elaboración de cada margarina estuvo compuesto por las siguientes etapas, que asimismo se resumen en la Figura 2 (Anexo I):

1. Pesado de los ingredientes en balanza.

2. Mezclado de los componentes de la FO con el agitador de varilla a una velocidad $v = 300$ rpm, y mediante calentamiento en baño de agua a una T^a aproximada de 70 °C.
3. Mezclado de los componentes de la FA.
4. Una vez disuelta la FO, se reduce la T^a a 50 °C, y se introduce en el vaso de la Thermomix®.
5. Se procede a la elaboración de la emulsión mediante la incorporación de la FA a la FO, a una $v = 4$ (1100 rpm), y se va incrementando la velocidad de agitación hasta una $v = 7$ (4400 rpm), durante al menos un tiempo total de 13min.
6. Vertido de la mezcla en recipiente o molde.
7. Proceso de enfriamiento o cristalización:
 - a. Enfriamiento a T^a ambiente durante al menos 24h, previo a más uso.
 - b. Enfriamiento 1h en hielo, seguido de 1h a 4°C en refrigerador, y T^a ambiente durante al menos 24h, previo a más uso.

Sobre el proceso básico detallado anteriormente, se realizaron no solo modificaciones en la formulación, sino variaciones de las condiciones de procesado [velocidad (v), tiempo (t) y temperatura (T^a)], utilizando diferentes métodos de conservación y proceso de cristalización.

A continuación, se detallan las modificaciones llevadas a cabo en las formulaciones que se muestran en la Tabla 1 (Anexo II). En las formulaciones F1 y F2, se incorporaron los nuevos ingredientes. En comparación con F1 y F2, las margarinas F3, F4 y F5 tienen la misma composición, pero se realizaron únicamente en la Thermomix®, y con variaciones de la T^a y la velocidad. Además, también se modificó el orden de vertido de los ingredientes, a fin de que el método fuese más reproducible. En F6, F7, F8 y F9, se realizaron modificaciones en la composición. Es relevante mencionar que las formulaciones F10 y F11 fueron muy diferentes a las restantes, debido a la inclusión en su composición de un OG formado por una mezcla de cera de abeja y AOO, y que se preparó a una T^a de 80 °C. Este OG se incorporó 24 h después de su preparación como un ingrediente de la FO. Con respecto a F12 y F13, en estas margarinas se incorporó el uso del agitador de varilla (Bunsen AGV-8) para facilitar el mezclado y la disolución de los componentes de la FO. A su vez, las formulaciones F14 y F16 se diferenciaron en el

proceso de enfriamiento o cristalización; F14 reposó a T^a ambiente, mientras que F16 lo hizo en hielo y refrigeración antes que a T^a ambiente. Esto mismo ocurrió con F15 y F17; F15 se mantuvo a T^a ambiente, mientras que F17 estuvo en hielo y refrigeración antes que a T^a ambiente, y previamente a su uso posterior.

En las primeras margarinas formuladas (F1-F5), no se ha realizado ningún tipo de medida o análisis, dado que sirvieron fundamentalmente para encontrar las combinaciones adecuadas de los ingredientes y para ajustar las distintas condiciones de procesado.

3.3 Elaboración de masas de hojaldre

Las materias primas que se usaron para la elaboración de las masas de hojaldre son:

- **Harina floja** (Gallo, Córdoba, España): harina de trigo normal de cocina, con una cantidad baja de gluten, y requiere de reposo cuando se utiliza. Tiene un valor de W=100, que nos indica la fuerza, mayor W mayor fuerza y capacidad para aguantar la presión del gas que genera la fermentación.
- **Harina de fuerza o fuerte** (Tradicional Zamorana, Zamora, España): contiene una mayor cantidad de gluten, lo que permite gasificar masas y aumentar el tamaño del producto; se suele utilizar en la repostería. Tiene un valor de W=200.
- **Margarina formulada:** una parte se incluye en el plastón, y otra parte, la placa, se usa para envolver y diferenciar así las distintas capas del hojaldre.
- **Sal:** (fina de mesa, Aliada) utilizada como conservante y saborizante.
- **Agua fría:** de grifo, para formar la masa de repostería

En total, se realizaron 14 hojaldres, tal y como se resume en la Tabla 2 Anexo II. Algunas de las margarinas formuladas fueron excluidas para la elaboración de masas de hojaldre porque no tenían las propiedades tecnológicas adecuadas. En cuanto a condiciones de elaboración, se prepararon masas de hojaldres en lotes de 150-300 g, utilizándose una amasadora (KitchenAid, Artisan, Mod. 5KSM150, USA), y fundamentalmente un horno Rational (Combi-Master, CM6). No obstante, hay que señalar que, inicialmente, se realizó la cocción de las masas de hojaldre en un horno de cocina más sencillo (Moulinex Optimo 0X4848) (Figura 3, Anexo I), lo que sirvió para aproximar las temperaturas y tiempos que eran necesarios para un horneado adecuado.

El proceso básico de elaboración de cada lote de hojaldre está compuesto por las siguientes etapas que se resumen en la Figura 4 (Anexo I):

1. Mezclado de componentes (harina, mantequilla/margarina, agua y sal) en la amasadora a $v = 2$ (58 rpm), y alrededor de 2min hasta que todos los ingredientes formaban una masa homogénea.
2. Reposo del plastón durante al menos 30min, envuelto en parafilm.
3. Amasado manual:
 - a. Formación de flor del hojaldre para envolver la placa de mantequilla/margarina: obteniendo la forma de libro.
 - b. Estirado de la masa siempre hacia el sentido de los pliegues abiertos.
 - c. Realización de dobleces en el siguiente orden: 2 dobleces simples, 1 doblez doble, y 1 doblez simple.
 - d. Enfriamiento en refrigeración de aproximadamente 30min por doblez.
 - e. Estiramiento de la masa de hojaldre antes de cortar en porciones de 5x5cm, tamaño que se consideró adecuado para el estudio.
4. Cocción de las piezas de hojaldre:
 - a. Pre calentamiento del horno Rational, $t = 15$ min a 200 °C
 - b. Introducción de las muestras en el horno a 200 °C, durante un $t = 12$ min; transcurrido este tiempo, se bajaba la T^a del horno a 180 °C, y se prorrogaba la cocción durante 12min más.
 - c. Reposo en el horno apagado de los hojaldres cocidos durante 5 min
5. Reposo de los hojaldres a T^a ambiente, previo a la medida de su textura.

Cabe destacar que en el proceso de elaboración de las masas de hojaldre también se realizaron algunas modificaciones. Se introdujeron tiempos de reposo o enfriamiento entre dobleces, para facilitar su amasado. Los hojaldres H8 y H8' se diferencian en que H8' incluyó un reposo de 20-30 min a 4 °C entre dobleces. Hasta el hojaldre H12, las masas se cocieron en el horno Moulinex y, por tanto, bajo diferentes condiciones de t y T^a . Las piezas de hojaldre correspondientes a H12', con idéntica formulación y preparación, fueron cocidas en el horno Rational. Para la cocción de las masas de hojaldre posteriores a H12', se usó el Rational bajo condiciones de t y T^a constantes (Tabla 2, Anexo II).

3.4 Medida de propiedades reológicas de las margarinas formuladas

La caracterización de las propiedades reológicas de las distintas margarinas se ha realizado en un reómetro rotacional Kinexus Pro (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK) a esfuerzo controlado, equipado con software rSpace, y un sistema de control de la Tª Peltier en el plato inferior con una resolución de ± 0.01 °C (Figura 5, Anexo I). Las propiedades reológicas dinámicas se miden empleando una geometría serrada de platos paralelos PU20: PLS61X S3335SS, teniendo el plato superior liso un diámetro de 20 mm, y el plato inferior rugoso de 61mm, y utilizándose para la realización de las medidas una separación entre ambos platos (*gap*) de 1,5mm. Las medidas reológicas se realizaron al menos por triplicado, y en las 48h posteriores a la formulación y conservación de las margarinas a Tª ambiente.

Se colocan aproximadamente 3 g de muestra extendidos en el plato inferior, adaptándose al espacio *gap* proporcionado por la geometría escogida. Antes de realizar cualquier ensayo, las muestras de margarina se reestructuraron y estabilizaron durante 20 min mediante barridos de tiempo (*Time sweeps*).

Se determinó el LVR mediante ensayos en barrido de tensión o esfuerzo a 20 °C, para identificar la amplitud del esfuerzo y de la deformación de cizalla críticas (σ_{\max} y γ_{\max}), así como los valores del módulo complejo crítico y la tangente de pérdida crítica (G^*_{\max} y $\tan \delta_{\max}$) que limitan el LVR de cada muestra. Tras determinar el LVR, se realizaron barridos de frecuencia entre 10 y 0,1 Hz, para obtener los espectros mecánicos de las margarinas, siempre bajo un esfuerzo fijo escogido dentro del LVR (200 Pa).

Para investigar el efecto del calentamiento en la estructura de cada margarina, se realizaron barridos de Tª entre 10 y 50 °C, a una velocidad lineal de calentamiento de 1 °C/min, y con una frecuencia (*f*) de 1Hz. Este ensayo permite determinar la Tª de cruce de los módulos viscoelásticos (G' y G''), próxima al punto de fusión de las margarinas obtenido mediante (DSC). Para realizar este ensayo, la amplitud del esfuerzo de cizalla impuesta se escoge dentro del LVR a 20 °C. Sin embargo, por debajo de 50 °C se produce un cambio de fase en las margarinas y, en consecuencia, los esfuerzos aplicados en el inicio del calentamiento no garantizan la condición de viscoelasticidad lineal de las muestras durante el calentamiento completo.

En los diferentes ensayos realizados, se registraron diferentes propiedades reológicas, tales como el módulo elástico o de almacenamiento (G'), el módulo viscoso o de pérdida (G''), el módulo complejo (G^*) y la tangente o factor de pérdida ($\tan \delta = G''/G'$).

3.5 Medida instrumental de la textura de las margarinas formuladas

La evaluación de la textura de las margarinas se realizó en un texturómetro TA. HDPlus (Stable Micro Systems, Ltd, Godalming, UK) con el software Texture Exponent (versión 6.1.20.0), y equipado con una célula de carga de 5 kg (Figura 6, Anexo I).

La textura se determinó mediante dos ensayos de penetración realizados con una sonda cilíndrica de acero inoxidable (P/4, $\varnothing = 4$ mm), y con una sonda cónica de metacrilato de 30 mm de diámetro. Ambas sondas penetraban las muestras de margarina hasta 10 mm, y a una velocidad de deformación de 1 mm/s. En la penetración realizada con sonda P/4, de las curvas fuerza-distancia se obtuvieron los parámetros mecánicos fuerza (N) necesaria para penetrar la muestra hasta 10 mm, la fuerza máxima (N), y el área bajo la curva (ABC) o trabajo de penetración (mJ).

Con la excepción de para el preparado graso F0, que se midió directamente sobre una pieza de muestra proporcionada por el fabricante, todas las margarinas formuladas se midieron en los propios moldes, a fin de tener siempre la misma cantidad de muestra, y realizar la medida bajo idénticas condiciones. Las medidas de textura se realizaron a 20 °C, y por triplicado, después de dejar transcurrir al menos 24 h desde su formulación y conservación a T^a ambiente.

3.6 Análisis de la microestructura mediante microscopía de luz polarizada

La microestructura de las distintas margarinas formuladas, así como la correspondiente al preparado graso y mantequilla comerciales, se estudian con un microscopio de luz polarizada (Leica AF6000 LX, Mannheim, Alemania), equipado con una cámara digital específica para microscopía Hamamatsu C9100-02. Las imágenes se capturaron usando un objetivo de lente de 40×/AN 0.75, con un cambiador de aumento añadido de 1,6x. Las imágenes tomadas se obtuvieron con una resolución de 1000x1000 píxeles con el programa LAS X.

Para la preparación de la muestra, la margarina se fundió previamente a 70 °C durante 1h y se tomaron aproximadamente 5mg, que se colocaron en el centro del portamuestras de cristal. Una vez centrada la muestra, se expandió y protegió con un cubreobjetos de

plástico para reducir su grosor, y que fuera visible su microestructura al microscopio. Cada portamuestras primero se enfriaba en hielo durante 1 h, se mantenía en refrigeración a 4 °C durante 1 h adicional, y se deja reposar a T^a ambiente durante varios días, produciéndose de esta forma la recristalización de cada margarina antes de observar su microestructura en el microscopio.

3.7 Medida de propiedades térmicas de margarinas seleccionadas

La evaluación de las propiedades térmicas de las margarinas se ha realizado con la técnica de calorimetría de barrido diferencial (DSC). Se utiliza un calorímetro de barrido diferencial TA Q1000 (TA Instruments, New Castle, DE, USA), calibrado sin muestra con zafiro y patrones metálicos de indio ($T_m=156,6$ °C; $\Delta H_m=3,27$ kJ/mol).

Para el análisis, se toman entre 15 y 20 mg de la muestra, y se colocan en un crisol de aluminio de cierre hermético, utilizando otro crisol vacío como referencia. La muestra se equilibra a 80 °C durante 10 min, se enfría hasta -50 °C a velocidad constante de 5 °C/min (reacción exotérmica). A continuación (reacción endotérmica) la muestra se mantiene 10 min a -50 °C, y se calienta hasta 80 °C a una velocidad de 5 °C/min. Los perfiles de cristalización y fusión de cada muestra se generan durante la primera y segunda rampa, respectivamente.

A través del software Universal Analysis 2000 (v. 4.1D, TA Instruments, New Castle, DE, USA) se obtiene la representación del flujo calorimétrico (W/g) frente a la T^a (°C). Se observan picos de valores negativos (endotérmicos), que definen el cambio del estado sólido al líquido (fusión), y picos de valores positivos (exotérmicos), que definen el cambio del estado líquido al sólido (cristalización). A partir de los perfiles térmicos, se obtuvieron las distintas temperaturas pico de cristalización (T_c) y de fusión (T_f) de cada muestra (9,33). Las propiedades térmicas se determinaron siempre por triplicado, y en las margarinas después de transcurrir al menos 48 h desde su formulación y conservación a T^a ambiente.

3.8 Determinación del perfil lipídico de margarinas seleccionadas

El perfil lipídico se determinó mediante cromatografía de gases, y por triplicado. A partir de las muestras liofilizadas, se obtuvieron los ésteres metílicos de AG (FAME) usando metóxido sódico 0,5 M en metanol anhidro y cloruro de acetilo en metanol anhidro. Los FAME se extrajeron con 4 ml de hexano y se usaron para el análisis de GC (1µL). El

perfil de AG se determinó en un cromatógrafo de gases Agilent 7820A con detector FID. La separación se realizó en una columna Agilent HP-88 (60m, 0,32mm i.d, 0,25µm de espesor de película ref. 112-8867) con inyección dividida (40:1) y helio a un flujo constante de 1,2 ml/min. La T^a del detector se ajustó a 260 °C y la del inyector a 250 °C. El perfil de T^a del horno fue de 125 °C durante 1 min, que luego se aumentó en 8 °C/min a 145 °C durante 26min y luego a 220 °C durante 5min. La identificación se realizó comparando los tiempos de retención con un estándar de 37 AG, y para la cuantificación en cantidad se utilizó el patrón interno C13:0, que se añadió a la muestra en estado no metilado antes de la metilación, considerándose un factor respuesta de 1 entre este AG y los demás identificados.

3.9 Medida de la textura de los hojaldres finales horneados

Los ensayos de medida instrumental de la textura de los hojaldres, se realizaron con el mismo texturómetro TA. HDPlus y célula de carga de 5 kg, utilizados para la medida de la textura de las margarinas. Las medidas se realizaron a T^a ambiente, y 1 h después del horneado de los hojaldres. El primer ensayo fue un “análisis de perfil de textura” (TPA), y consistió en la doble compresión, con una sonda de acero inoxidable (P/75mm), de una pieza entera de hojaldre (5 mm×5 mm) (Figura 8, Anexo I), y solo hasta una deformación de la pieza del 30%, para evitar así su rotura, y que determinadas propiedades, tales como la cohesividad y elasticidad, carecieran de significado físico. El ensayo se realizó a una velocidad de deformación de 2 mm/s, y con un período de reposo entre los ciclos de compresión de 3 s. De las curvas fuerza-tiempo (Figura 9, Anexo I), se obtuvieron los atributos texturales que se definen en la Tabla 3 (Anexo II). La adhesividad no se ha medido en los hojaldres, ya que esta propiedad carece de significado físico en productos con carácter crujiente (34). El segundo ensayo para la medida de la textura del hojaldre fue un ensayo de corte con cuchilla, que se realizó también sobre una pieza entera de hojaldre, y hasta una distancia de 15 mm, utilizándose para ello un adaptador tipo “cutter”, con un ancho de 50 mm, y un espesor de la cuchilla de 0,6 mm (Figura 10, Anexo I). El ensayo se realizó también a una velocidad de deformación de 2 mm/s, y con una fuerza de activación de 0,049 N. De las curvas fuerza-tiempo (Figura 11, Anexo I), se obtuvieron los parámetros texturales fuerza máxima (N), el área bajo la curva (ABC) fuerza-tiempo (N s), y el número de picos de fuerza contabilizados en la curva (indicados mediante flechas), y calculados para una caída en la fuerza superior a 0,05 N.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Propiedades reológicas de las margarinas formuladas

4.1.1 Ensayos en barrido de tiempo (*Time sweeps*)

Como un ejemplo, en la Figura 1 (Anexo III), se presentan barridos de tiempo realizados en el LVR de cada muestra, y correspondientes al preparado graso comercial (F0), la mantequilla comercial, y las margarinas formuladas y designadas F14 y F15. A su vez, en la Tabla 1, se presentan los porcentajes de variación de los valores del módulo elástico (G') y viscoso (G'') determinados tras la realización de estos barridos de tiempo en las formulaciones (y controles) en las que se realizaron medidas reológicas. Se aprecia que después de la reestructuración de cada margarina, los valores de G' siempre aumentaron, mientras que los valores de G'' disminuyeron en prácticamente todas las muestras (Tabla 1). Además, el porcentaje de variación de G' fue generalmente muy superior al de G'' . Por ejemplo, en el control F0, G' se incrementó en un 12% y G'' disminuyó en un 3%.

La evolución observada en las propiedades viscoelásticas durante este ensayo se asocia con una reorganización, recuperación, e incluso, con una posible cristalización de la estructura de diferentes entidades cristalinas, es decir, de las mezclas de lípidos o TG, que están presentes en las margarinas según su diferente composición, y que habrían sufrido un proceso de desestabilización durante la colocación de la muestra en el reómetro. Por ejemplo, entre los ingredientes presentes en el etiquetado de F0 que proporciona el fabricante, se encuentran aceites y grasas vegetales (palma, soja, girasol, en proporción variable), y aunque no se especifica el porcentaje exacto, es previsible que entre estas grasas vegetales se encuentren tanto el aceite como la estearina de palma en elevada proporción. De acuerdo con Saadi y col. (2012), el perfil de cristalización del aceite de palma, determinado mediante DSC, presenta un pico diferenciado con temperaturas de inicio y finalización de la cristalización de $21,21 \pm 0,09$ °C y de $15,49 \pm 0,14$ °C, respectivamente. Por lo tanto, en el caso de las muestras F0 y F0', que contienen aceite de palma en su formulación, es factible que se produjera la formación de algún cristal de grasa durante el barrido de tiempo (33).

Si se compara F0 con F0' (Tabla 1), se observa que el proceso de recristalización del preparado graso comercial no afectó a la evolución del módulo de almacenamiento G' durante la reestructuración de la muestra, pero sí al módulo de pérdida G'' , que se elevó

hasta un 9%, siendo así este cambio mucho más similar al experimentado por las margarinas formuladas en el laboratorio.

Tabla 1: Porcentaje de incremento y reducción de los valores de G' y G'' obtenidos en barridos de tiempo realizados durante 20 min a 1 Hz y 20 °C en el LVR, y correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un preparado graso comercial (F0).

Formulación	$\Delta G'$ (%)	$\Delta G''$ (%)
F0	12	-3
F0'	12	-9
MANTEQUILLA	24	10,5
F6	11	1
F7	22	0
F8	10	-6
F9	19	-4
F10	17	-4
F11	22	-12
F12	7	-11
F13	15	-11
F14	9	-9
F15	16	-8
F16	13	-10
F17	19	-12

Valores medios ($n = 3-5$).

G' , módulo elástico o de almacenamiento;

G'' , módulo viscoso o de pérdida;

LVR, intervalo de viscoelasticidad lineal.

Este resultado podía ser esperado, dado que el modo y velocidad de recristalización del preparado graso tras su fusión (F0'), fue el mismo que se utilizó en alguna de las margarinas formuladas, y que consistió en un enfriamiento inicial rápido en baño de hielo durante 1h, seguido de refrigeración a 5 °C durante otra hora, y finalmente se completaba la cristalización a T^a ambiente. Lógicamente, F0 habrá experimentado una cristalización muy diferente a través de un proceso industrial, y ello puede justificar que la variación de su componente viscosa (G''). Asimismo, hay que destacar que, en adición a la conformación molecular de los AG, y la cantidad de sólidos grasos, las condiciones de enfriamiento determinan el tipo de estructuras cristalinas que están presentes en la margarina, y por ello, la cristalización tiene una importancia primordial en el proceso de elaboración de la misma (9). De acuerdo con Patel y Dewettinck (2015), el control de la cristalización de las grasas es fundamental para garantizar las propiedades fisicoquímicas y la calidad de productos con alto contenido en grasas (35).

Además, la mantequilla experimentó una evolución diferente al resto de las muestras (Tabla 1), dado que ambas propiedades viscoelásticas se incrementaron durante este ensayo, y el incremento que experimentó G' fue el doble del detectado en F0 y F0'. Este resultado evidencia que las cadenas de AG presentes en la grasa láctea y, en consecuencia, las formas cristalinas de esta grasa sólida animal son muy diferentes a las correspondientes a las margarinas de origen vegetal.

Con respecto al efecto de la velocidad de cristalización, los porcentajes de reestructuración de G' y G'' fueron mayores en F16 y F17, cristalizadas inicialmente a velocidad rápida, que los correspondientes a las margarinas F14 y F15, cristalizadas inicialmente a velocidad lenta.

Por tanto, dada la naturaleza de los sistemas estudiados, y la importante evolución que experimentan sus propiedades viscoelásticas con el tiempo, los resultados de este ensayo reflejan la importancia de permitir, antes de realizar otros ensayos reológicos, que las propiedades de cada muestra alcancen un valor constante a través de su reestructuración.

4.1.2 Ensayos en barrido de tensión o esfuerzo (*Stress sweeps*)

Los ensayos en barrido de tensión o esfuerzo nos han permitido determinar el LVR de las diferentes muestras. Como ejemplos, en la Figura 2 (Anexo III), se muestra la variación de G' , G'' y δ , frente al esfuerzo de cizalla para el preparado graso control F0, la mantequilla, y algunas de las margarinas formuladas en el laboratorio. En este ensayo, y para conseguir la salida del LVR, se aplicó un intervalo de esfuerzo de cizalla (σ) variable entre 2 – 200 Pa, para la mantequilla y F7 y F9, dado que fueron mucho menos consistentes, y variable entre 20 – 2000 Pa, para F0 y el resto de las margarinas (Figura 2, Anexo III). Por tanto, en la mantequilla, F7 y F9, se necesitó un orden de magnitud de tensión aplicada de una década logarítmica por debajo de los valores requeridos en el resto de las margarinas formuladas y en el preparado graso (F0). Y en adición, es posible observar que ello también conllevó que estas tres muestras presentaran un LVR más estrecho que las otras margarinas, lo que evidencia que la red tridimensional presente en ellas no llegó a alcanzar la resistencia, ni a ser tan fuerte, como la de F0.

A su vez, en la Tabla 2, se muestran los valores límite de los parámetros reológicos (σ_{\max} , γ_{\max} , G^*_{\max} y $\tan \delta_{\max}$) que caracterizan el intervalo LVR en las margarinas formuladas y seleccionadas para los análisis estadísticos. σ_{\max} proporciona información de la

estabilidad física (densidad) y estructural de la red formada, γ_{\max} es una medida de la flexibilidad conformacional de la misma, G^*_{\max} representa la rigidez de la red, y la $\tan \delta_{\max}$ es el cociente entre G'' y G' correspondiente al límite del LVR (36).

Tabla 2: Propiedades reológicas a 20 °C que limitan el intervalo de viscoelasticidad lineal (LVR), y correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un procesado graso o margarina comercial (F0).

Formulación	σ_{\max} (kPa)	γ_{\max} (%)	G^*_{\max} (kPa)	$\tan \delta_{\max}$ (-)
F0	1,00±0,00 ^C	0,0437±0,0019 ^{B,C}	2297±100 ^{C,D}	0,164±0,0028 ^A
F0'	0,502±0,00 ^G	0,0324±0,0064 ^{C-E}	1615±20 ^E	0,108±0,0048 ^B
F8	0,796±0,00 ^D	0,0393±0,0085 ^{B-E}	2125±160 ^{D,E}	0,084±0,0011 ^{D,E}
F10	1,42±0,00 ^A	0,0508±0,0095 ^{A,B}	2892±143 ^B	0,102±0,0019 ^{B,C}
F11	1,13±0,00 ^B	0,0418±0,0026 ^{B-D}	2700±168 ^{B,C}	0,102±0,0020 ^{B,C}
F12	1,42±0,00 ^A	0,0602±0,00013 ^A	2350±5,0 ^{C,D}	0,0891±0,0015 ^{C-E}
F14	1,13±0,00 ^B	0,0328±0,0064 ^{C-E}	3490±680 ^A	0,0750±0,00070 ^E
F15	0,399±0,00 ^H	0,0260±0,0084 ^E	1621±98 ^E	0,0859±0,0013 ^{C-E}
F16	0,633±0,00 ^F	0,0281±0,0054 ^{D,E}	2289±155 ^{C,D}	0,102±0,0050 ^{B,C}
F17	0,710±0,00 ^E	0,0265±0,00093 ^{D,E}	2676±93 ^{B,C}	0,0943±0,011 ^{B-D}

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

σ_{\max} , amplitud del esfuerzo de cizalla crítica, esfuerzo oscilatorio crítico o umbral de fluencia;

γ_{\max} , amplitud de la deformación de cizalla crítica o deformación oscilatoria crítica;

G^*_{\max} , módulo complejo crítico (= $[(G')^2 + (G'')^2]^{0,5}$); $\tan \delta_{\max}$, tangente de pérdida crítica (= G''/G').

^{A-H} Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$).

F10 y F12 tuvieron los valores más elevados de σ_{\max} (Tabla 2), lo que refleja que las estructuras de estas formulaciones que contenían un 35 y un 40% de AOO, respectivamente (Tabla 1, Anexo II), eran las más densas, estando constituidas por una red de cristales de grasa más compacta y fuerte. En el caso de F10, este resultado podría ser atribuido a la presencia de un 5% de cera de abeja en su composición, dado que este ingrediente contribuye a la estructuración de aceites para margarinas (37). Sin embargo, F12 no contenía cera de abeja, aunque incluía entre sus ingredientes un 0,83% de Paalsgard 6111, en vez de contener un 0,83% de Verol N90 como en F10. Como este 0,83% de Paalsgard 6111 también estuvo presente en otras formulaciones como en F13, a igualdad de porcentajes del resto de los componentes, son las condiciones de procesado de F12, con la incorporación del agitador de varilla para facilitar el mezclado de la FO, las responsables de la alta densidad de su red cristalina. El control F0 presentó un valor de σ_{\max} intermedio entre los obtenidos en el resto de las formulaciones (Tabla 2), y aunque los valores correspondientes a F11 y F14 son significativamente superiores, están muy próximos a los del preparado graso control (F0). Puede apreciarse también, que en F0', el esfuerzo oscilatorio crítico necesario para la salida del LVR fue la mitad que el

requerido para F0. La salida del intervalo LVR está caracterizada, asimismo, por el cruce de los módulos viscoelásticos ($G'' > G'$), y los resultados evidencian que esta transformación de gel a solución coloidal estuvo asociada en el caso de F15, con un contenido en AOO más elevado, con el valor más bajo de σ_{\max} .

En lo que respecta a la flexibilidad conformacional (γ_{\max}) de las diferentes margarinas (36), es posible apreciar que no existen diferencias significativas entre la correspondiente a F0, y aquellas obtenidas para F0', F8, F10, F11 y F14. Además, el valor más elevado de γ_{\max} correspondió a F12, lo que no estuvo correlacionado con un valor más alto de G^*_{\max} , dado que éste se obtuvo en F14. No obstante, en comparación con F0, no había diferencias significativas en la rigidez de las redes tridimensionales de cristales (valores de G^*_{\max}) formadas en F8, F11, F12, F16 y F17. Este resultado también implica que, en comparación con F0, las últimas margarinas mencionadas tenían en el LVR un componente elástico (G') muy similar. Sin embargo, F0 sí que presentó un valor de la $\tan \delta_{\max}$ significativamente superior al del resto de las margarinas, evidenciando así que presentaba una estructura de red interna con una viscoelasticidad inferior ($> \tan \delta_{\max}$) o más bajo grado de solidez. Este resultado está asociado a que, en F0, los valores de G'' están bastante más próximos a los de G' , que, en las distintas margarinas formuladas, y que todavía pueden ser necesarias mejoras en la composición y condiciones de procesado, encaminadas a incrementar el valor de la componente viscosa G'' , para que no se aleje tanto del correspondiente a G' , disminuyendo su viscoelasticidad crítica.

Finalmente, con respecto al efecto de la velocidad de cristalización, al comparar F14 con F16, se observa que F14 tuvo un LVR más amplio, y una estructura más densa y rígida, que F16. Sin embargo, al comparar F15 y F17, ocurrió lo contrario, y la red cristalina de F17 fue más rígida y densa que la de F15. No obstante, y puesto que los valores de σ_{\max} y γ_{\max} correspondientes a F14 son los más similares a los de F0, parece que los resultados indicarían que una cristalización inicial a velocidad lenta puede ser más recomendable para la adecuada formación de las entidades cristalinas deseables (β').

4.1.3 Ensayos de barrido de frecuencia (*Frequency sweeps*)

Como un ejemplo, las variaciones G' y G'' en función de la frecuencia (f) (espectros mecánicos), correspondientes a distintas margarinas formuladas y a F0 (Figura 3, Anexo III). Similares espectros mecánicos fueron obtenidos para las margarinas F13-F17.

Aparentemente, todas las margarinas muestran un comportamiento reológico bastante similar, los valores de G' son superiores a los de G'' en todo el intervalo de f analizado (0,1-10 Hz) y ambos módulos, aunque más notoriamente G' , muestran dependencia con la frecuencia aplicada. Sin embargo, mientras que en F0 los valores de G' y G'' aumentaron con el incremento de f , en un 44 y un 20%, respectivamente, en muchas de las margarinas formuladas los valores de G' aumentaban con el incremento de la frecuencia, mientras que los valores de G'' disminuían. Por ejemplo, en F7, los valores de G' y G'' aumentaban y disminuían con el incremento de la frecuencia en un 39 y un 10%, respectivamente. A su vez, en F17, los valores de G' y G'' también aumentaban y disminuían con el incremento de la frecuencia, pero en un 20 y un 7%, respectivamente. Sin embargo, en F6, y como se observó en F0, los valores de ambos módulos aumentaron con el incremento de la frecuencia, aunque, en este caso, solo en un 32 y en un 18%, respectivamente. Asimismo, aunque no se incluye en la Figura 3 (Anexo III), es interesante señalar que en comparación con F0, en F0', los valores de G' y G'' nuevamente aumentaban y disminuían con el incremento de la f en un 23 y 30%, respectivamente.

En adición, se observaron otras diferencias muy significativas entre los valores de G' y de G'' de las distintas muestras, y directamente relacionadas con su viscoelasticidad. Por ejemplo, en F0 y F0' y en el intervalo de f aplicado (0,1-10 Hz), los valores de G' fueron 8 veces superiores a los valores de G'' . Similares resultados se obtuvieron para F6 y F9, con valores de G' que fueron 9 veces superiores a los de G'' . F6 contenía un 4,5% de cera de abeja (Tabla 1, Anexo II), mientras que F9 contenía un 0,75% de TAG. Sin embargo, ambas margarinas fueron excesivamente blandas, para lubricar correctamente la mezcla de ingredientes de las masas de hojaldre. Por el contrario, en F16 y F17, los valores de G' fueron 12 y 14 veces, superiores a los valores de G'' , respectivamente, lo que se aleja bastante más del comportamiento exhibido por F0 frente a la f , y presentaban un carácter más sólido. Todas las margarinas exhibieron un comportamiento reológico de “gel débil” o líquido estructurado (38). Los geles se pueden clasificar en geles fuertes o débiles (36); los geles fuertes se caracterizan porque se cumple que $G' \gg G''$ (al menos un orden de magnitud mayor), siendo ambos módulos G' y G'' prácticamente independientes de la frecuencia. Un “gel débil” es aquel que, siendo $G' > G''$ en todo el rango de frecuencias, ambos módulos poseen mayor dependencia de la frecuencia, y es un sistema intermedio entre un gel fuerte y una disolución concentrada (39). Este es ciertamente el

comportamiento reológico que se ha observado en todas las margarinas formuladas (Figura 3, Anexo III).

Tabla 3: Valores de G' , G'' y $\tan \delta$, a 1 Hz y 20 °C, derivados de ensayos en barrido de frecuencia, y parámetros derivados del ajuste al modelo de “gel débil”, todos correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un procesado graso comercial (F0).

Formulación	G' (kPa)	G'' (kPa)	$\tan \delta$	A (kPa s ^{1/2})	z (-)	R^2
F0	2479±26 ^E	317±2,8 ^A	0,129±0,00010 ^A	2479±26 ^E	12,8±0,24 ^F	1,00
F0'	2517±48 ^E	204±6,5 ^D	0,0812±0,0034 ^C	2485±71 ^E	21,5±0,67 ^D	1,00
F8	2805±4,2 ^C	174±1,8 ^F	0,0619±0,00067 ^{E,F}	2819±1,6 ^C	28,6±1,4 ^B	1,00
F10	2651±18 ^D	234±3,9 ^C	0,0882±0,0011 ^B	2657±16 ^D	18,3±1,1 ^E	1,00
F11	3008±66 ^B	253±0,66 ^B	0,0843±0,0016 ^{B,C}	3014±63 ^B	21,5±0,32 ^D	1,00
F12	2699±15 ^D	166±4,1 ^F	0,0613±0,0019 ^F	2707±14 ^{C,D}	27,0±0,76 ^{B,C}	1,00
F14	3319±53 ^A	185±5,1 ^E	0,0558±0,0014 ^G	3337±40 ^A	31,5±1,2 ^A	0,992
F15	2028±32 ^F	134±1,0 ^G	0,0659±0,00054 ^{D,E}	2038±32 ^F	27,8±0,52 ^{B,C}	0,998
F16	2099±24 ^F	173±0,74 ^F	0,0824±0,00061 ^C	2102±23 ^F	21,5±0,14 ^D	0,999
F17	2929±31 ^B	202±1,3 ^D	0,0691±0,00029 ^D	2930±28 ^B	25,8±0,27 ^C	0,998

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

G' , módulo elástico o de almacenamiento; G'' , módulo viscoso o de pérdida; $\tan \delta$, tangente o factor de pérdida (= G''/G').

G^* , módulo complejo = $[(G')^2 + (G'')^2]^{0,5}$; modelo “gel débil”: $|G^*| = ((G'(f))^2 + (G''(f))^2)^{1/2} = A f^{1/z}$, donde f es la frecuencia expresada en Hz; z es la extensión de la red, relacionada con el número de unidades reológicas que interaccionan en la red tridimensional, y A es la resistencia de las interacciones; R^2 = coeficiente de determinación del ajuste.

^{A-G} Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$).

A su vez, en la Tabla 3 se presentan los valores de G' , G'' y $\tan \delta$ correspondientes a una frecuencia de 1Hz (intermedia en el intervalo de frecuencias aplicado), para diferentes margarinas formuladas y seleccionadas. La margarina F14 presentó el valor más elevado del módulo elástico, aunque un valor del factor de pérdida significativamente inferior al de F0. Sin embargo, F0 exhibió los valores más elevados tanto de G'' como de $\tan \delta$, lo que nuevamente reflejaría el más bajo grado de solidez del control F0. Por ejemplo, F15 tuvo un valor de G' solo algo inferior al correspondiente a F0, pero su valor de G'' fue 58 veces más pequeño que el del preparado graso control. Además, el valor de G'' en F0' fue significativamente inferior al de F0 e igual que el de F17 (Tabla 3). Hay que destacar que ambas F0' y F17 fueron realizadas bajo las mismas condiciones, con un enfriamiento de 1 h en hielo, seguido de 1 h a 4 °C en refrigerador, y finalmente a T^a ambiente.

Las emulsiones estructuradas se pueden describir como sistemas débiles, como consecuencia del desarrollo de una red tridimensionalidad de moléculas y cristales de grasa con "unidades" reológicas conectadas débilmente (40). En estos casos, la FO estructurada atrapa el aceite y las gotas de agua, produciendo una emulsión W/O estable.

Dada la tendencia lineal observada en los espectros mecánicos log-log para ambos módulos (Figura 3, Anexo III), los datos reológicos se pueden interpretar a través del modelo de "gel débil" propuesto por Gabriele y col. (41). Los resultados obtenidos de estos ajustes se muestran asimismo en la Tabla 3. Un valor elevado de A indicaría un incremento de las fuerzas de interacción dentro de la red, mientras que un valor alto de z indica una gran cantidad de unidades interaccionando y, por tanto, aumentando la conectividad de la misma (40,42). A 20 °C, la margarina F14 que fue cristalizada a velocidad más lenta que F16, tuvo valores de A y z significativamente superiores, a los del resto de las margarinas formuladas y a los del control F0, lo que indicaría una resistencia de las interacciones en la red y un grado de cristalización, muy superiores en esta margarina. Sin embargo, el valor de z obtenido para F0 fue muy inferior al resto de las margarinas formuladas. En margarinas, otros autores han aportado un valor para A de $43000 \pm 200\text{Pa}$, el cual es muy inferior al valor obtenido en este TFG para todas las formulaciones presentadas en la Tabla 3 (42). Sin embargo, el valor de z de esa margarina fue bastante similar al obtenido en F0 ($14,0 \pm 0,6$). El valor más bajo de z correspondiente a F0, es consecuencia de que los valores de G' y G'' en el preparado graso control, son más dependientes de la frecuencia aplicada que en el resto de las margarinas formuladas, lo que se traduce en una menor conectividad entre las entidades cristalinas presentes en la red tridimensional.

4.1.4 Ensayos de barrido de temperatura (*Temperature sweeps*)

Los ensayos en barrido de T^a del procesado graso F0, de la mantequilla comercial, y de diferentes margarinas formuladas se realizaron siempre entre 10 y 50 °C, y a una velocidad de calentamiento de 1°C/min. A su vez, en la Tabla 4, se presentan las temperaturas de cruce de los módulos viscoelásticos, obtenidas para cada una de las margarinas formuladas y seleccionadas para ser comparadas con F0. Los valores de G' y G'' son ligeramente superiores a 10 °C, en respuesta a la cristalización más completa que presentan los cristales de grasa a baja T^a , y los módulos viscoelásticos van disminuyendo gradualmente con el incremento de la T^a hasta que, aproximadamente, entre 35 y 41°C se produce el cruce de G' y G'' (Figura 4, Anexo III). No obstante, en la mantequilla comercial, la T^a de cruce de G' y G'' fue muy inferior, y tan solo de 30 °C (Tabla 2, Anexo IV). Este resultado reflejaría que la mantequilla comercial presenta una red cristalina que, aunque parece ser más densa que la de las margarinas (con valores iniciales de G' y G''

superiores), estaría constituida por diferentes polimorfos constituidos por AG diferentes y, por tanto, con una organización distinta (43).

En cualquier caso, en todas las muestras el cruce de ambos módulos tiene lugar como consecuencia de la fusión de los cristales de grasa presentes en la red tridimensional, y en el momento en que se produce este cruce, todas las muestras dejan de exhibir un comportamiento reológico característico de un sólido, para exhibir un comportamiento como líquido ($G'' > G'$). El cruce entre G' y G'' se produjo en 41,0 °C en F0 (Tabla 4), y en las margarinas F11, F12 y F13 se obtuvieron temperaturas de cruce significativamente iguales a la correspondiente a F0. F11, F12 y F13 se formularon con la misma FA (Tabla 1, Anexo II), aunque F11 contenía menos AOO (37%) que F12 y F13 (40%) en la FO. Sin embargo, la formulación de F11 incluía cera de abeja (3%) y Verol N90 (0,83%), en vez del emulgente Palsgaard 6111 (0,83%) que estuvo presente en F12 y F13. Por otra parte, hay que destacar que F0' exhibió una T^a de fusión mucho más baja que F0.

Tabla 4: Temperatura a la que se cruzan los valores G' y G'' en calentamientos realizados entre 10 y 50 °C correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un procesado graso comercial (F0).

Formulación	Temperatura cruce (°C)
F0	41,0±0,16 ^A
F0'	34,8±0,34 ^G
F6	37,5±1,9 ^{D-F}
F8	38,4±0,72 ^{C-F}
F9	35,6±1,2 ^{F,G}
F10	38,7±0,92 ^{C-E}
F11	40,6±0,56 ^{A,B}
F12	39,6±0,20 ^{A-C}
F13	40,0±0,22 ^{A-C}
F14	39,1±0,035 ^{B-D}
F15	37,2±0,89 ^{E,F}
F16	38,8±0,0071 ^{C-E}
F17	36,8±0,52 ^F

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

^{A-G} Diferentes letras indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados similares fueron obtenidos por Lupi y col. (40) en una margarina comercial, aunque realizando los barridos de T^a en sentido inverso desde 70 hasta 20 °C, y utilizando dos velocidades diferentes de enfriamiento (1 y 5 °C/min). Estos autores observaron que, a temperaturas superiores a 42 °C, la margarina mostraba un comportamiento líquido, mientras que a temperaturas inferiores la margarina exhibía un comportamiento sólido, como también evidenciado por una fuerte disminución de la $\tan \delta$ y el incremento de G^* . Por otra parte, y de acuerdo con Fomuso y Akoh (44), esta T^a correspondiente a la fusión

estructural de la grasa obtenida mediante ensayos dinámicos, se puede utilizar para predecir la fusión percibida en mantequilla por el consumidor. Finalmente, con respecto al efecto de la velocidad de cristalización, al comparar F14 con F16, y F15 con F17, se observa que F14 y F15 tuvieron temperaturas de fusión mayores que F16 y F17, y más próximas a la de F0 (Tabla 4), indicando que la cristalización inicial a una velocidad lenta parece ser más adecuada que a velocidad más rápida.

4.2 Parámetros texturales de las margarinas

4.2.1 Ensayos de penetración para la medida instrumental de la textura de las margarinas

En la Figura 5 (Anexo III), se presentan ejemplos de las curvas fuerza vs. distancia obtenidas en distintas margarinas formuladas, en la mantequilla comercial, y en el preparado graso comercial (F0). Puede apreciarse que las curvas generadas por cada tipo de ensayo de penetración son muy distintas. Al realizar la penetración con el punzón plano P/4 (Figura 5a), F0 muestra un perfil fuerza-distancia con un pico de fractura inicial solo ligeramente definido, y no se aprecian otros picos de fuerza cuando la sonda deforma la muestra, lo que indica que F0 presenta una estructura con una plasticidad muy elevada (45). Además, la fuerza máxima de penetración se alcanza aproximadamente a los 5 mm, y no coincide con la fuerza en 10 mm.

Sin embargo, en F14, se aprecia como la muestra presenta una prominente fuerza de fractura inicial, que se alcanzaba casi de forma instantánea al inicio del ensayo, y es posible visualizar algún otro pico de fuerza en el perfil, que indicaría que la margarina presentaba fracturabilidad y, por tanto, su deformación también indujo la rotura de algunos cristales β formados en ella (9). Por otra parte, en F14, la fuerza máxima sí que coincide con la fuerza al final del ensayo. Si una margarina es quebradiza, la curva fuerza-deformación o fuerza-tiempo es dentada, y estas irregularidades se deben al carácter quebradizo del material (45). Por lo tanto, la composición y condiciones de procesado de las margarinas formuladas con AOO, deberían permitir obtener un perfil fuerza-distancia lo más similar posible al obtenido para F0. A su vez, y también para F14, al realizar la penetración cónica (Figura 5b, Anexo III), la fuerza aumentaba linealmente en función del tiempo y la distancia recorrida por la sonda, pero se observan picos de fuerza indicativos de la ruptura de las entidades cristalinas, y que asimismo reflejan su carácter quebradizo. Por el contrario, en F0, el perfil fuerza-distancia de la penetración cónica no

presenta picos de fuerza, y se incrementa de forma proporcional a la distancia recorrida por la sonda, alcanzándose la fuerza máxima al final del ensayo, y siendo superior a la obtenida en el resto de las margarinas ensayadas. Para imitar la textura de F0, las margarinas formuladas deberían presentar un perfil fuerza-distancia similar al del control.

Para las distintas margarinas formuladas y seleccionadas, los parámetros texturales derivados del ensayo de penetración realizado con el punzón P/4 se muestran en la Tabla 5, mientras que los asociados con la penetración cónica se presentan en la Tabla 6.

Tabla 5: Parámetros texturales derivados de un ensayo de penetración realizado con sonda P/4 a 20 °C correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un preparado graso comercial (F0).

Formulación	Fuerza en 10 mm (N)	Fuerza máxima (N)	ABC (mJ)
F0	2,85±0,055 ^{B,C}	3,21±0,013 ^E	29,2±0,36 ^D
F0'	2,59±0,094 ^{B-D}	4,62±0,19 ^B	30,8±0,73 ^{C,D}
F8	1,74±0,034 ^{E,F}	2,13±0,056 ^F	16,3±0,26 ^F
F10	4,01±0,10 ^A	4,01±0,11 ^{C,D}	33,4±0,49 ^B
F11	4,03±0,14 ^A	4,22±0,14 ^C	31,5±0,49 ^{B,C}
F12	2,12±0,061 ^{D,E}	2,12±0,061 ^F	14,4±0,21 ^{F,G}
F14	2,38±0,043 ^{C,D}	3,70±0,13 ^D	20,9±0,32 ^E
F15	1,46±0,039 ^F	1,46±0,039 ^G	11,5±0,51 ^H
F16	2,89±0,38 ^B	5,78±0,13 ^A	38,4±1,5 ^A
F17	1,71±0,051 ^{E,F}	1,71±0,051 ^G	13,4±0,43 ^{G,H}

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

ABC, área bajo la curva fuerza vs. distancia.

^{A-H} Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$).

La fuerza en 10 mm correspondiente a las muestras F10 y F11 fue significativamente más elevada que la obtenida para F0 (Tabla 5), lo que reflejaría que la dureza o consistencia de estas margarinas podría ser excesiva para un manejo adecuado y la lubricación apropiada de la mezcla de ingredientes presentes en las masas de hojaldre. Sin embargo, no había diferencias significativas entre los valores de la fuerza en 10mm correspondientes a F0, F0', F14 y F16. Entre estas últimas, F16 tuvo una fuerza máxima superior, si bien en las cuatro muestras la fuerza máxima fue superior a la fuerza en 10mm, lo que indicaría un comportamiento frente a la deformación bastante similar. Puede observarse como, por el contrario, en F10, F12, F15 y F17, los valores de la fuerza máxima coinciden con los de la fuerza en 10 mm y, por lo tanto, en estas muestras la fuerza máxima coincidió con la fuerza en el final del ensayo (en 10 mm). Sin embargo, el área bajo la curva fuerza-distancia (ABC) o trabajo de penetración más elevado también se obtuvo para F16, y aunque había diferencias significativas, el valor correspondiente a F0 es bastante similar a los obtenidos para las muestras F10 y F11.

Tabla 6: Parámetros texturales derivados de un ensayo de penetración realizado con sonda cónica a 20 °C correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un preparado graso comercial (F0).

Formulación	Fuerza en 10 mm (N)	ABC (mJ)
F0	15,6±0,41 ^{B,C}	55,8±2,4 ^C
F0'	16,6±0,41 ^B	71,6±0,77 ^{A,B}
F8	12,4±0,13 ^D	53,2±0,72 ^C
F10	20,7±0,26 ^A	78,0±1,5 ^A
F11	16,2±0,29 ^{B,C}	68,8±0,41 ^{A,B}
F12	9,72±0,64 ^E	37,0±2,1 ^D
F14	14,8±0,55 ^C	63,4±4,2 ^{B,C}
F15	6,78±0,22 ^F	27,6±0,91 ^D
F16	19,9±0,50 ^A	75,7±7,2 ^A
F17	8,30±0,24 ^E	34,7±0,86 ^D

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

ABC, área bajo la curva fuerza vs. distancia.

^{A-F}Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0.05$).

A su vez, la fuerza máxima derivada del ensayo de penetración cónica, que en este caso sí que coincidía con la fuerza en 10 mm (Figura 5b, Anexo III), es una medida de la firmeza de la margarina, mientras que el área bajo la curva (ABC) o trabajo de penetración derivado de este ensayo puede considerarse como una medida de la extensibilidad de productos untables, tales como margarinas y patés (46). A 20 °C, la firmeza del preparado graso control F0 (Tabla 6), fue similar a la de F0', F11 y F14, mientras que la extensibilidad de F0 fue asimismo similar a la de F8 y F14. Sin embargo, tal y como se ha mencionado anteriormente, F14 exhibió algunos picos de fuerza (Figura 5b, Anexo III) y, por lo tanto, sería demasiado quebradiza, mientras que, por el contrario, F8 no exhibió picos de fuerza durante su penetración, en respuesta a una plasticidad más adecuada y similar a la de F0. De acuerdo con Lupi y col. (2011a), la dureza/firmeza de las margarinas está asociada con una T^a alta de fusión de las GS que están presentes en su FO, y cuya organización en agregados de cristales forma una estructura ordenada interactuante que rodea y estabiliza las gotitas de agua (40). No obstante, puesto que el objetivo final de estas margarinas formuladas con AOO es estudiar su viabilidad para ser incorporadas en masas de hojaldre, resulta igualmente necesario evaluar el comportamiento de las margarinas en las masas, así como analizar y medir la textura de los hojaldres finales horneados.

4.3 Correlaciones entre propiedades reológicas y de textura de las margarinas

En la Tabla 7, se muestran las correlaciones establecidas entre las propiedades reológicas y texturales determinadas en las margarinas formuladas y en F0. Las correlaciones se han establecido entre las medidas correspondientes a las 10 margarinas cuyas propiedades reológicas y texturales se compararon estadísticamente ($n = 30$). Entre propiedades y parámetros reológicos, la significación de algunas correlaciones era esperable. Por ejemplo, G' en 1 Hz presentó una correlación positiva significativa ($r = 0,998$) con el parámetro A (resistencia de las interacciones en las margarinas), lo que se debe a que el modelo de “gel débil” se ajusta con los valores del G^* , y siempre dentro del LVR, por lo que estos valores de G^* están dominados por G' y, por tanto, son prácticamente iguales entre sí. En adición, G' en 1 Hz también estuvo positivamente correlacionado con σ_{\max} y G^*_{\max} . Asimismo, G'' en 1 Hz estuvo positivamente correlacionado con la $\tan \delta$ en 1 Hz y la $\tan \delta_{\max}$ (que limita el LVR), lo que es lógico dado que la viscoelasticidad ($\tan \delta$), se calcula como el cociente entre G'' y G' . Por tanto, al incrementarse el valor de G'' , se incrementa el valor de la $\tan \delta$, y disminuye la viscoelasticidad de la margarina. Además, G'' estuvo negativamente correlacionado con el número z derivado del modelo de “gel débil”, lo que evidencia que cuanto más elevada es la viscosidad de la margarina, menor es la conectividad de las interacciones en su red tridimensional. En adición, G'' también estuvo positiva y significativamente correlacionado con la T^a de cruce de G' y G'' , lo que refleja que, al incrementarse la componente viscosa de la margarina, se incrementa su T^a de fusión. Finalmente, G'' también exhibió una correlación positiva con los parámetros texturales fuerza en 10 mm y trabajo de la penetración realizada con el punzón P/4, mientras que G' no correlacionó con los parámetros texturales de las margarinas. A raíz del significado de las distintas propiedades reológicas, la $\tan \delta$ en 1 Hz también mostró correlaciones positivas con la $\tan \delta_{\max}$, y la fuerza en 10 mm y trabajo derivados de la penetración (P/4), y una correlación negativa, muy significativa, con el parámetro z . Asimismo, z exhibió una correlación negativa con los tres parámetros de la penetración (P/4). Por tanto, a mayor número de interacciones entre los cristales de grasa de la margarina, mayor es su viscoelasticidad, e inferior su viscosidad y propiedades texturales.

Tabla 7: Correlaciones de Pearson establecidas entre las propiedades y parámetros reológicos y los parámetros mecánicos de textura determinados en las margarinas.

	G'	G''	Tan δ	A	z	σ_{\max}	γ_{\max}	G^*_{\max}	Tan δ_{\max}	T ^a cruce G'/G''	Fuerza 10 (PP)	Fuerza max (PP)	Trabajo (PP)	Fuerza 10 (PC)	Trabajo (PC)
G'	1,000	0,197	-0,312	0,998**	0,347	0,525**	0,197	0,728**	-0,291	0,236	0,144	-0,093	-0,175	-0,015	0,058
G''		1,000	0,866**	0,203	-0,807**	0,356	0,279	0,238	0,821**	0,425*	0,607**	0,280	0,507**	0,021	-0,064
Tan δ			1,000	-0,304	-0,948**	0,076	0,157	-0,115	0,951**	0,286	0,490**	0,336	0,584**	0,072	-0,048
A				1,000	0,347	0,536**	0,208	0,738**	-0,287	0,266	0,141	-0,103	-0,184	-0,008	0,061
z					1,000	-0,131	-0,245	0,149	-0,890**	-0,153	-0,609**	-0,435*	-0,689**	-0,095	-0,005
σ_{\max}						1,000	0,793**	0,645**	0,032	0,585**	0,519**	0,044	0,125	0,318	0,399*
γ_{\max}							1,000	0,110	0,203	0,483**	0,341	-0,055	0,061	0,348	0,405*
G^*_{\max}								1,000	-0,209	0,361*	0,359	0,146	0,102	0,137	0,203
Tan δ_{\max}									1,000	0,260	0,328	0,213	0,449*	0,065	-0,056
T ^a cruce G'/G''										1,000	0,226	-0,277	-0,126	-0,010	-0,066
Fuerza 10 (PP)											1,000	0,692**	0,817**	0,128	0,112
Fuerza max (PP)												1,000	0,937**	0,358	0,342
Trabajo (PP)													1,000	0,340	0,292
Fuerza 10 (PC)														1,000	0,966**
Trabajo (PC)															1,000

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* . La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

4.4 Estructura microscópica de las margarinas formuladas

En la Figura 6 (Anexo III), se incluyen imágenes obtenidas mediante microscopía con luz polarizada, correspondientes a la estructura cristalina del preparado graso F0 (Figura 6A), la mantequilla comercial (Figura 6B), y las margarinas F13, F15, F16 y F17, formuladas en el laboratorio (Figura 6C-6F). Aunque no es posible identificar el tipo de polimorfos o formas cristalinas que están presentes, sí que se aprecia que la red cristalina de todas las muestras está constituida por una mezcla homogénea y densa de pequeños cristales similares a plaquetas, humedecidos por una gran cantidad de aceite líquido, y que, en principio, podrían corresponder a la forma β' , de acuerdo con otros autores (9,11). En adición, en ninguna margarina se observan cristales granulares ni agregados esféricos de mayor tamaño. La presencia de estos cristales granulares afecta negativamente a la calidad de las margarinas, dado que pueden resultar en una granulosidad apreciable por el consumidor (11), aunque este crecimiento de cristales ocurre principalmente durante la conservación y/o maduración de la margarina a 5 °C. En la Figura 6, no se aprecian diferencias importantes en la apariencia de la microestructura correspondiente a las muestras F0, F13, F15, F16 y F17, aunque de acuerdo con los resultados reológicos la conectividad de las interacciones presentes en la red tridimensional correspondiente a F0 debería de ser menor (valor significativamente inferior del parámetro z , Tabla 3), en comparación con el resto de las margarinas. Por el contrario, sí que es posible apreciar que la mantequilla exhibe una red de cristales de grasa más fina y menos densa (Figura 6B), y está constituida por cristales de grasa de un tamaño inferior a los que se observan en las margarinas. Este resultado, se atribuye a la composición lipídica de origen lácteo de la mantequilla. En cualquier caso, aunque diferentes formas cristalinas primarias de los TG (α , β' y β) pueden estar presentes en la estructura de las margarinas, sería necesario llevar a cabo otro tipo de análisis, como la difracción por rayos X, para poder discernir el tipo de polimorfos que predominan, tanto en las margarinas como en F0 (9).

4.5 Determinación del comportamiento térmico de las margarinas mediante DSC

Los comportamientos de cristalización y fusión se analizaron para el preparado graso control F0, su homólogo F0' (fundido y recristalizado en el laboratorio), la mantequilla comercial y la estearina, y las margarinas F15, F16 y F17. En la Figura 7a (Anexo III), se muestran ejemplos de termogramas de enfriamiento correspondientes a la estearina, F0, F0' y F15. Se aprecia como los perfiles de la estearina, F0 y F0', fueron muy similares, y

exhibieron dos picos claramente diferenciados. Se observa un primer pico a baja T^a , por encima de 0 °C, y un segundo pico mayor, que se localiza por encima de 30 °C en el caso de la estearina, y entre 20 y 30 °C en F0 y F0'. Además, aunque F15 no exhibió el primer pico de cristalización de forma tan clara, sí que mostró también un pico muy definido entre 20 y 30 °C. La estearina está constituida por aceites y grasas vegetales (palma), responsables del comportamiento térmico que exhibe. Más concretamente, el segundo pico más alto, sería atribuible a la fracción sólida, es decir, a la grasa de palma y los TG saturados (33), y la similitud del perfil térmico de F0 y F0' con el de la estearina, sería atribuible a su contenido elevado en aceites y grasas vegetales, entre los que se encuentra la palma. A su vez, el pico exotérmico detectado en el perfil de F15, notoriamente inferior y más pequeño que el observado en la estearina, sería también atribuible a la presencia de un 25% de estearina en su formulación (Tabla 1, Anexo II).

En la Figura 7b (Anexo III), se muestra el termograma completo correspondiente a una muestra de F0, incluyendo, por tanto, el calentamiento. En el perfil de fusión de F0, se aprecian dos picos endotérmicos, el primero entre 0 y 10 °C, y el segundo entre 40 y 50 °C. Además, ambos picos endotérmicos están separados por un pico exotérmico intermedio, entre 15 y 20 °C, corroborando estudios previos (33,47). En adición, también es posible apreciar un tercer pico más pequeño, alrededor de 50 °C, que sería atribuible a la presencia de grasa de palma (estearina) en su composición. A su vez, el primer pico endotérmico detectado en F0 estaría asociado con la fracción líquida (oleína) y TG no saturados, mientras que el segundo pico (entre 40 y 50 °C), sería atribuible a la fracción sólida y TG saturados (33,47). Además, la presencia de un pico fino alrededor de 5 °C, indicaría la existencia de cristales β' (9), que son deseables porque confieren a la margarina una consistencia homogénea, brillo, color y cremosidad. Como ya se ha mencionado, la composición de los TG de la grasa es responsable de la diversidad de estructuras polimórficas presentes en las margarinas, siendo los cristales principales y más estables del tipo α , β' y β (48). A su vez, la estabilidad termodinámica de los tres principales polimorfos disminuye en el orden $\beta > \beta' > \alpha$, aunque la FO de una margarina debería preferentemente cristalizar en la forma β' , dado que esta forma confiere sensación de suavidad en boca, aporta dureza a la margarina final y, además, atrapa una gran cantidad de aceite líquido debido a su naturaleza esferulítica (49). A su vez, Garti y col. (1998) señalan que, en presencia de emulsionantes alimentarios, las margarinas son estabilizadas por submicrocristales de forma α (mezclados con la forma β') (50).

Las temperaturas de pico derivadas de los termogramas de cristalización y fusión, se muestran en la Tabla 8. Tanto en la estearina como en la mantequilla (Tabla 8), se detectaron dos temperaturas de pico en la cristalización, y tres en la fusión, aunque las temperaturas de ambas son muy diferentes entre sí. En comparación con las margarinas, cabría destacar las bajas temperaturas de fusión de la mantequilla, que se asocian con su contenido elevado en GS lácteas. A su vez, y en comparación con F0 y F0', en F15, F16 y F17 no se detectó el primer pico a baja T^a (T_{cp1}). Además, las T_{fp1} de F15, F16 y F17 son negativas, mientras que las de F0 y F0' son positivas. Puesto que la mantequilla presenta también una T_{fp1} negativa, este resultado podría deberse a la presencia de mantequilla (7,5 %) en las formulaciones F15, F16 y F17 (Tabla 1, Anexo II). Sin embargo, esta primera T^a de fusión negativa ha sido también asociada a la presencia de MG en la formulación de margarinas (33), y estos están también presentes en F15, F16 y F17, a través de la incorporación de Palsgaard 1311 (1,2%) en las mismas.

Tabla 8: Temperaturas de cristalización y fusión determinadas mediante DSC en distintas margarinas formuladas en comparación con un preparado graso comercial (F0), mantequilla comercial y estearina.

Formulación	T_{cp1} (°C)	T_{cp2} (°C)	T_{fp1} (°C)	T_{fp2} (°C)	T_{fp3} (°C)
Estearina*	2,77±0,38	34,4±0,12	8,29±0,19	44,9±0,11	54,9±0,26
Mantequilla*	9,56±0,96	15,6±0,25	-3,34±1,2	14,5±0,070	33,9±0,40
F0	1,67±0,31	24,9±1,3 ^B	5,95±0,20	42,9±0,33 ^A	-
F0'	1,79±0,12	24,5±0,33 ^B	6,63±0,14	43,1±0,16 ^A	-
F15	-	25,7±0,34 ^{A,B}	-9,30±0,66	41,7±0,13 ^B	-
F16	-	26,9±0,13 ^A	-6,50±1,9	42,1±0,11 ^B	-
F17	-	26,1±0,10 ^{A,B}	-7,53±0,64	41,8±0,15 ^B	-

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

T_{cp1} , T_{cp2} , temperaturas de pico detectadas durante la cristalización; T_{fp1} , T_{fp2} , T_{fp3} , temperaturas de pico detectadas durante la fusión. ^{A,B} Para cada temperatura, diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$).

*Muestras no incluidas en el análisis estadístico.

Por otra parte, las T_{cp2} de las margarinas fueron comparadas estadísticamente, y si bien, la T_{cp2} de F16 es significativamente mayor que las de F0 y F0', la diferencia es pequeña, y no existen diferencias significativas entre las T_{cp2} de F15, F17, F0 y F0'. Asimismo, aunque las temperaturas T_{fp2} correspondientes a F0 y F0' fueron significativamente superiores a las de las tres margarinas, las diferencias son muy pequeñas. Por tanto, los resultados obtenidos mediante DSC reflejarían que las margarinas formuladas presentan, al menos, algunas estructuras polimórficas de cristales de grasa muy similares a las que están presentes en el preparado graso comercial. Finalmente, hay que destacar que las temperaturas de cruce de G' y G'' , y obtenidas mediante barridos de temperatura (Tabla 4), fueron solo ligeramente inferiores a las T_{fp2} obtenidas mediante DSC, y siguieron la

misma tendencia entre ellas. Solo la T^a de cruce de F0' (34,8 °C), era notablemente inferior a su homóloga T_{fp2} (43,1 °C). Este resultado confirma que los barridos de temperatura pueden ser muy adecuados para estudiar la fusión de los cristales de grasa presentes en margarinas, mantequillas, chocolates untables, etc.

4.6 Perfil lipídico de las margarinas

El perfil lipídico de las margarinas seleccionadas (F16 y F17), del preparado graso (F0), y de la estearina y mantequilla comercial, se muestran en la Tabla 9. Puesto que la composición lipídica, principalmente de la mantequilla y la estearina, es muy diferente, los AG de las cinco muestras no se comparan mediante análisis estadístico. Mientras que, en la estearina y mantequilla, los AGS son los mayoritarios, en F0, F16 y F17, lo son los AGM. El alto contenido en AGS de la estearina (70%), se justifica por su elevadísimo contenido en ácido palmítico (61%), siendo también bastante alta la cantidad de ácido esteárico (7%). Sin embargo, en la mantequilla, la cantidad presente de C16:0 es muy inferior a la de la estearina (28%), bastante similar a la de F16 y F17 (29%), y algo superior a la de F0 (22%). Por tanto, hay que destacar que pese a que las margarinas formuladas contienen estearina en un porcentaje alto (25-29%, Tabla 1, Anexo II), así como otra mantequilla de mesa entre sus ingredientes (5-10%), su contenido en ácido palmítico es solo ligeramente más elevado que en F0. En la mantequilla comercial, en adición al C16:0 y C18:0, otros AG de cadena corta, además del ácido mirístico (9,5%), justifican su elevado contenido en AGS.

A su vez, el perfil lipídico de F0 es notablemente más saludable que el de la estearina y la mantequilla, con un contenido en ácido oleico superior al doble (39%), y muy similar al que contienen F16 y F17 (40 y 41%, respectivamente). En F16 y F17, su alto contenido en C18:1n9 es claramente atribuible al AOO presente en sus formulaciones. Además, respecto a la cantidad total de AGM presentes, las diferencias entre los contenidos correspondientes a F0, F16 y F17 son muy pequeñas, y las tres muestras presentan más del doble de AGM en su perfil lipídico, que la estearina y la mantequilla. En cuanto a los AGP, mientras que los porcentajes de ácido linoleico son superiores a un 7% en F0, F16 y F17, en la estearina y mantequilla, este ácido tan solo se encuentra en porcentajes aproximadamente del 4 y 1%, respectivamente, y el contenido de AGP en F0 es casi 5 veces superior al de la mantequilla. En consecuencia, el porcentaje de ácidos grasos

insaturados (AGI), es cercano al 50% en F0, F16 y F17, y muy superior al que se detecta en la mantequilla comercial (20%).

Tabla 9: Perfil de ácidos grasos correspondiente al preparado graso comercial (F0), dos margarinas formuladas en el laboratorio (F16 y F17), la estearina, y la mantequilla comercial para masas de hojaldre.

Ácidos grasos (mg AG/g muestra)	F0	F16	F17	Estearina	Mantequilla
Butírico C4:0	ND	0,816±0,033	0,810±0,017	ND	10,7±0,25
Caproico C6:0	ND	0,828±0,050	0,842±0,036	ND	11,4±0,23
Caprílico C8:0	ND	0,856±0,040	0,830±0,012	0,344±0,0045	9,0±0,12
Cáprico C10:0	ND	1,88±0,053	1,86±0,016	0,317±0,0055	22,4±0,26
Laúrico C12:0	0,359±0,011	3,70±0,088	3,58±0,052	3,60±0,012	30,2±0,32
Mirístico C14:0	3,22±0,066	11,4±0,042	11,3±0,074	10,5±0,028	94,5±1,1
Pentadecílico C15:0	0,238±0,017	1,15±0,0091	1,14±0,011	0,734±0,013	10,1±0,13
Palmítico C16:0	220±4,18	294±6,1	287±4,3	614±1,0	284±3,8
Margárico C17:0	0,652±0,035	1,15±0,024	1,14±0,019	1,24±0,0023	5,48±0,075
Esteárico C18:0	34,0±0,55	56,6±1,4	55,8±0,83	67,7±0,123	84,3±1,2
Araquídico C20:0	8,43±0,13	4,49±0,024	4,38±0,029	3,75±0,026	1,08±0,066
Behénico C22:0	4,96±0,024	6,19±0,26	5,41±0,17	0,755±0,034	0,46±0,0053
Lignocérico C24:0	5,81±0,16	0,838±0,058	0,826±0,031	0,739±0,027	ND
∑ AGS	278±5,9	384±7,5	375±5,2	704±1,1	563±7,5
Palmitoleico C16:1n7	4,40±0,094	5,34±0,15	5,48±0,15	0,579±0,0049	13,5±0,16
Vaccénico C18:1n7	11,5±0,26	11,5±0,27	11,9±0,40	3,06±0,099	3,87±0,072
Oleico C18:1n9	392±8,6	403±10	411±12	184±0,43	163±2,0
∑ AGM	408±8,9	419±11	428±13	188±0,49	180±2,2
Linoleico C18:2n6c	76,7±1,7	76,6±1,82	78,0±2,1	35,8±0,14	13,1±0,56
Linolénico C18:3n3	3,81±0,062	4,10±0,093	4,19±0,088	0,482±0,0047	3,69±0,095
∑ AGP	80,5±1,6	80,8±1,9	82,2±2,1	36,3±0,14	16,8±0,62
∑ AGM+∑ AGP	488	500	510	224	197

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar. ND, no detectado.

Estos resultados ponen en evidencia que un hojaldre que contenga entre los ingredientes de su masa, bien el preparado graso F0, o bien una de las margarinas formuladas (F16 o F17), presentará un perfil lipídico mucho más saludable para el consumidor, que el correspondiente al mismo hojaldre elaborado con la mantequilla.

4.7 Propiedades y parámetros texturales de los hojaldres finales horneados

Hay que hacer hincapié en que los resultados que se presentan correspondientes a la medida instrumental de la textura de los hojaldres finales deben ser considerados con precaución, dado que los diferentes horneados realizados también sirvieron para ir optimizando y mejorando las condiciones del horneado, es decir, para ir escogiendo la/s temperatura/s y tiempo/s más adecuados para su realización. Por tanto, no todos los hojaldres recibieron un proceso de horneado idéntico que permita una comparación final exhaustiva de los resultados, dado que, además, se utilizaron dos hornos diferentes. No

obstante, los resultados permiten analizar tendencias, y describir la estructura interna de los hojaldres a través de propiedades texturales.

4.7.1 Ensayos de “análisis de perfil de textura” (TPA) y corte con cuchilla para la medida instrumental de la textura de los hojaldres

En la Figura 8 (Anexo III) se presentan ejemplos de curvas fuerza vs. tiempo derivadas de los ensayos TPA y corte con cuchilla correspondientes a hojaldres finales horneados y elaborados con masas que contenían diferentes margarinas formuladas, en comparación con el hojaldre elaborado con el preparado graso (H0). Independientemente de su dureza, en todos los hojaldres se aprecia que los perfiles de fuerza correspondientes a la primera y segunda compresión del ensayo TPA son muy diferentes (Figura 8a). Las curvas correspondientes a la primera compresión son dentadas y exhiben diferentes picos de fuerza que se corresponden con la compresión y/o rotura de las distintas capas formadas tras la cocción de las masas. Este resultado refleja el carácter crujiente que presentan los distintos hojaldres horneados. Por el contrario, tras la primera compresión, y una vez comprimida cada pieza de hojaldre hasta un 30% de su altura, las curvas correspondientes a la segunda compresión son lisas y no presentan picos de fuerza. Asimismo, los perfiles fuerza-tiempo correspondientes al corte de los hojaldres ensayados presentaban numerosos picos de fuerza (forma dentada), que se producen a medida que la cuchilla avanza a través de la pieza de hojaldre, y va cortando las diferentes láminas u hojas finas formadas durante la cocción (Figura 8b). De acuerdo con otros autores, este ensayo imita el primer mordisco que realizaría un consumidor en la pieza de hojaldre, y puesto que la cuchilla es muy delgada y afilada, permite cortar la muestra sin apenas comprimirla (51).

A su vez, las propiedades texturales derivadas del ensayo TPA, se muestran en la Tabla 10. Estas propiedades también se midieron en todos los hojaldres que se presentan en la Tabla 6 (Anexo IV), aunque no se comparan estadísticamente porque, como se ha indicado, las condiciones de horneado no fueron exactamente las mismas. Es posible observar que en los cinco hojaldres comparados (Tabla 10), la fuerza máxima correspondiente a la segunda compresión es siempre ligeramente inferior a la correspondiente a la primera compresión (y designada como dureza). Los valores de dureza y fuerza 2 más elevados correspondieron al hojaldre H15, mientras que los inferiores se obtuvieron en el hojaldre elaborado con mantequilla comercial (HM). El hojaldre H0, elaborado con el preparado graso F0, tuvo valores de dureza y fuerza 2

intermedios entre los obtenidos para HM y H15; además, estos valores fueron similares a los correspondientes al hojaldre H13. La dureza de los distintos hojaldres es bastante similar a la aportada previamente, y determinada en hojaldres que contenían un 32% de diferentes grasas para laminar (margarinas sin palma y con palma, mantequilla y manteca de cerdo), y tras ser sometidos a un 25% de deformación (52).

Tabla 10: Propiedades texturales obtenidas a temperatura ambiente a partir de un ensayo de análisis de perfil de textura (TPA) correspondientes a hojaldres elaborados con diferentes margarinas formuladas en comparación con los elaborados a partir de un preparado graso comercial (H0) y de una mantequilla (HM).

Hojaldre	Dureza (N)	Fuerza 2 (N)	Elasticidad (-)	Cohesividad (-)	Masticabilidad (N)	Resiliencia (-)
H0	7,61±0,056 ^C	6,15±0,019 ^C	0,466±0,0064 ^A	0,179±0,014 ^B	0,635±0,053 ^B	0,0897±0,010 ^C
HM	4,38±0,16 ^D	3,28±0,35 ^D	0,607±0,078 ^A	0,276±0,023 ^B	0,739±0,027 ^B	0,126±0,025 ^{B,C}
H13	7,34±0,34 ^C	6,35±0,22 ^C	0,615±0,095 ^A	0,441±0,0061 ^A	1,98±0,19 ^A	0,212±0,0033 ^A
H15	16,9±0,50 ^A	14,6±0,45 ^A	0,634±0,034 ^A	0,284±0,038 ^B	2,01±0,16 ^A	0,132±0,0081 ^B
H17	9,33±0,077 ^B	8,22±0,022 ^B	0,729±0,020 ^A	0,306±0,010 ^B	2,09±0,11 ^A	0,145±0,012 ^B

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

La definición y cálculo de las diferentes propiedades puede consultarse en la Tabla 3 del Anexo II.

^{A-D} Diferentes letras indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$).

A pesar de que los valores correspondientes a la elasticidad de los hojaldres parecen muy distintos, esta propiedad exhibió una desviación estándar mayor y, por tanto, no había diferencias significativas en la recuperación de la altura que experimentó cada pieza de hojaldre después de su primera compresión. Asimismo, únicamente H13 exhibió una cohesividad superior a la del resto de los hojaldres comparados. Este resultado reflejaría que, en H13 (Figura 8a, Anexo III), el área bajo la curva de la segunda compresión es significativamente superior, en comparación al correspondiente a la primera compresión, al obtenido en el resto de los hojaldres comparados. De la misma forma, los hojaldres H0 y HM presentaron una masticabilidad inferior (Tabla 10). Puesto que esta propiedad representa la fuerza, el trabajo y la distancia necesarios para comprimir un producto, este resultado reflejaría que esta propiedad textural debería ser reducida en los hojaldres elaborados con margarinas formuladas en el laboratorio. Finalmente, H13 también exhibió una resiliencia más elevada, lo que también indicaría que este hojaldre tenía, tras la primera compresión, una capacidad mayor para recuperar su altura original que el resto de los hojaldres.

A su vez, los parámetros texturales derivados del ensayo de corte con cuchilla, se presentan en la Tabla 11. H13 presentó una fuerza máxima o pico de firmeza superior a la del resto de los hojaldres, y esta fuerza máxima representaría la fuerza necesaria para morder completamente una pieza de este producto (51). Análogamente, el mayor valor

de ABC correspondió al hojaldre H13, que representaría la firmeza total o cantidad total de trabajo necesario para cortar esta muestra. Sin embargo, H13 tuvo el menor número de picos de fuerza, lo que indicaría que tenía un carácter menos crujiente, o posiblemente presentaba menos capas que el resto de los hojaldres ensayados. Aunque el número de picos de fuerza de H0 fue muy superior al del resto de los hojaldres, y ello indicaría que era más crujiente, no había diferencias entre las fuerzas máximas y firmezas totales de H0, H15 y H17.

Tabla 11: Parámetros texturales derivados de un ensayo de corte con cuchilla correspondientes a hojaldres elaborados con diferentes margarinas formuladas en comparación con los elaborados a partir de un preparado graso comercial (H0) y de una mantequilla comercial (HM).

Hojaldre	Fuerza máxima (N)	ABC (N s)	Número de picos de fuerza
H0	5,87±0,58 ^B	19,1±1,8 ^B	35,0±2,0 ^A
HM	3,98±0,27 ^B	15,3±0,23 ^C	23,0±1,0 ^B
H13	13,3±2,5 ^A	26,4±0,85 ^A	15,0±1,0 ^C
H15	5,45±0,18 ^B	18,0±1,2 ^{B,C}	23,0±2,0 ^B
H17	5,17±0,50 ^B	19,3±2,2 ^B	23,0±1,0 ^B

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

ABC, Área bajo curva fuerza vs. tiempo

^{A-C} Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten extraer las siguientes conclusiones, en base a los objetivos que se plantearon inicialmente:

1. La investigación llevada a cabo ha permitido formular y elaborar margarinas conteniendo aceite de orujo de oliva (AOO) como ingrediente principal de su fase oleosa (FO). Para ello, se han formulado diecisiete margarinas distintas, con alto contenido en AOO (35,1-42,6%), escogiéndose distintas combinaciones y porcentajes de ingredientes lipídicos y agentes emulsificantes para su incorporación en la FO (80%). En adición, también se han modificado condiciones del procesado, tales como la temperatura y tiempo de emulsificación, y la velocidad de cristalización. Para evaluar la aptitud de las margarinas formuladas para ser incorporadas en masas de hojaldre, se han determinado sus propiedades reológicas, texturales, térmicas, estructurales, y el perfil lipídico, y se han comparado con las correspondientes a un preparado graso y una mantequilla comerciales para masas de hojaldre.
2. Todas las margarinas formuladas exhibieron un comportamiento reológico de “gel débil”, con valores del módulo elástico (G') por encima de los del módulo viscoso (G''). En este TFG, se han obtenido margarinas con una elasticidad (en 1Hz) inferior, similar y superior a la del preparado graso comercial, y es relativamente factible reproducir esta elasticidad en una frecuencia constante, modificando la composición y las condiciones de procesado. Sin embargo, lo que resulta muy complejo, es formular una margarina cuya elasticidad presente una dependencia de la frecuencia similar a la del preparado graso, por lo que en futuras formulaciones debería incrementarse esta dependencia, lo que también repercutirá positivamente en una mayor plasticidad.
3. Del mismo modo, la estructura de agregados de cristales de grasa de todas las margarinas formuladas presentaba una viscosidad inferior y una viscoelasticidad superior a las del preparado graso comercial. La viscoelasticidad de la margarina parece ser una propiedad reológica determinante de su plasticidad, y muy difícil de modificar. Por tanto, para mejorar la plasticidad de la margarina, y reproducir más fehacientemente la temperatura de fusión del preparado graso, las formulaciones futuras deben ir encaminadas a incrementar la viscosidad ($\gg G''$), disminuyendo así su viscoelasticidad ($\gg \tan \delta$). Este incremento de la plasticidad implica que las interacciones en la red de cristales de grasa deberían de ser más débiles, y en este

sentido, la cristalización de la emulsión parece ser un factor determinante, dado que afecta principalmente a la viscosidad.

4. Las temperaturas de cristalización y fusión obtenidas mediante DSC reflejan que las margarinas formuladas presentan algunas estructuras polimórficas de cristales de grasa similares a las del preparado graso comercial. Sin embargo, las margarinas formuladas en el laboratorio carecen de un primer pico de cristalización, y exhiben una primera temperatura de fusión negativa, por lo que resulta también necesario en futuras formulaciones que la primera temperatura de fusión se aproxime a 5 °C, y que se formen más cristales β' asociados con una elevada plasticidad.
5. Pese a todo, los hojaldres finales horneados, y elaborados a partir de masas que incorporaron las margarinas formuladas, presentaron una dureza, elasticidad y un carácter crujiente y/o número de capas, muy similares a los de los hojaldres elaborados con el preparado graso o la mantequilla comerciales para masas de hojaldre.
6. En adición, y desde el punto de vista nutricional, las margarinas formuladas y seleccionadas, así como el preparado graso, presentaron un perfil lipídico muy similar, y más saludable que la mantequilla comercial para masas de hojaldre. Esta mejora, se manifiesta en una reducción del contenido de AGS, y en un incremento de los AGI. El preparado graso y las margarinas formuladas contienen respectivamente un 50 y un 32% menos de GS, y presentan aproximadamente un 60% más de AGI que la mantequilla comercial. Por tanto, cualquier hojaldre que contenga entre los ingredientes de su masa alguna de las margarinas formuladas, presentaría un perfil lipídico mucho más saludable, y acorde con las recomendaciones actuales de salud establecidas por distintos organismos.
7. Los resultados de este TFG han puesto de manifiesto la viabilidad tecnológica del AOO para elaborar margarinas dirigidas a ser incorporadas en masas de hojaldre. No obstante, y como se ha señalado, todavía son necesarias algunas mejoras en la formulación y/o condiciones de procesado, para tratar de reproducir e imitar de forma más exacta todas las propiedades reológicas, texturales y térmicas de la estructura polimórfica del preparado graso comercial y, en consecuencia, las propiedades tecnológicas requeridas para su uso en masas de hojaldre.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mensink RP, Zock PL, Kester ADM, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: A meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77(5):55–1146.
2. Dassanayake L, Kodali D, Ueno S. Formation of oleogels based on edible lipid materials. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2011; 16(5):432–9.
3. Peris M, Rubio-Arreaez S, Castelló M, Ortolá M. From the laboratory to the kitchen: New alternatives to healthier bakery products. *Foods.* 2019; 8(12):1–27.
4. Rohm H, Schäper C, Zahn S. Interesterified fats in chocolate and bakery products: A concise review. *LWT- Food Sci Technol.* 2018; 87:379-384.
5. Patel A, Cludts N, bin Sintang M, Lewille B, Lesaffer A, Dewettinck K. Polysaccharide-based oleogels prepared with an emulsion-templated approach. *ChemPhysChem.* 2014; 15(16):3435–3439.
6. Muñoz Retana C. GeoSalud [Internet]. ¿Qué son los lípidos y para qué sirven? 2019 [cited 2022 May 6]. Available from: <https://www.geosalud.com/nutricion/tipos-de-lipidos>.
7. Zetzl A, Marangoni A, Barbut S. Mechanical properties of ethylcellulose oleogels and their potential for saturated fat reduction in frankfurters. *Food Funct.* 2012; 2(3):37–327.
8. Jiménez-Colmenero F. Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends Food Sci Technol.* 2007; 18(11):567-578.
9. Salas Sotaminga Y, Tapia I, Garzón M. Cristalización y Plastificación de Margarina Industrial para Panificación. *Química Central.* 2011; 2(1):39-47.
10. Trujillo J. DAP [Internet]. Qué es la margarina. [cited 2022 May 6]. Available from: <https://www.directoalpaladar.com/cultura-gastronomica/que-es-la-margarina>.
11. Nguyen V, Rimaux T, Truong V, Dewettinck K, van Bockstaele F. The effect of cooling on crystallization and physico-chemical properties of puff pastry shortening made of palm oil and anhydrous milk fat blends. *J Food Eng.* 2021; 291, 110245.

12. Chen CE, Lai OM, Ghazali H, Chong CL. Isothermal crystallization kinetics of refined palm oil. *J Am Oil Chem Soc.* 2002; 79:403–410.
13. Graef DV, Dewettinck K, Verbeken D, Foubert I. Rheological behavior of crystallizing palm oil. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2006; 108(10):864–870.
14. Eveline F, Davy Van de Walle, Walstra P, Dewttinck K, van der Meeren P, Fischer J. Isothermal crystallization behaviour of milk fat in bulk and emulsified state. *Int Dairy J.* 2011; 21(9):685–95.
15. Hwang HS, Singh M, Bakota EL, Winkler-Moser JK, Kim S, Liu SX. Margarine from organogels of plant wax and soybean oil. *J Am Oil Chem Soc.* 2013; 90(11):1705–1712.
16. Hwang HS, Singh M, Winkler-Moser JK, Bakota EL, Liu SX. Preparation of margarines from organogels of sunflower wax and vegetable oils. *J Food Sci.* 2014 Oct 1; 79(10):C1926–32.
17. Hwang HS, Winkler-Moser JK. Properties of margarines prepared from soybean oil oleogels with mixtures of candelilla wax and beeswax. *J Food Sci.* 2020; 85(10):3293–302.
18. de la Horra AE, Barrera GN, Steffolani EM, Ribotta PD, León AE. Relationships between structural fat properties with sensory, physical and textural attributes of yeast-leavened laminated salty baked product. *J Food Sci Technol.* 2017; 54(9):2613–25.
19. Medinilla M. El Economista. La cara oculta del precio del aceite de palma, un mercado peligroso para la salud [Internet]. 2017 Apr 7 [cited 2022 May 6]; Available from: <https://www.economista.es/noticias/noticias/8280504/04/17/La-cara-oculta-del-precio-del-aceite-de-palma-un-mercado-nocivo-para-salud-y-medio-ambiente.html>
20. OCU [Internet]. Aceite de palma: Todo lo que debes saber. 2022 [cited 2022 May 6]. Available from: <https://www.ocu.org/alimentacion/alimentos/informe/aceite-de-palma>
21. Kadandale S, Marten R, Smith R. The palm oil industry and noncommunicable diseases. *Bull World Health Organ.* 2019; 97(2):118–128.

22. ¿Qué es el aceite de orujo de oliva? [Internet]. Aceite de las Valdesas. [cited 2022 May 6]. Available from: <https://www.aceitedelasvaldesas.com/faq/origen-elaboracion-clasificacion-aceite-oliva/aceite-de-orujo/>
23. Interprofesional del aceite de orujo de oliva. ORIVA [Internet]. ¿Qué es el aceite de orujo de oliva? [cited 2022 May 6]. Available from: <https://oriva.es/el-aceite-de-orujo-de-oliva/>
24. Malkin AY, Isayev A. Introduction: Rheology: Subject and Goals. En *Rheology (Third Edition), Concepts, Methods, and Application*, ChemTec Publishing, 2017;1–8.
25. Ramírez Navas JS. *Fundamentos de reología de alimentos*. Cali, Valle, Colombia: JSR E-Books. 2006.
26. Sahin S, Sumnu SG. *Physical properties of foods*. Food Science Text Series, Springer Science & Business Media; 2006.
27. Steffe JF. *Rheological methods in food process engineering (2nd ed)*. Freeman Press, USA; 1996.
28. Mezger TG. *The Rheology Handbook. For users of rotational and oscillatory rheometers (2nd ed)*. Vincentz Network, Hanover, Germany; 2006.
29. Arocas MD. Efectos del procesamiento, congelación y recalentamiento en la calidad de salsas blancas elaboradas con distintos almidones. Tesis doctoral, Universitat Politècnica de València (España); 2011.
30. Herranza B, Tovar CA, Solo-de-Zaldívar B, Borderias A. Effect of alkalis on konjac glucomannan gels for use as potential gelling agents in restructured seafood products. *Food Hydrocoll*. 2012; 27(1):145–53.
31. Yilmaz B, Agagunduz D. Fractionated palm oils: emerging roles in the food industry and possible cardiovascular effects. *Critical Reviews Food Sci Nutr*. 2021;62(7):1990–8.
32. Demirkesen I, Mert B. Utilization of beeswax oleogel-shortening mixtures in gluten-free bakery products. *J Am Oil Chem Soc*. 2019; 96(5):545-554.
33. Saadi S, Azis Ariffina A, Mohd Ghazalia H, Mat Sahri M, Chern Boo H, Abdulkarima M. Application of differential scanning calorimetry (DSC), HPLC and pNMR for interpretation primary crystallisation caused by combined low and high melting TAGs. *Food Chem*. 2012; 132(1):603–612.

34. Chen J. Food oral processing: Some important underpinning principles of eating and sensory perception. *Food Structure*. 2014; 1(2):91–105.
35. Patel AR, & DK. Edible oil structuring: an overview and recent updates. *Food Funct*. 2016; 7:20-29.
36. Solo de Zaldívar B, Tovar CA, Borderías AJ, Herranz B. Pasteurization and chilled storage of restructured fish muscle products based on glucomannan gelation. *Food Hydrocoll*. 2015; 43:418–426.
37. Moghtadaei M, Soltanizadeh N, Hossein Goli SA. Production of sesame oil oleogels based on beeswax and application as partial substitutes of animal fat in beef burger. *Food Res Int*. 2018; 108:368–377.
38. Nishinari K. Some thoughts on the definition of a gel. *Progr Colloid Polym Sci*. 2009; 136:87-94.
39. Rao A. *Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications*. Aspen Publishers, Inc., Maryland, USA; 1999.
40. Lupi FR, Gabriele D, Sanchez MC. A rheological analysis of structured water-in-olive oil emulsions. *J Food Eng*. 2011; 107:296–303.
41. Gabriele D, Cindio B, Dantona P. A weak gel model for foods. *Rheol Acta*. 2001; 40:120–127.
42. Lupi FR, Bladino N, Cindio B, Seta L, Gabriele D. Sheeting process modelling and rheological analysis of an olive-oil-emulsion-based puff pastry. *INTERNATIONAL CONFERENCE ON MODELING AND APPLIED SIMULATION*. 2011; 242–248.
43. Wiking L, de Graef V, Rasmussen M, Dewettinck K. Relations between crystallisation mechanisms and microstructure of milk fat. *Int Dairy J*. 2009; 19:424–430.
44. Fomuso LB, Akoh CC. Enzymatic modification of high-laurate canola to produce margarine fat. *J Agric Food Chem*. 2001; 49:4482–4487.
45. Patel AR, Nicholson RA, Marangoni AG. Applications of fat mimetics for the replacement of saturated and hydrogenated fat in food products. *Current Opinion Food Sci*. 2020; 33:61–68.
46. Rezler R, Krzywdzińska-Bartkowiak M, Patek M. The influence of the substitution of fat with modified starch on the quality of pork liver pates. *LWT - Food Sci Technol*. 2021; 135:110264.

47. Tan CP, Che Man YB. Differential scanning calorimetric analysis of palm oil, palm oil based products and coconut oil: effects of scanning rate variation. *Food Chem.* 2002; 76(1):89–102.
48. Beckett ST. Milling, mixing and tempering - an engineering view of chocolate. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part E: Journal of Process Mechanical Engineering.* 2001; 215(1):1–8.
49. Norton JE, Fryer P.J, Parkinson J, Cox PW. Development and characterisation of tempered cocoa butter emulsions containing up to 60% water. *J Food Eng.* 2009; 95(1):172–178.
50. Garti N, Binyamin H, Aserin A. Stabilization of water-in-oil emulsions by submicrocrystalline α -form fat particles. *J Am Oil Chem Soc.* 1998; 75:1825–1831.
51. Silow C, Zannini E, Arendt EK. Impact of low-trans fat compositions on the quality of conventional and fat-reduced puff pastry. *J Food Sci Technol.* 2016; 53(4):2117–2126.
52. ESTUDIO REDUCCIÓN DE GRASAS EN PANADERÍA. Centro Tecnológico CETECE (www.cetece.org).

ANEXOS

ANEXO I: Figuras de Materiales y Métodos



Figura 1: Thermomix® TM5-1 (Vorwerk, Alemania) y agitador de varilla (Bunsen AGV-8).



Figura 2: Esquema del proceso básico de elaboración de margarinas en el laboratorio.



Figura 3: Amasadora, Rational y Horno de cocina.



Figura 4: Proceso de elaboración de masas de hojaldre.



Figura 5: Reómetro rotacional “Kinexus” Pro, con sistema de calentamiento Peltier.



Figura 6: Texturómetro TA. HD Plus utilizado para medir los parámetros de margarinas y hojaldres.

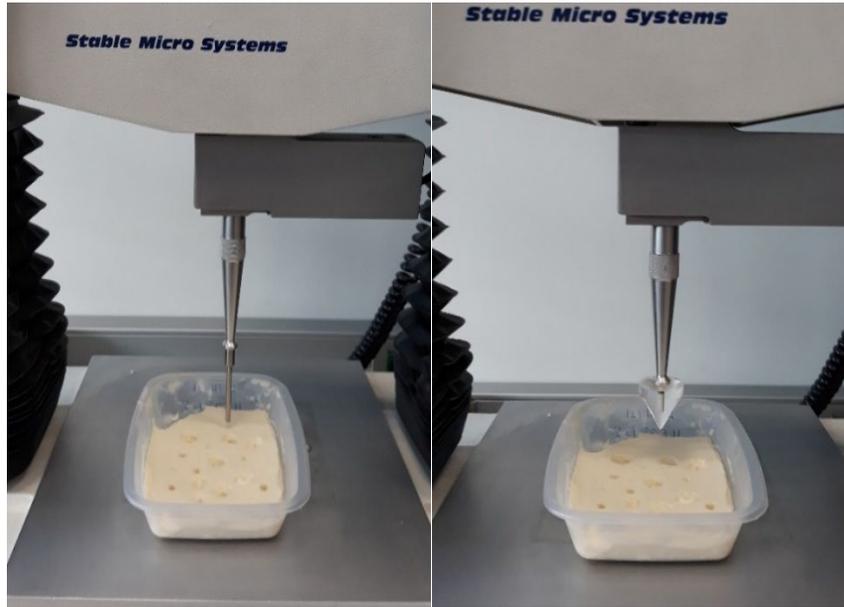


Figura 7: Ensayos de penetración efectuados en un texturómetro TA. HD Plus con una sonda plana P/4 y una cónica, respectivamente.

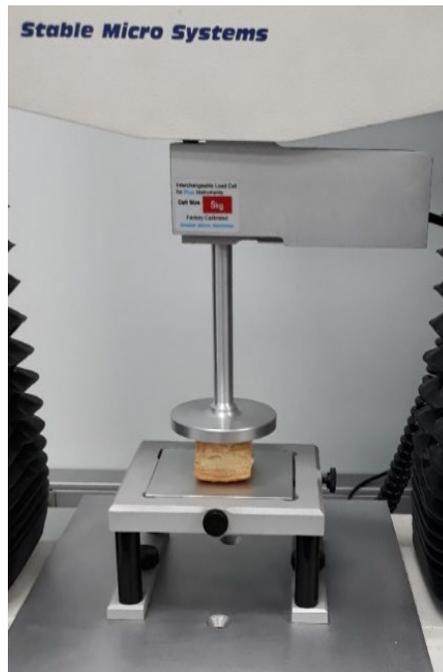


Figura 8: Detalle de la realización del ensayo TPA en hojaldre.

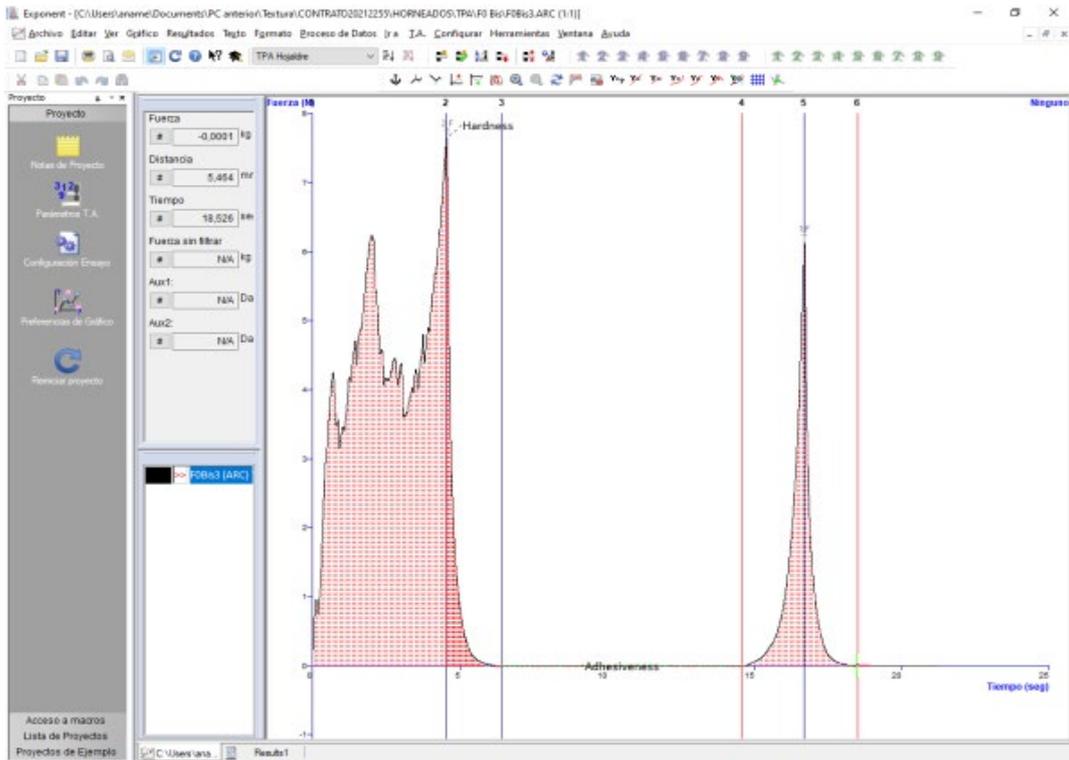


Figura 9: Curva típica fuerza-tiempo derivada del ensayo TPA en hojaldre.



Figura 10: Detalle de la realización del ensayo de corte en hojaldre.

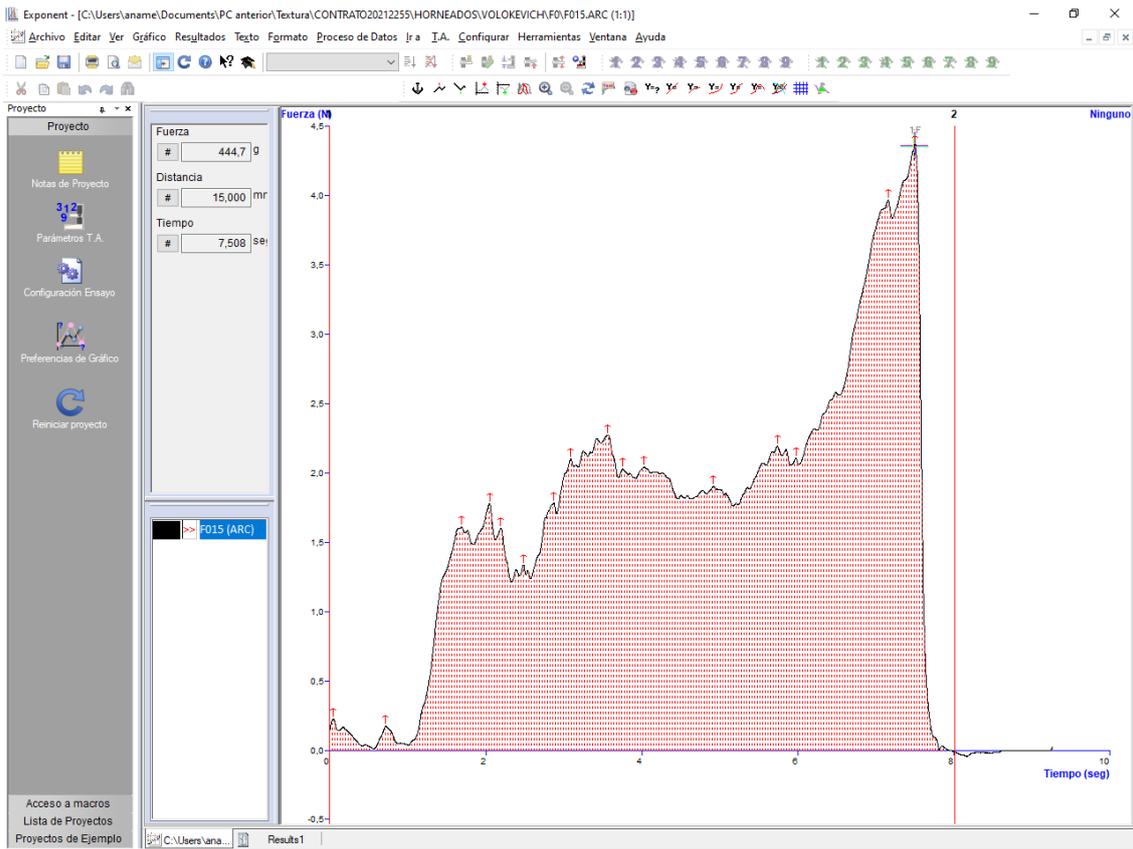


Figura 11: Curva típica fuerza-tiempo derivada del ensayo de corte con cuchilla en hojaldre.

ANEXO II: Tablas de Materiales y Métodos

Tabla 12: Composición de las diecisiete margarinas formuladas en el laboratorio, y designadas como F1-F17.

Formulación (F)	Fase acuosa (20%)							Fase oleosa (80%)								
	Agua	Sal	Aroma	Gelatina	TAG	Cremer Tártaro	Ácido cítrico	Aceite de orujo	Estearina de palma	Cera de abeja	Mantequilla	Verolec-non OGM IP	Palsgaard 1311	Palsgaard 6111	Verol N90	Verol P-Flakes
F1	18,76	0,8	0,33	-	-	-	0,11	40	29	7	-	1	1,2	0,9	-	0,9
F2	18,76	0,8	0,33	-	-	-	0,11	35,1	24,5	6,4	10	1	1,2	0,9	-	1,5
F3	18,76	0,8	0,33	-	-	-	0,11	37	27,5	6,5	5	1	1,2	0,9	-	1,5
F4	18,76	0,8	0,33	-	-	-	0,11	37	27,5	6,5	5	1	1,2	0,9	-	1,5
F5	18,76	0,8	0,33	-	-	-	0,11	37	27,5	6,5	5	1	1,2	0,9	-	1,5
F6	18,5	1	0,33	-	-	-	0,17	36,4	27,5	4,5	6,5	1,5	1,2	0,9	-	1,5
F7	18,5	1	0,33	-	-	-	0,17	40	27,5	-	7,5	1,5	1,17	0,83	-	1,5
F8	17,2	0,8	0,33	1,5	-	-	0,17	40	27,5	-	7,5	1,5	1,17	-	0,83	1,5
F9	18,0	0,8	0,33	-	0,75	-	0,17	40	27,5	-	7,5	1,5	1,17	-	0,83	1,5
F10	18,5	1	0,33	-	-	-	0,17	35	27,5	5	7,5	1,5	1,17	-	0,83	1,5
F11	18,5	1	0,33	-	-	-	0,17	37	27,5	3	7,5	1,5	1,17	-	0,83	1,5
F12	18,5	1	0,33	-	-	-	0,17	40	27,5	-	7,5	1,5	1,17	0,83	-	1,5
F13	18,5	1	0,33	-	-	-	0,17	40	27,5	-	7,5	1,5	1,17	0,83	-	1,5
F14	18,5	1	0,33	-	-	-	0,17	40	27,5	-	7,5	1,5	1,2	0,9	-	1,5
F15	17,6	1	0,33	-	-	1	0,11	42,6	25	-	7,5	1,5	1,2	0,7	-	1,5
F16	18,5	1	0,33	-	-	-	0,17	40	27,5	-	7,5	1,5	1,2	0,9	-	1,5
F17	17,6	1	0,33	-	-	1	0,11	42,6	25	-	7,5	1,5	1,2	0,7	-	1,5

Formulación de margarinas de F1 a F17, en base a sus ingredientes expresados como porcentajes totales.

Tabla 13: Hojaldres realizados con las margarinas formuladas.

Hojaldres	Formulación margarinas	Margarina envolver (g)	Masa Madre				
			Harina Floja (g)	Harina Fuerte (g)	Margarina masa (g)	Agua (g)	Sal (g)
H1	F1	340	200	200	32	230	8
H2	F2	255	150	150	24	172,5	6
H5	F5	255	150	150	24	172,5	6
H6	F6	170	100	100	16	115	4
H7	F7	170	100	100	16	115	4
H8	F8	140	82,5	82,5	13,2	94,9	3,3
H8'	F8	135,8	80	80	12,8	92	3,2
H9	F9	255	150	150	24	172,5	6
H12	F12	255	150	150	24	172,5	6
H12'	F12	106	62,5	62,5	10	71,9	2,5
H13	F13	170	100	100	16	115	4
H15	F15	132	118,2	118,2	18,9	135,9	4,73
H17	F17	77	69	69	11,0	79,3	2,76
HM	Mantequilla	142,8	127,9	127,9	20,5	147,1	5,12

H8' se diferencia de H8 en que incluyó en su preparación un reposo entre dobleces; H12' se diferencia de H12 en que el horneado final de ambas masas se realizó en dos hornos diferentes.

Tabla 3: Definición de las propiedades instrumentales de textura derivadas del análisis de perfil de textura (TPA).

Propiedades	Definición	Significado
Dureza (N)	Fuerza máxima de la primera compresión (fuerza en anclaje 2)	Resistencia del alimento a la deformación durante la primera compresión.
Fuerza 2 (N)	Fuerza máxima de la segunda compresión (fuerza en anclaje 5)	Resistencia del alimento a la deformación durante la segunda compresión.
Elasticidad (-)	Diferencia de tiempo durante la segunda compresión entre diferencia de tiempo durante la primera compresión (Diferencia de tiempo 4:5/Diferencia de tiempo 1:2)	Recuperación física de la altura del alimento a su posición original tras ser deformado durante la primera compresión
Cohesividad (-)	Área 4:6/Área 3:1	Cómo de bien el hojaldre soporta la segunda deformación relativa a su resistencia bajo la primera deformación.
Masticabilidad (N)	Dureza x cohesividad x elasticidad	Cuánta fuerza, trabajo y distancia se requiere para comprimir el hojaldre.
Resiliencia (-)	Área 2:3/Área 1:2	Capacidad del hojaldre para recuperar su altura original.

ANEXO III: Figuras de Resultados y Discusión

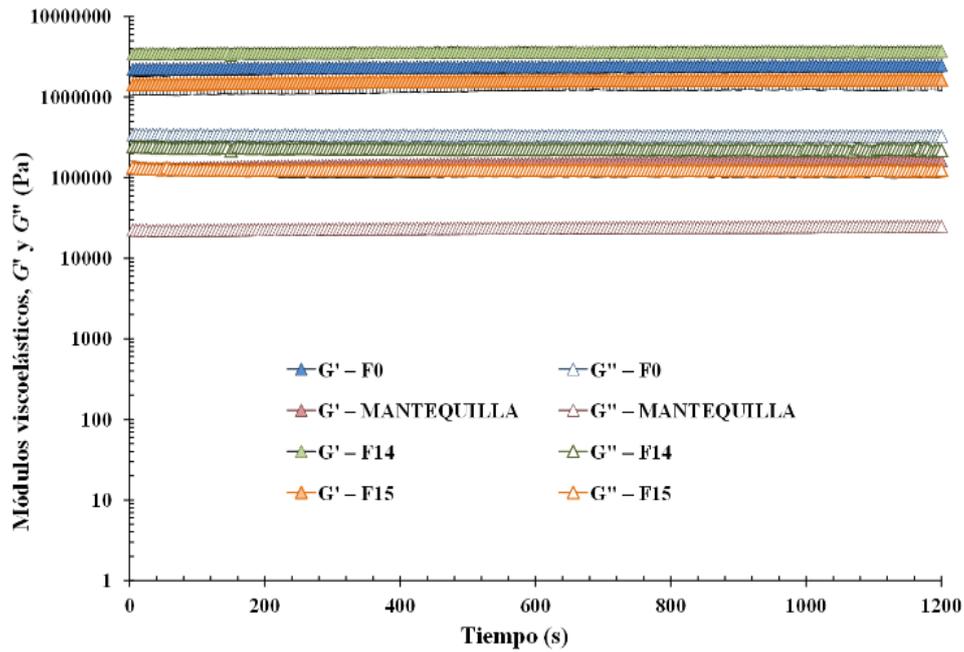


Figura 1: Evolución de los valores del módulo elástico (G') y viscoso (G'') durante ensayos en barrido de tiempo realizados a 20 °C en preparado graso (F0), mantequilla, y formulaciones F14 y F15 para permitir su estabilización. Otras condiciones de realización del ensayo fueron: frecuencia (f) = 1 Hz, y esfuerzo de cizalla escogido en el LVR en cada muestra.

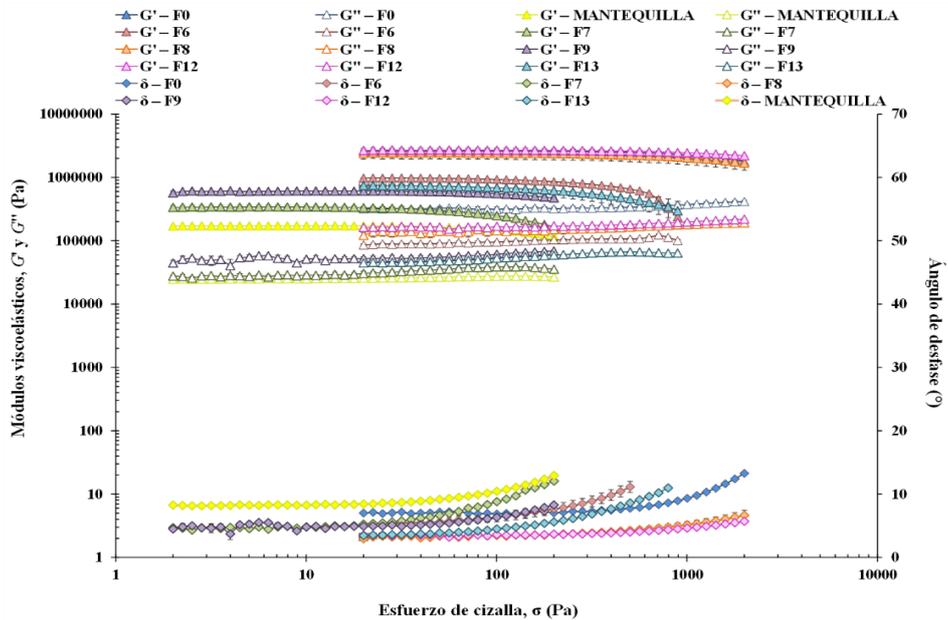


Figura 2: Evolución del módulo elástico (G'), viscoso (G'') y del ángulo de desfase (δ) con el esfuerzo de cizalla (σ) durante ensayos en barrido de tensión realizados a 20 °C en el preparado graso control (F0), mantequilla, y diferentes margarinas preparadas en el laboratorio. Otras condiciones de realización del ensayo fueron: frecuencia (f) = 1 Hz, y 20 muestras por década logarítmica.

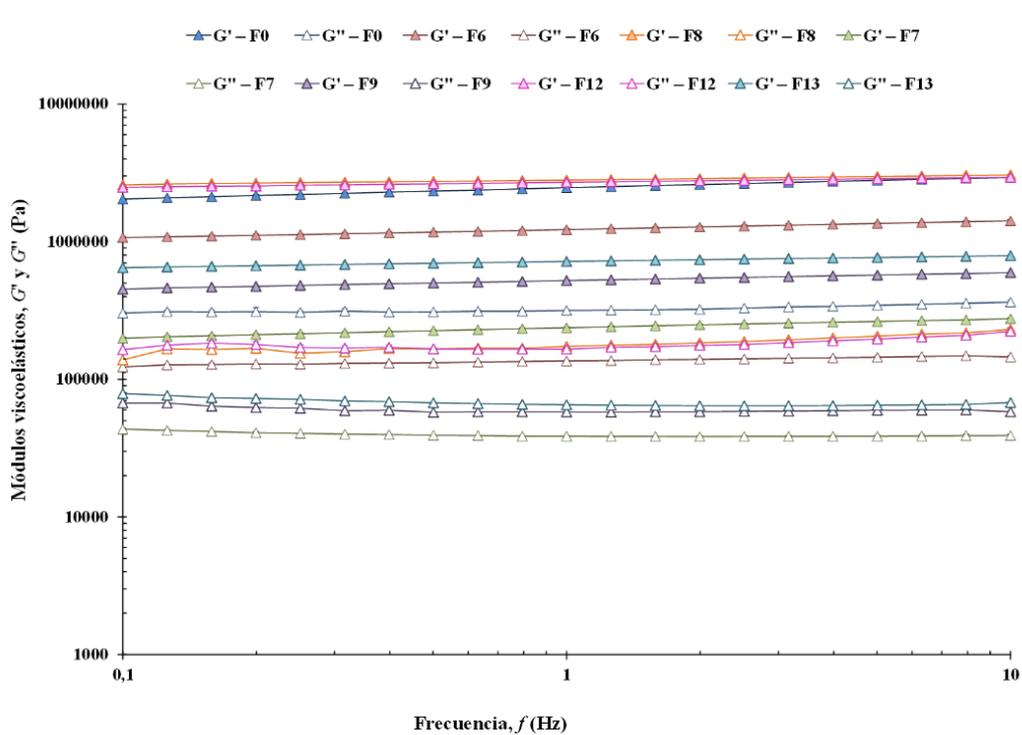


Figura 3: Evolución de los módulos viscoelásticos (G' : símbolos rellenos; G'' : símbolos sin relleno) con la frecuencia (f) aplicada durante ensayos en barrido de frecuencia. Otras condiciones de realización del ensayo fueron: 20 °C y tensión aplicada (σ) en el LVR.

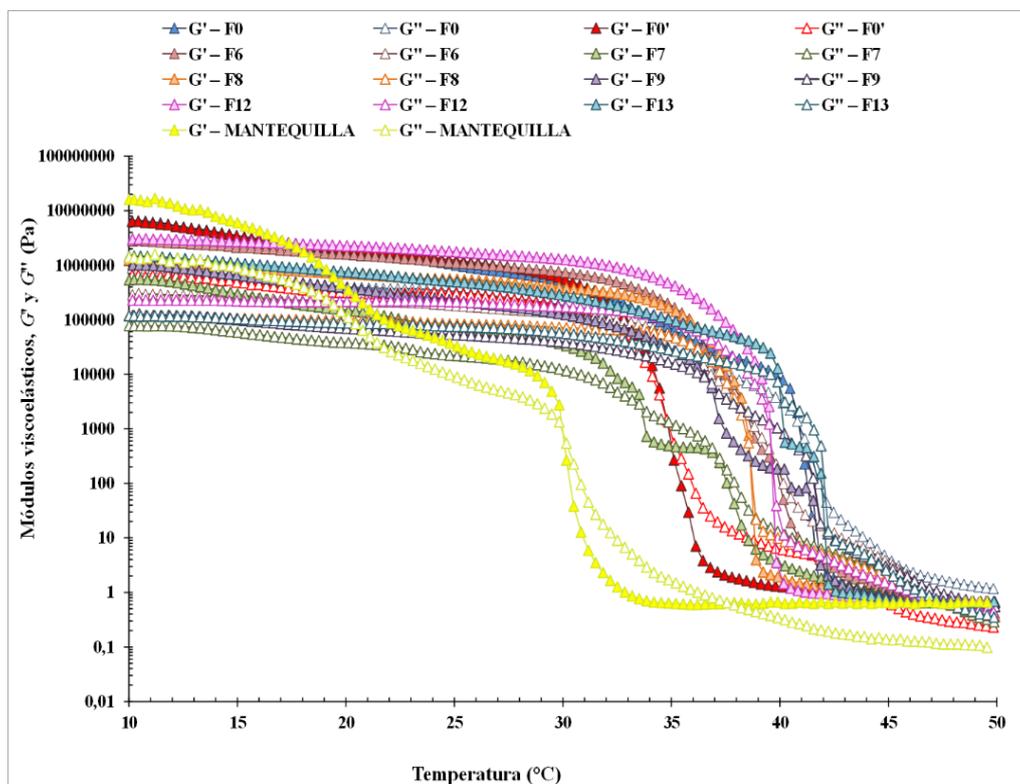


Figura 4: Evolución de los módulos viscoelásticos (G' : símbolos rellenos; G'' : símbolos sin relleno) con la temperatura. Otras condiciones de realización del ensayo fueron: tensión aplicada (σ) en el LVR; frecuencia (f) = 1 Hz.

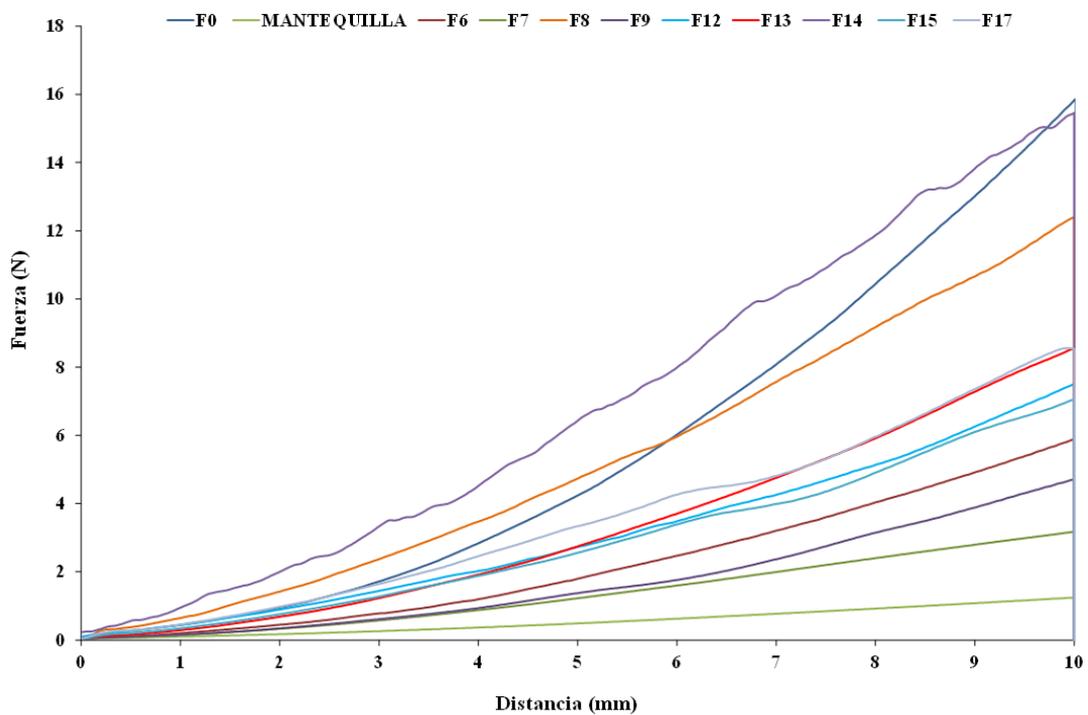
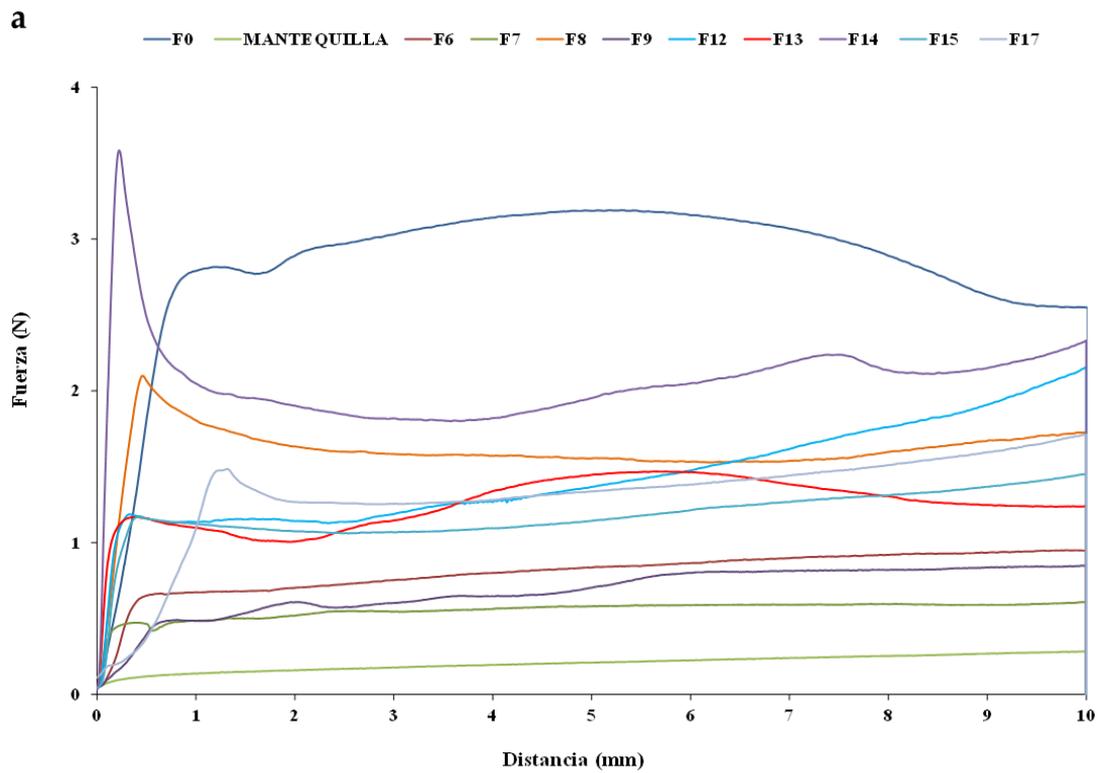


Figura 5: Curvas o perfiles fuerza vs. distancia obtenidas a 20 °C; (a) ensayo de penetración con punzón plano (P/4); (b) ensayo de penetración con sonda cónica. Otras condiciones de realización del ensayo fueron: velocidad de deformación (1 mm/s); distancia de penetración (10mm).

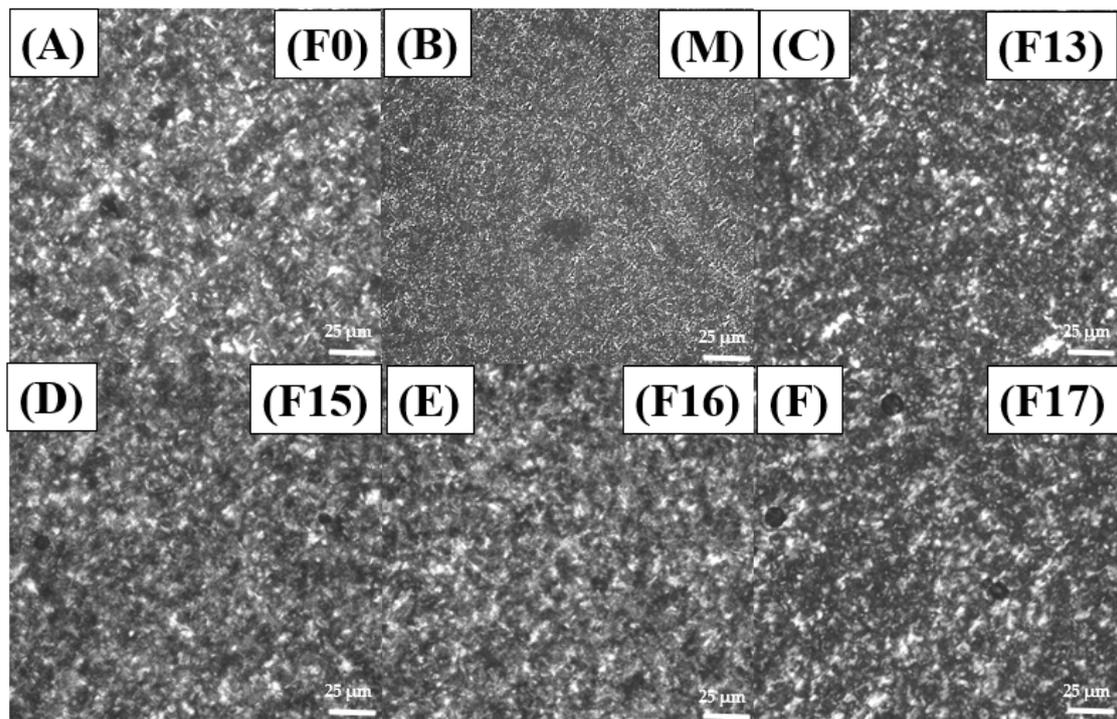


Figura 6: Imágenes de la estructura de diferentes margarinas obtenidas mediante microscopía de luz polarizada (A: F0, B: Mantequilla, C: F13, D: F15, E: F16 y F: F17).

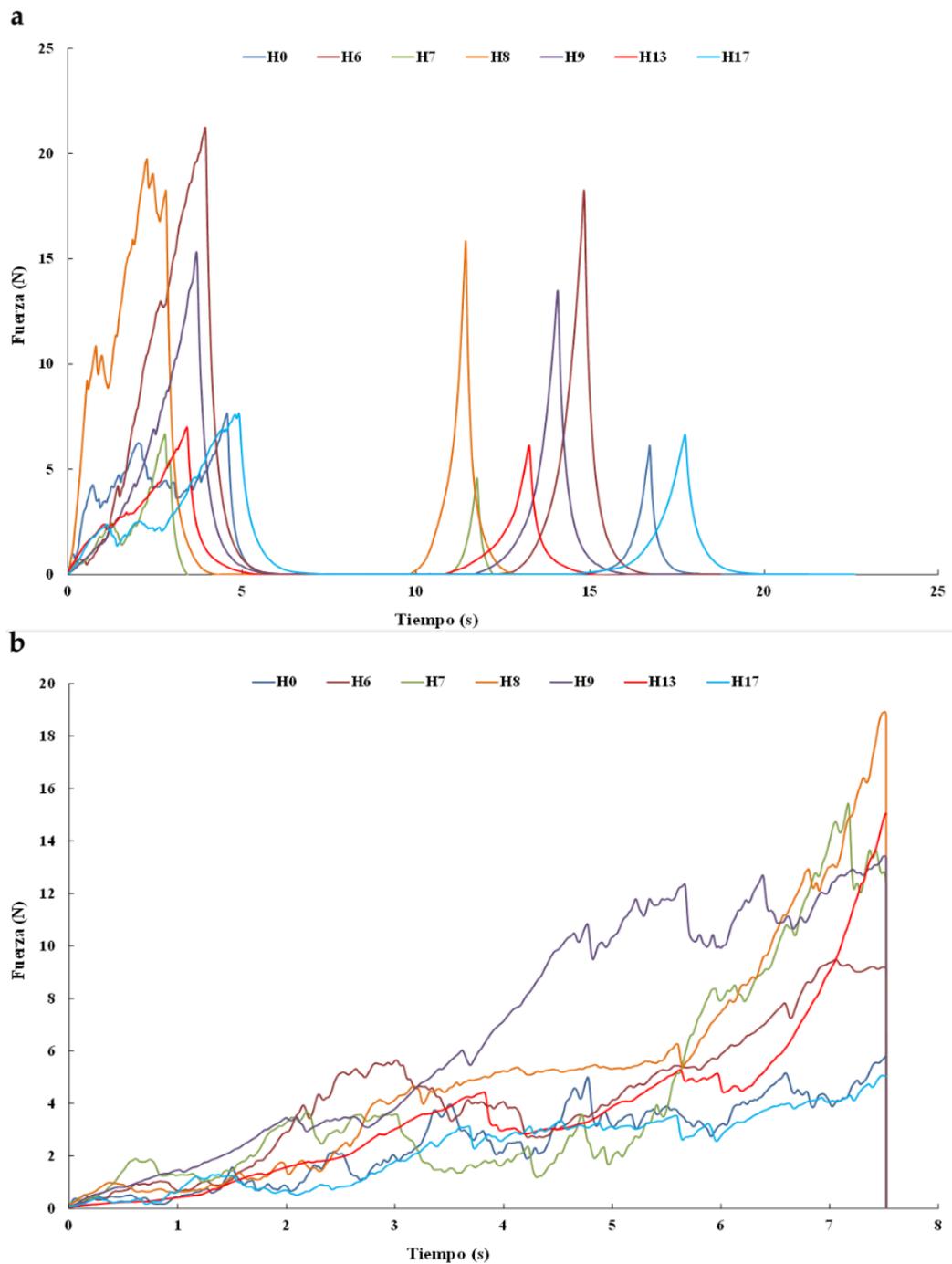


Figura 7: Curvas fuerza vs. tiempo obtenidas a temperatura ambiente en hojaldres horneados; (a) ensayo TPA con punzón plano (P/75) y deformación del producto del 30%; (b) ensayo de corte con cuchilla a velocidad de deformación de 1 mm/s y hasta una distancia de 15 mm.

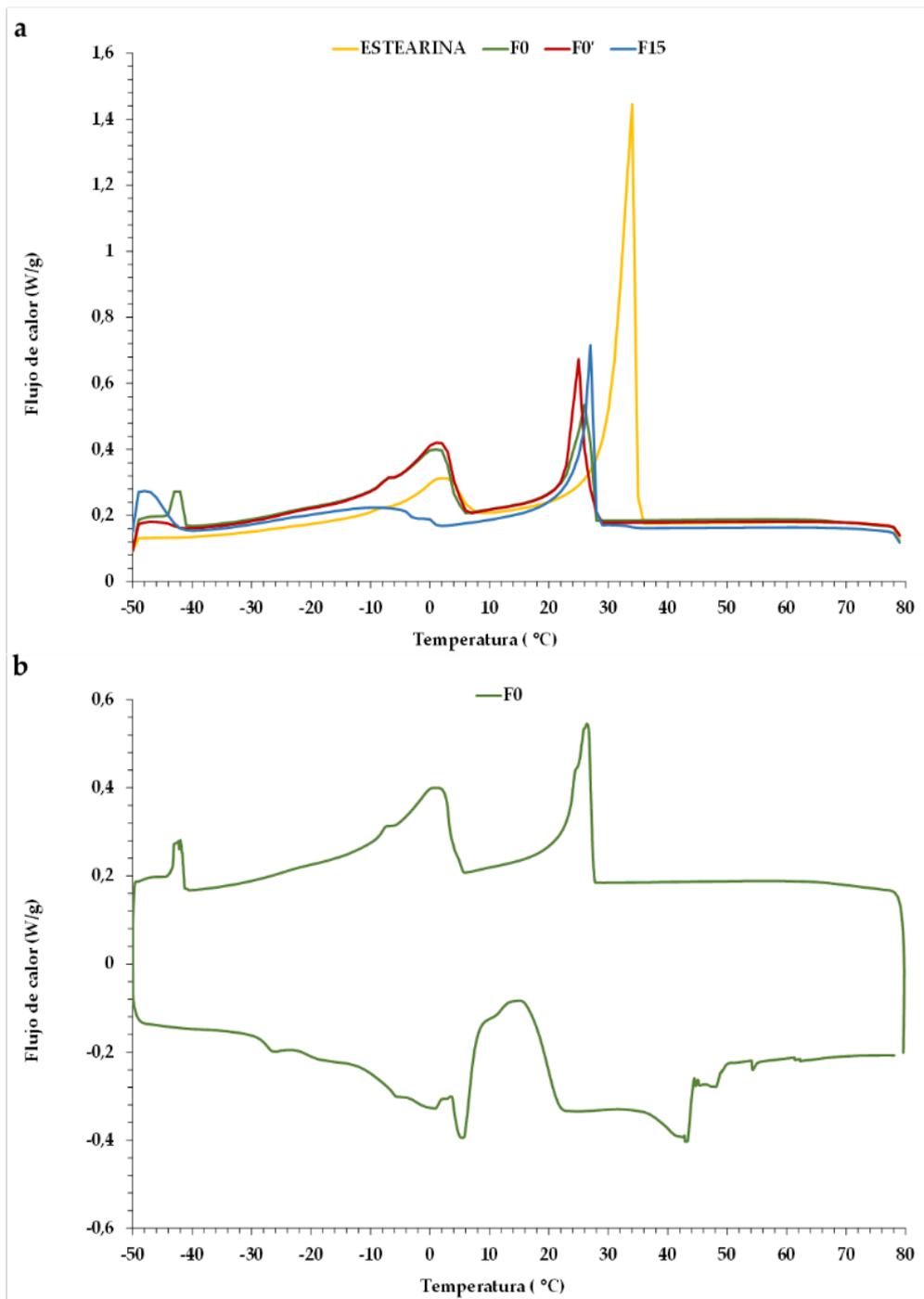


Figura 8: Termogramas obtenidos mediante DSC (a) perfiles de cristalización correspondientes a enfriamientos desde 80 hasta -50 °C; (b) perfil completo de cristalización y fusión correspondiente al enfriamiento desde 80 hasta -50 °C, y al posterior calentamiento desde -50 hasta 80 °C, realizados en el preparado graso comercial (F0).

ANEXO IV: Tablas de Resultados y Discusión sin estadística.

Tabla 1: Valores de G' , G'' y $\tan \delta$, a 1 Hz y 20 °C, derivados de ensayos en barrido de frecuencia, y parámetros derivados del ajuste al modelo de “gel débil”, todos correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un procesado graso comercial (F0).

Formulación	G' (kPa)	G'' (kPa)	$\tan \delta$ (-)	A (kPa s ^{1/2})	z (-)	R^2
F0	2479±26	317±2,8	0,129±0,00010	2479±26	12,8±0,24	1,00
F0'	2517±48	204±6,5	0,0812±0,0034	2485±71	21,5±0,67	1,00
MANTEQUILLA	156±3,4	23,6±0,24	0,151±0,0021	157±3,7	11,4±0,58	1,00
F6	1224±26	136±1,7	0,111±0,0015	1234±26	16,4±0,054	1,00
F7	237±3,6	38,6±0,32	0,163±0,0013	239±3,3	14,9±1,0	1,00
F8	2805±4,2	174±1,8	0,0619±0,00067	2819±1,6	28,6±1,4	1,00
F9	522±8,3I	57,9±0,31	0,111±0,0012	524±7,9	17,4±0,68	1,00
F10	2651±18	234±3,9	0,0882±0,0011	2657±16	18,3±1,1	1,00
F11	3008±66	253±0,66	0,0843±0,0016	3014±63	21,5±0,32	1,00
F12	2699±15	166±4,1	0,0613±0,0019	2707±14	27,0±0,76	1,00
F13	719±15	65,3±0,325	0,0908±0,0024	721±15	23,7±0,95	1,00
F14	3319±53	185±5,1	0,0558±0,0014	3337±40	31,5±1,2	0,992
F15	2028±32	134±1,0	0,0659±0,00054	2038±32	27,8±0,52	0,998
F16	2099±24	173±0,74	0,0824±0,00061	2102±23	21,5±0,14	0,999
F17	2929±31	202±1,3	0,0691±0,00029	2930±28	25,8±0,27	0,998

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

G' , módulo elástico o de almacenamiento; G'' , módulo viscoso o de pérdida; $\tan \delta$, tangente o factor de pérdida (= G''/G').

G^* , módulo complejo = $[(G')^2 + (G'')^2]^{0,5}$; modelo “gel débil”: $|G^*| = ((G'(f))^2 + (G''(f))^2)^{1/2} = Af^{1/z}$, donde f es la frecuencia expresada en Hz; z es la extensión de la red, relacionada con el número de unidades reológicas que interaccionan en la red tridimensional, y A es la resistencia de las interacciones; R^2 = coeficiente de determinación del ajuste.

^{A-G} Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$).

Tabla 2: Temperatura a la que se cruzan los valores G' y G'' en calentamientos realizados entre 10 y 50°C correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un procesado graso comercial (F0).

Formulación	Temperatura cruce (°C)
F0	41,0±0,16
F0'	34,8±0,34
MANTEQUILLA	30,0±0,27
F6	37,5±1,9
F8	38,4±0,72
F9	35,6±1,2
F10	38,7±0,92
F11	40,6±0,56
F12	39,6±0,20
F13	40,0±0,22
F14	39,1±0,035
F15	37,2±0,89
F16	38,8±0,0071
F17	36,8±0,52

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

Tabla 3: Propiedades reológicas a 20 °C que limitan el intervalo de viscoelasticidad lineal (LVR) correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un procesado graso o margarina comercial (F0).

Formulación	σ_{\max} (kPa)	γ_{\max} (%)	G^*_{\max} (kPa)	$\tan \delta_{\max}$ (-)
F0	1,00±0,00	0,0437±0,0019	2297±100	0,164±0,0028
F0'	0,502±0,00	0,0324±0,0064	1615±20	0,108±0,0048
MANTEQUILLA	0,100±0,00	0,0663±0,0072	152±16	0,184±0,00013
F6	0,215±0,024	0,0234±0,0020	1044±79	0,123±0,015
F7	0,0502±0,00	0,00166±0,00086	303±16	0,117±0,0015
F8	0,796±0,00	0,0393±0,0085	2125±160	0,084±0,0011
F9	0,159±0,00	0,0312±0,0010	504±9,6	0,132±0,0014
F10	1,42±0,00	0,0508±0,0095	2892±143	0,102±0,0019
F11	1,13±0,00	0,0418±0,0026	2700±168	0,102±0,0020
F12	1,42±0,00	0,0602±0,00013	2350±5,0	0,0891±0,0015
F13	0,142±0,00	0,0223±0,0035	661±47	0,0871±0,0013
F14	1,13±0,00	0,0328±0,0064	3490±680	0,0750±0,00070
F15	0,399±0,00	0,0260±0,0084	1621±98	0,0859±0,0013
F16	0,633±0,00	0,0281±0,0054	2289±155	0,102±0,0050
F17	0,710±0,00	0,0265±0,00093	2676±93	0,0943±0,011

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

σ_{\max} , amplitud del esfuerzo de cizalla crítica o esfuerzo oscilatorio crítico;

γ_{\max} , amplitud de la deformación de cizalla crítica o deformación oscilatoria crítica;

G^*_{\max} , módulo complejo crítico (= $[(G')^2 + (G'')^2]^{0,5}$); $\tan \delta_{\max}$, tangente de pérdida crítica (= G''/G').

Tabla 4: Parámetros texturales derivados de un ensayo de penetración realizado con sonda P/4 a 20 °C correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un preparado graso comercial (F0).

Formulación	Fuerza a 10 mm (N)	Fuerza máxima (N)	ABC (mJ)
F0	2,85±0,055	3,21±0,013	29,2±0,36
F0'	2,59±0,094	4,62±0,19	30,8±0,73
MANTEQUILLA	0,300±0,014	0,300±0,014	21,8±0,11
F6	1,01±0,016	1,01±0,016	8,43±0,084
F7	0,612±0,010	0,614±0,011	5,40±0,061
F8	1,74±0,034	2,13±0,056	16,3±0,26
F9	0,844±0,067	0,849±0,060	6,74±0,34
F10	4,01±0,10	4,01±0,11	33,4±0,49
F11	4,03±0,14	4,22±0,14	31,5±0,49
F12	2,12±0,061	2,12±0,061	14,4±0,21
F13	1,27±0,038	1,43±0,028	12,3±0,22
F14	2,38±0,043	3,70±0,13	20,9±0,32
F15	1,46±0,039	1,46±0,039	11,5±0,51
F16	2,89±0,38	5,78±0,13	38,4±1,5
F17	1,71±0,051	1,71±0,051	13,4±0,43

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

ABC, área bajo la curva fuerza vs. distancia.

Tabla 5: Parámetros texturales derivados de un ensayo de penetración realizada con sonda cónica a 20°C correspondientes a margarinas formuladas con diferente composición y condiciones de procesado en comparación con un preparado graso comercial (F0).

Formulación	Fuerza a 10 mm (N)	ABC (mJ)
F0	15,6±0,41	55,8±2,4
F0'	16,6±0,41	71,6±0,77
MANTEQUILLA	1,25±0,00058	5,38±0,020
F6	5,76±0,12	21,3±0,43
F7	3,73±0,10	14,8±0,068
F8	12,4±0,13	53,2±0,72
F9	4,64±0,057	17,6±0,53
F10	20,7±0,26	78,0±1,5
F11	16,2±0,29	68,8±0,41
F12	9,72±0,64	37,0±2,1
F13	8,44±0,32	32,1±0,56
F14	14,8±0,55	63,4±4,2
F15	6,78±0,22	27,6±0,91
F16	19,9±0,50	75,7±7,2
F17	8,30±0,24	34,7±0,86

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

ABC, área bajo la curva fuerza vs. distancia.

Tabla 6: Propiedades texturales obtenidas a 20 °C a partir de un ensayo de perfil de textura TPA correspondientes a hojaldres elaborados con diferentes margarinas formuladas en comparación con los elaborados a partir de un preparado graso comercial (H0) y de una manteca comercial (HM).

Hojaldre	Dureza (N)	Fuerza 2 (N)	Elasticidad (-)	Cohesividad (-)	Masticabilidad (N)	Resiliencia (-)
H0	7,61±0,056	6,15±0,019	0,466±0,0064	0,179±0,014	0,635±0,053	0,0897±0,010
HM	4,38±0,16	3,28±0,35	0,607±0,078	0,276±0,023	0,739±0,027	0,126±0,025
H6	19,7±0,91	16,8±0,91	0,582±0,020	0,333±0,033	3,89±0,16	0,156±0,0044
H7	14,0±1,1	11,9±0,96	0,689±0,020	0,317±0,015	3,07±0,23	0,192±0,025
H8	18,9±0,84	15,4±0,75	0,503±0,066	0,243±0,026	2,31±0,11	0,131±0,017
H9	16,3±1,1	11,2±0,47	0,696±0,047	0,490±0,025	5,55±0,29	0,272±0,021
H11	16,9±0,51	14,4±0,98	0,687±0,016	0,460±0,024	5,33±0,29	0,250±0,016
H12	23,5±1,3	21,3±0,67	0,598±0,093	0,425±0,011	5,92±0,53	0,241±0,028
H13	7,34±0,34	6,35±0,22	0,615±0,095	0,441±0,0061	1,98±0,19	0,212±0,0033
H15	16,9±0,50	14,6±0,45	0,634±0,034	0,284±0,038	2,01±0,16	0,132±0,0081
H17	9,33±0,077	8,22±0,022	0,729±0,020	0,306±0,010	2,09±0,11	0,145±0,012

Valores medios ($n = 3$) ± desviación estándar.

La definición y cálculo de las diferentes propiedades puede consultarse en la Tabla 3.

Tabla 7: *Parámetros texturales derivados de un ensayo de corte con cuchilla correspondientes a hojaldres elaborados con diferentes margarinas formuladas en comparación con las elaboradas a partir de un preparado graso comercial (H0) y de una mantequilla comercial (HM).*

Hojaldre	Fuerza máxima (N)	ABC (N s)	Número de picos de fuerza
H0	5,87±0,58	19,1±1,8	35,0±2,0
HM	3,98±0,27	15,3±0,23	23,0±1,0
H6	8,37±1,1	27,7±3,5	23,0±2,0
H7	16,9±0,43	40,4±1,2	30,0±1,0
H8	17,7±1,2	40,6±1,8	25,0±1,0
H9	17,7±1,2	43,2±1,4	20,0±1,0
H11	9,30±0,67	28,0±1,6	21,0±1,0
H12	18,4±0,49	52,3±2,3	28,0±1,0
H13	13,3±2,5	26,4±0,85	15,0±1,0
H15	5,45±0,18	18,0±1,2	23,0±2,0
H17	5,17±0,50	19,3±2,2	23,0±1,0

Valores medios ($n = 3$) \pm desviación estándar.

ABC, Área bajo curva fuerza vs. tiempo.

ANEXO V: Adaptación del TFG a la sostenibilidad

La sostenibilidad es el desarrollo que satisface las necesidades del presente sin poner en riesgo a las generaciones futuras, considerando el desarrollo social, económico y el cuidado del medio ambiente.

La obtención del aceite de orujo de oliva ayuda de manera positiva al medioambiente al realizarse con los restos de residuos de las aceitunas no utilizados en la elaboración de otros aceites, como es el aceite de oliva, pilar fundamental en el sistema agroalimentario español. Se trata de un proceso de residuo cero, ya que es totalmente limpio con el medioambiente, al aprovechar el 100% de las aceitunas y evitar desechar residuos a la naturaleza.

Aumentar el uso del aceite de orujo para producir compuestos alimenticios, también ayuda tanto al medioambiente como a la economía puesto que su producción es de economía circular, esto indica que algunos productos de este proceso se pueden reutilizar para generar energía. Otro carácter que beneficia a la economía es su precio puesto que es bastante menor al de otros aceites.

ANEXO VI: Asistencia a cursos durante el periodo de estancia en el ICTAN-CSIC

1. *Curso:* Seguridad e higiene

Lugar: Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN-CSIC).

Fecha: 4 de marzo de 2022

2. *Curso:* Introducción a los equipos comunes

Lugar: Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN-CSIC)

Fecha: 17 de marzo de 2022