



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **Evaluación de $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum* como sustituto de grasa en tortas**

**Jairo Lindarte Artunduaga**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Bogotá D.C., Colombia

2016



# **Evaluación de $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum* como sustituto de grasa en tortas**

**Jairo Lindarte Artunduaga**

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

Director:

Luis Felipe Gutiérrez Álvarez, PhD.

Línea de Investigación:

Diseño y desarrollo de productos alimenticios

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación en Biomoléculas Alimentarias

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Ciudad, Colombia

2016



*A Alberto Camargo*

*El Ultimo de los grandes  
maestros del Sena en  
Colombia, sus enseñanzas  
han sido el sendero  
por el cual ha evolucionado  
la panificación en el país.*



## **Agradecimientos**

En primer lugar, quiero dar gracias a mi esposa, María, por su apoyo, comprensión, sus sacrificios y sobre todo su amor que fue el motor para permitir que este sueño fuera posible.

Me gustaría agradecer de forma especial a mi director de investigación, Profesor Luis Felipe Gutiérrez, por aceptar ser el director de mi tesis, trabajar conmigo “hombro a hombro”, así como por todo su tiempo dedicado y todas las enseñanzas proporcionadas a través del desarrollo de este proyecto.

Agradezco sinceramente toda la asistencia del Sr. Jairo Moreno quien fue mi compañero de trabajo en el laboratorio, y a los demás técnicos que hacen parte de los laboratorios del ICTA

Un agradecimiento especial para el personal de la planta de vegetales del ICTA, quienes estuvieron prestos a ayudarme en la elaboración de las tortas.

También a Progal-BT por su colaboración en el suministro de los beta-glucanos para el desarrollo del proyecto.

Por último, quisiera agradecer al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA y a la Universidad Nacional de Colombia.





## Resumen

En este trabajo se presenta una evaluación tecnológica del uso  $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum* ( $\beta$ GGL) como sustitutos de grasa en tortas. Varios niveles de reemplazo (20, 30, 40 y 50%) fueron investigados. Se analizaron las propiedades fisicoquímicas de los batidos y de las tortas, el efecto de la sustitución de grasa en la incorporación de aire en los batidos, y la microestructura de las tortas. Las variables físicas determinantes de la vida útil de tortas (actividad de agua, humedad, color y textura) fueron evaluadas durante 15 días de almacenamiento. Los resultados obtenidos indican que el reemplazo de grasa afectó significativamente la gravedad específica, las propiedades de flujo, y el color de los batidos. Los análisis microscópicos de los batidos mostraron que el aumento en la sustitución de grasa generó una disminución de las burbujas de aire, que condujo a una reducción en el volumen de las tortas (1086,5 vs. 1053,2 cm<sup>3</sup> para el control y las tortas con una reducción de grasa del 50%, respectivamente). La dureza de las tortas frescas no fue afectada por la inclusión de  $\beta$ GGL, sin embargo presentó un incremento progresivo durante la vida útil, siendo más pronunciado a medida que la sustitución de grasa incrementó. No se presentaron diferencias significativas ni en el color de la corteza ni en el de la miga. La inclusión de  $\beta$ GGL no generó cambios significativos en la humedad y actividad de agua de las muestras. Las micrografías electrónicas revelaron que la estructura de la miga fue afectada por la sustitución de grasa. Las tortas con un reemplazo de grasa al 40% fueron bien aceptadas por panelistas no entrenados. Estos resultados indican los  $\beta$ GGL podrían ser eficientes sustitutos de grasa en tortas.

**Palabras clave:** Tortas, *Ganoderma lucidum*, betaglucanos, reemplazo de grasa, batidos.



## Abstract

This work presents a technological evaluation of using  $\beta$ -glucans of *Ganoderma lucidum* ( $\beta$ GGL) as fat replacers in cakes. Various replacement levels (20, 30, 40 and 50%) were investigated. The physicochemical properties of batters and cakes, the effect of replacing fat in the incorporation of air into the batters, and the microstructure of the cakes, were analyzed. The physical variables determining the shelf-life of cakes (water activity, moisture, color and texture) were evaluated during 15 days of storage. The obtained results indicate that replacement of fat significantly affect specific gravity, the flow properties, and the color of the batters. Microscopic analysis showed that batters increased fat replacement generated a decrease in the air bubbles, leading to a reduction in the volume of the cakes (1086.5 vs.1053.2 cm<sup>3</sup> for the control and cakes with a fat reduction of 50%, respectively). The hardness of fresh cakes was no affected by inclusion of the  $\beta$ GGL, however it showed a progressive increased during shelf-life, being more pronounced as the fat replacing increased. No significant differences in the crust and crumb colors were presented. The inclusion of  $\beta$ GGL does not generate significant changes in the moisture content and water activity of the cake samples. Scanning electron micrographs revealed that the crumb structure was affected by the fat substitution. Cakes with a replacement fat 40% were well accepted by untrained panelists. These results indicate the  $\beta$ GGL could be effective fat substitutes in cakes.

**Keywords:** Cakes, *Ganoderma lucidum*,  $\beta$ -glucans, substitution, fat replacement, batters.



# Contenido

	Pág.
<b>Resumen</b> .....	<b>IX</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>XI</b>
<b>Lista de figuras</b> .....	<b>XV</b>
<b>Lista de tablas</b> .....	<b>XVI</b>
<b>Lista de Símbolos y abreviaturas</b> .....	<b>XVII</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Marco teórico</b> .....	<b>5</b>
1.1 Tortas.....	5
1.1.1 Funcionalidad de los ingredientes en las tortas.....	6
1.2 Reemplazantes de grasa.....	9
1.2.1 Sustitutos de grasa .....	10
1.2.2 Miméticos de grasa.....	11
1.2.3 Principales miméticos evaluados en tortas .....	15
1.3 <i>Ganoderma lucidum</i> .....	19
1.4 $\beta$ -glucanos de <i>Ganoderma lucidum</i> .....	21
1.4.1 Estructura de $\beta$ -Glucanos de <i>Ganoderma lucidum</i> .....	23
1.4.2 Aplicación de $\beta$ -Glucanos de <i>Ganoderma lucidum</i> en alimentos.....	25
<b>2. Hipótesis y objetivos</b> .....	<b>29</b>
2.1 Hipótesis .....	29
2.2 Objetivo general .....	29
2.3 Objetivos específicos .....	29
<b>3. Use of beta-glucans from <i>Ganoderma lucidum</i> as effective biomolecules for replacing fat in cakes</b> .....	<b>31</b>
3.1 Resumen .....	31
3.2 Abstract .....	32
3.3 Introduction.....	33
3.4 Materials and methods .....	34
3.4.1 Materials.....	34
3.4.2 Methods.....	35
3.5 Results and discussion.....	39
3.5.1 Physicochemical characteristics of $\beta$ GGL .....	39
3.5.2 Cake batters .....	41

---

3.5.3 Technological characteristics of the cakes.....	46
3.6 Conclusions .....	56
3.7 Acknowledgements.....	57
<b>4. Conclusiones y recomendaciones .....</b>	<b>59</b>
4.1 Conclusiones generales .....	59
4.2 Recomendaciones.....	61
<b>5. Contribuciones.....</b>	<b>63</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>69</b>

## Lista de figuras

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1-1</b> Estructura y esquema de varias fuentes de $\beta$ -Glucanos. Fuente:(Volman, Ramakers et al. 2008) .....	24
<b>Figura 1-2</b> Estructura general de $\beta$ -Glucano de <i>Ganoderma Lucidum</i> . Fuente: (Gao and Zhou 2003).....	25
<b>Figura 1-3</b> Potenciales aplicaciones de los $\beta$ -Glucanos en la industria de los alimentos, farmacéutica y química. Fuente: (Kagimura, da Cunha et al. 2015).....	26
<b>Figure 3-1</b> Thermogravimetric profile of $\beta$ GGL.....	40
<b>Figure 3-2</b> FT-IR spectrum of $\beta$ GGL .....	41
<b>Figure 3-3</b> Representative LM images and air bubble area distributions .....	45
<b>Figure 3-4</b> Representative scanning electron micrographs and slices of cakes formulated with replacement of vegetable fat by $\beta$ GGL.....	54
<b>Figure 3-5</b> Sensory acceptance of fat-replaced cake ( $\beta$ GGL-40) in comparison to the control cake sample. ....	56

## Lista de tablas

	Pág.
<b>Tabla 1-1</b> Sustitutos de grasa. Fuente:(Chung and Min 2004) .....	11
<b>Tabla 1-2</b> Miméticos de grasa. Fuentes:(Ognean, Darie et al. 2006) .....	12
<b>Tabla 1-3</b> Compuestos importantes de la especie Ganoderma y sus principales efectos	21
<b>Table 3-1</b> Characteristics of batters' formulations with replacement of vegetable fat by $\beta$ GGL.....	42
<b>Table 3-2</b> Crust and crumb colors of cakes formulated with replacement of vegetable fat by $\beta$ GGL .....	47
<b>Table 3-3</b> TPA of cakes formulated with replacement of vegetable fat by $\beta$ GGL.....	49
<b>Table 3-4</b> Proximate composition of cakes formulated with replacement of vegetable fat by $\beta$ GGL .....	52



## Lista de Símbolos y abreviaturas

### Abreviaturas

#### Abreviatura Término

Kcal	Kilo calorías
$\beta$	Beta
CO <sup>2</sup>	Dióxido de carbono
$\beta$ GGL	Beta glucanos de <i>Ganoderma lucidum</i>
MD	Maltodextrina
AD	Amilodextrina
GRAS	Generally Recognized as Safe
<i>G. lucidum</i>	<i>Ganoderma lucidum</i>
d-Glcp	D-Glucopiranososa
cm <sup>3</sup>	centímetros cúbicos
gr	Gramos fuerza
TGA	Thermogravimetric analyses
mg	Miligramos
°C	Grados centígrados
Mm Hg	Milímetros de mercurio
rpm	Revoluciones por minuto
K	Índice de consistencia
n	Índice de flujo
LM	Light microscopy
TPA	Texture profile analyses
Aw	Water activity
SEM	Scanning electron microscopy
LSD	least significant difference
Pa	Pascales



# Introducción

El estilo de vida acelerado actual, y los nuevos procesos de transición nutricional han generado profundos cambios en los patrones de alimentación que han llevado a incrementos alarmantes del sobrepeso y la obesidad en la población mundial. Colombia como la mayoría de países Latinoamericanos no escapa a esta problemática nutricional, y el sobrepeso y la obesidad se han convertido en un problema de salud pública que afecta casi a la mitad de la población, sin discriminación de edad ni sexo, con notables consecuencias en el aumento de enfermedades consecuentes a la mala nutrición, y por lo tanto un creciente aumento en la morbimortalidad (Ognean, Darie et al. 2006).

De acuerdo con los datos de la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional de Colombia (ENSIN 2011) la cifra de sobrepeso aumentó del 45.9% en el 2005 al 51.2% en el 2010. De esta manera entre los 18 y 64 años el aumento de peso fue el principal problema mostrando una prevalencia en las mujeres con un 55.2% frente a los hombres con un 45.6%. Por lo tanto, las cifras en adultos colombianos son críticas pues uno de cada dos presenta exceso de peso. En la población infantil (5 a 17 años) presenta una prevalencia de sobrepeso de y obesidad de 17.2% en 2010 (ENSIN 2011).

Considerando esta problemática Colombia por medio de ley de 1355 de 2009 declaró la obesidad como una enfermedad crónica de salud pública resultante de falta de actividad física y malos hábitos nutricionales, dentro de los cuales se encuentra el alto consumo de alimentos ricos en grasas *trans* y grasas saturadas, como son las tortas y algunos productos de pastelería. Por medio de esta ley, el Ministerio de Protección Social pretende reglamentar el contenido de grasas en los alimentos de consumo masivo. De esta manera el gobierno intenta prevenir las enfermedades cardiacas, circulatorias, colesterol alto, estrés, depresión, hipertensión, cáncer, diabetes, artritis, entre otras (ENSIN 2011).

Los productos de pastelería y entre ellos las tortas (batidos pesados) constituyen un importante renglón dentro de los alimentos de consumo masivo, y están constituidos principalmente por harina, azúcar, huevos, grasa y agentes leudantes (Wilderjans, Luyts et al. 2013). Las grasas utilizadas en la elaboración este tipo de productos son hidrogenadas de palma o sintéticas, con un contenido aproximado del 34% en ácidos grasos *trans* y de cadena saturada (Griguol, León Camacho et al. 2007), lo que ha llevado a evaluar diferentes tipos de reemplazantes y sustitutos de grasa con el fin de reducir el contenido lipídico de las tortas (Rios, Pessanha et al. 2014). Dentro de los reemplazantes de grasa más investigados, se destacan, la inulina (Rodríguez-García, Puig et al. 2012, Psimouli and Oreopoulou 2013, Rodríguez-García, Puig et al. 2013, Laguna, Primo-Martín et al. 2014), los derivados de carbohidratos (Conforti, Charles et al. 1997, Khalil 1998, Kim, Yeom et al. 2001, Zambrano, Despinoy et al. 2004, Psimouli and Oreopoulou 2013), los derivados de fibra (Lee, Kim et al. 2005, Min, Lee et al. 2010, Martínez-Cervera, Salvador et al. 2011), y recientemente derivados de Chía (*Salvia hispanica L*) (Borneo, Aguirre et al. 2010, Luna Pizarro, Almeida et al. 2013, Felisberto, Wahanik et al. 2015), así como  $\beta$ -glucanos de avena y cebada (Lee, Inglett et al. 2004, Kalinga and Mishra 2009, Mahnaz Hashemiravan 2012).

Los  $\beta$ -glucanos, sean derivados de avena, hongos o levaduras, son una excelente opción como sustitutos de grasa, ya que, aparte de formar soluciones viscosas en agua (Lee, Park et al. 2011), son considerados fuentes de fibra dietaria, promoviendo efectos fisiológicos y nutricionales beneficiosos, como la reducción del colesterol y de la glucosa en la sangre, disminución de enfermedades cardiovasculares, merma de riesgo de cáncer de colon, papel protector ante el desarrollo de diabetes y disminución de insulina en el cuerpo humano (Marika 2006, Havrlentová, Petruláková et al. 2011).

Los  $\beta$ -glucanos son polímeros de unidades de glucopiranosas unidas principalmente través de enlaces glucósidos (1-3), (1-4) o (1-6) que se producen naturalmente en granos de cereales, levaduras y hongos (Zhu, Du et al. 2016). Estos polisacáridos han sido investigados, como fuentes de fibra y sustitutos de grasa en la industria de alimentos (Lee, Park et al. 2011). Es claro que, dependiendo de su fuente natural, los  $\beta$ -glucanos pueden tener diferentes características estructurales, por lo tanto, su funcionalidad puede variar. Es el caso de los  $\beta$ -glucanos extraídos de hongos, los cuales presentan enlaces

glucosídicos (1-3) y (1-6) propiedades antitumorales y estimulantes del sistema inmunológico (Chen and Seviour 2007, Ahmad, Anjum et al. 2012, Zhu, Du et al. 2015).

El *Ganoderma lucidum* es un hongo utilizado desde hace cientos de años en la cocina y la medicina tradicional asiática. Este hongo ha sido fuente de extracción de más de 200 tipos de polisacáridos, dentro de los cuales los  $\beta$ -D glucanos (1-3),(1-6) son de los más importantes, pues juegan un rol importante en la activación de células inmunes fortaleciendo de esta manera el sistema inmunológico (Liu, Zhang et al. 2014). A pesar de lo anterior esto  $\beta$ -glucanos no han sido evaluados como sustitutos de grasa en matrices alimentarias.

En este contexto, en este trabajo se hizo una evaluación tecnológica del comportamiento de los  $\beta$ -glucanos derivados de *Ganoderma lucidum* como sustitutos de grasa en tortas. Con base en nuestro conocimiento es la primera vez que este ingrediente es investigado para reemplazar grasa en productos de panificación.



# 1. Marco teórico

## 1.1 Tortas

El concepto de torta varía ligeramente en diferentes partes del mundo, pero claramente se podría definir una torta como un producto cuyos ingredientes básicos son harina (de trigo), azúcar, huevos, agua y grasa o aceite, los cuales por medio de proceso de batido forma un sistema de emulsión de grasa en agua en la cual las partículas de azúcar y de harina se encuentran dispersas en la fase acuosa que al hornearse y sufrir algunas reacciones químicas se convierte en un alimento sólido de forma definida con determinadas características de textura, color y humedad (Cauvain 2003).

De acuerdo a la relación de sus ingredientes, las tortas se pueden clasificar en dos grandes clases: (i) Tortas de alta proporción, en las cuales la relación entre el azúcar y la harina están por encima de uno. Este tipo de tortas generalmente no se produce en Colombia por el tipo de harinas que se manejan en el país, pero en Estados Unidos pertenecen a este tipo las *Yellow Layer Cake* y las *White Layer Cake*, las cuales son ricas en grasa; (ii) Tortas de baja proporción, en las cuales el contenido de azúcar es menor o igual al de la harina. Un ejemplo de este tipo de producto son las tortas que generalmente se manejan en el país (Wilderjans, Luyts et al. 2013).

Las tortas también pueden ser clasificadas de acuerdo a su método de producción, como batido, espuma y chiffon. En la elaboración por batido se mezclan la grasa y el azúcar hasta formar una ligera crema, y a continuación se agregan ingredientes líquidos alternados con los secos. En la preparación por espuma los huevos y el azúcar son mezclados hasta obtener una espuma a la cual se le agregan ingredientes secos previamente tamizados. El método de chiffon une tanto el batido como la elaboración por espuma. De esta manera un cremado de azúcar, grasa, yemas de huevo y harina es

integrado a una espuma de elaborada con clara de huevo y un poco de azúcar de manera envolvente tratando incorporar aire a la mezcla (Hanneman 2005).

## **1.1.1 Funcionalidad de los ingredientes en las tortas**

### **1.1.1.1 *Harina***

Las tortas pueden ser fabricadas con la mayoría de tipos de harina de trigo, pero los mejores resultados de calidad se obtienen cuando son fabricadas con harina clorinada de trigo blando con un porcentaje de proteína del 8-11% y un tamaño de partícula más pequeño de lo normal. El tratamiento de clorinado mejora el rendimiento en las tortas, pues causan cambios en las proteínas de la harina, dando como resultado un incremento en la capacidad de dispersión que va acompañado en la calidad del horneado de las tortas. Además, en este tratamiento del harina se tiene evidencia de despolimerización y oxidación de almidones, que incrementa la capacidad de hinchazón de los gránulos durante el horneado (Penfield and Campbell 1990).

La harina es el ingrediente estructural más importante de las tortas ya que incrementa la viscosidad del batido, evitando que colapse durante el horneado. También hay que tener en cuenta que las proteínas de la harina se encuentran en el batido de forma dispersa y discreta dando estructura a la espuma (Wilderjans, Luyts et al. 2013).

### **1.1.1.2 *Azúcar***

La sacarosa es el azúcar más comúnmente utilizado para endulzar las tortas, pues cumple diferentes funciones a parte de dar sabor. Dentro de estas funciones está el efecto abrasivo de la grasa que produce la descomposición de agregados de cristales a tamaños más pequeños, que generan una mejor aireación de la grasa y un mejor mezclado. El azúcar también permite la reducción del desarrollo del gluten de la harina lo que hace las tortas más tersas. Otras funciones del azúcar son el control de la temperatura ambiente, el incremento de volumen del batido en el horno, la fijación de estructura para evitar el colapso y la retención de humedad en la torta debido a su



comportamiento higroscópico. Su aporte al oscurecimiento de la corteza es poco pues la sacarosa es un azúcar no reductor (Penfield and Campbell 1990, Cauvain 2003).

#### **1.1.1.3** *Líquidos*

Los líquidos en las tortas (agua, leche, jugos de fruta o vinos) sirven como solvente de la azúcar, la sal y el polvo de hornear. Los líquidos hidratan las proteínas de la harina y participan en la gelatinización del almidón. Como el agua es el principal líquido utilizado en la producción de tortas, en ella se dan las reacciones de coagulación de proteínas, de gelatinización del almidón y de generación de gas a partir del agente leudante. La leche es otro líquido utilizado en la producción de la mayoría de las tortas, ya que contiene proteínas y lactosa, las cuales participan en el coloreado de la corteza. Como en el pan un poco de exceso de líquidos contribuye en la conservación de la calidad de las tortas (Penfield and Campbell 1990, DesRochers, Seitz et al. 2003).

#### **1.1.1.4** *Huevos*

A parte de los aportes nutricionales, de color y de sabor que aportan a este tipo de preparaciones, los huevos realizan diversas funciones en el proceso de elaboración de una torta. Este ingrediente proporcionando estructura debido a la rápida coagulación de sus proteínas. También aportan volumen, ya que la fracción de globulina de la clara es un buen agente formador de espuma mientras que la ovomucina le ofrece estabilidad, logrando conservar el aire atrapado en el proceso de cremado, y reteniendo en el horneo el gas generado por los leudantes, evitando la coalescencia de las celdas de aire en la masa, lo que también contribuye a la formación de una miga uniforme y de textura deseable. Tras el calentamiento, las proteínas se desnaturalizan estableciendo la estabilización de la estructura de la torta evitando, que esta colapse al terminarse la cocción (DesRochers, Seitz et al. 2003).

La yema de huevo cumple funciones muy importantes, pues debido a su alta concentración de lípidos es considerada como un suavizante el producto final, y por su contenido de lecitina contribuye a que la emulsión sea factible y el batido se vea homogéneo (Wilderjans, Luyts et al. 2013).

#### 1.1.1.5 *Agentes leudantes*

Los agentes leudantes tienen como función airear el batido y lograr al final un tierno y poroso producto. Esta porosidad da como resultado un buen volumen, una estructura brillante y una miga uniforme de textura tierna (DesRochers, Seitz et al. 2003). Generalmente cuando los ingredientes generan un medio ácido en el batido, como lo son las tortas de chocolate elaboradas con cocoa ácida, se agrega como leudante bicarbonato de sodio. Cuando la matriz presenta un pH un poco más neutro se utiliza una combinación de bicarbonato de sodio con sales de un ácido débil, las cuales podrían ser fosfato mono-cálcico, pirofosfato ácido de sodio, tartrato mono potásico (crémor tártaro), fosfato de sodio y aluminio, entre otros. Además, se agrega un almidón como diluyente para estandarizar la fuerza de esta levadura en polvo (Penfield and Campbell 1990). El objetivo primordial del agente leudante a base de bicarbonato es que debe producir aproximadamente el 12 % CO<sub>2</sub> basado en el peso del producto para generar un efectivo aumento del volumen (DesRochers, Seitz et al. 2003).

Los polvos de hornear pueden ser de acción rápida (generan CO<sub>2</sub> desde los primeros momentos de batido), de acción lenta (liberan gas solamente en el momento de horneado), y de doble acción (reaccionan parcialmente a baja temperatura, pero necesitan temperaturas más altas para completar su reacción). Este último tipo de leudante es el más utilizado en la producción de tortas comerciales (Cauvain 2003).

#### 1.1.1.6 *Margarina y shortening*

Las margarinas para la elaboración de tortas están compuestas al menos de 80% de triacilglicérols saturados e insaturados, de cadena larga o corta, provenientes de aceites de palma, 16% de agua, saborizantes, colorantes, preservantes y emulsificantes, los cuales están compuestos por mono y dio glicéridos (Wilderjans, Luyts et al. 2013).

Otro tipo de grasa muy común en la elaboración industrial de tortas son los *shortening* o grasas anhidras, las cuales son mezclas de aceites con ligera plasticidad, que han sido enriquecidas con emulsificantes para ser utilizadas con mejores resultados. Este tipo de grasas presentan mayores efectos negativos a la salud por su alta concentración de ácidos grasos insaturados (Rios, Pessanha et al. 2014).

A pesar de sus efectos negativos en la salud, las margarinas y los *shortening* cumplen diversas funciones en la fabricación de tortas, como la aireación del batido al atrapar aire en el proceso de cremado con el azúcar. Esto se debe a que los cristales inestables  $\beta'$  que hacen parte de la estructura de la grasa sólida, participan en la formación de burbujas de aire las cuales aportan volumen en el horneado al expandirse por efecto del leudante y del calor. En segundo lugar, la grasa rodea las redes de proteína y de almidón evitando la formación de un gluten continuo, lo cual generaría una torta dura o contraída. En tercer lugar, al ser emulsionados los líquidos en el batido con ayuda de los mono y diglicéridos o de la lecitina del huevo, la grasa ayuda a dar humedad a la miga, por lo tanto contribuye a dar una textura más suave y más tierna, y alarga más la vida útil del producto (Wilderjans, Luyts et al. 2013).

## 1.2 Reemplazantes de grasa

La grasa en la dieta cumple diversas funciones, es fuente de energía, ayuda al crecimiento y al desarrollo, proporciona ácidos grasos esenciales para mantener la estructura de la membrana celular y para sintetizar prostaglandina. Es importante en la absorción de vitaminas y algunos compuestos liposolubles (Mattes 1998). Como ingrediente tiene una función importante en las cuatro características principales de los alimentos que son: apariencia, textura, sabor y sensación en la boca (Chung and Min 2004). A pesar de sus virtudes, el alto consumo de grasa está estrechamente relacionado con sobrepeso y obesidad, lo cual conlleva a enfermedades cardiovasculares, diabetes, y artritis, entre otras. Es por esto que en las últimas décadas se han desarrollado ingredientes que la reemplacen, sin afectar sensorialmente los productos con alto contenido graso (Swanson 2003).

Un reemplazante de grasa es un ingrediente que se utiliza para proporcionar en un producto algunas o todas las funciones de la grasa, produciendo menos calorías. Estos ingredientes deben ser capaces de replicar todas las funciones (o las más importantes) de la grasa en los alimentos (Mattes 1998). Los reemplazantes de grasa están generalmente clasificados en varios grupos: los sustitutos, los miméticos, grasas bajas en calorías y los extensores. Los sustitutos son macromoléculas que química y físicamente se parecen a los triglicéridos. Son sintetizados o derivados de grasas o aceites convencionales elaborados por medio de modificaciones enzimáticas que presentan

propiedades fisicoquímicas y funcionalidad similares a las de la grasa. Los sustitutos se sustituyen en los alimentos gramo por gramo, son poco asimilados por el organismo ya que son resistentes a la hidrólisis de las enzimas digestivas, y presentan un contenido calórico muy bajo. Los miméticos de grasa son ingredientes derivados generalmente de carbohidratos, proteínas o componentes grasos que presentan propiedades fisicoquímicas diferentes a las de la grasa, pero que incluidos en los alimentos imitan las características sensoriales de esta, como viscosidad humedad y apariencia. Su sustitución no se hace gramo a gramo. Su contenido calórico es bajo, y se pueden utilizar solos o combinados. Además, requieren alto contenido de agua para lograr su funcionalidad (Ognean, Darie et al. 2006)(Swanson 2003). Las grasas bajas en calorías son triglicéridos sintéticos resultantes de la combinación de ácidos grasos no convencionales ligados al glicerol. Los extensores de grasa son un sistema de reemplazantes de grasa que contiene una proporción de aceites o grasas estándar combinados con otros ingredientes. Su finalidad es optimizar la función de la grasa, permitiendo así una disminución en la cantidad usual utilizada en el producto (Lucca and Tepper 1994).

### **1.2.1 Sustitutos de grasa**

Los principales sustitutos de grasa y algunas de sus aplicaciones se encuentran resumidos en la Tabla 1-1.

**Tabla 1-1** Sustitutos de grasa. Fuente:(Chung and Min 2004)

Tipo de sustituto	Fuente	Densidad energética	Aplicación
Olestra	Mezcla de hexa, hepta y octaestres de sacarosa.	No tiene calorías	Preparación de snacks
Caprenina	Triacilglicerido caprocapilobehenico	5 kcal/g	Confites, chocolates y dulces suaves.
Salatrim	Molecula derivada de triglicéridos de cadena larga y corta	5 kcal/g	Chocolates, caramelos, Toffes, cremas de cobertura y alimentos horneados
Sorbestrim	Mezcla de tri, tetra y pentaestres de sorbitol	1,5 kcal/g	Aderezos, productos horneados y frituras
DDM	Dialquil dihexadecilmalonato	No tiene calorías	Reemplaza al aceite en frituras
EPGs	Gliceroles esterificados de óxido de propileo	Muy bajo nivel calórico	Postres fríos, ensaladas y frituras
Emulsificantes	Esteres mono, digliceridos, estearil lactilato de sodio y estrés de poliglicerol	9 Kcal/g	Tortas, galletas, bizcochos, margarinas, postres, coberturas, glaseados

### 1.2.2 Miméticos de grasa

Los miméticos de grasa provienen de tres fuentes diferentes, carbohidratos, proteína y grasa. La Tabla 1-2 muestra los miméticos más comunes y sus aplicaciones

**Tabla 1-2** Miméticos de grasa. Fuentes:(Ognean, Darie et al. 2006)

Tipo de mimético		Fuentes	Densidad energética	Aplicación
<b>Derivados de proteína</b>	Simplese 100	Proteína concentrada y microparticulada de suero lácteo al 23%	4kcal/g	Helados, salsas, productos horneados, coberturas, postres helados, Yogurt queso, sour cream, margarinas, dips, sopas, salsas
	Simplese 300	Proteína de suero láctico concentrada y microparticulada, clara de huevo, azúcar y pectina.		
	Simplese D-100	Proteína de suero láctico concentrado microparticulada al 54%		
	Simplese D-500	Proteína de suero láctico concentrada y microparticulada al 36%		
	Lita	Proteína zeína de maíz	1-4 kcal/g	Productos horneados, productos lácteos, sopas salsas, helados, quesos, productos cárnicos y salsas.
	Trablaizer	Proteína de clara de huevo y proteína de suero láctico mezclado con goma xanthan		
	Proteína concentrada de soja	70% de proteína de soja y 22% de fibra dietaria	1-4 Kcal/g	Productos de carne, queso, dips, sour cream,
	Proteína de guisantes	Proteína de guisantes extraída por ultrafiltración		Productos de carne, salsas, productos horneados y bizcochos.

Tipo de mimético		Fuentes	Densidad energética	Aplicación	
Derivados de carbohidratos	Gomas	Guar	Galactomanano extraído de las semillas de leguminosas	No tiene calorías	Aderezos de ensaladas, productos horneados y salsas
		Xantar	Extraída de polisacáridos microbianos por la fermentación aeróbica de <i>Ceratonía campestris</i>		
		Algarroba	Extraída de las semillas del <i>Ceratonía silique</i>		
		Carragenina	Polisacáridos sulfatados extraídos del alga marina de clase <i>Rhodophyta</i>		
		Goma arábica	Exudado seco de del árbol de <i>Accacia</i>		
		Pectina	Paredes celulares de polisacáridos extraídos de la pulpa la manzana, la cascara del limón y la pulpa de la remolacha dulce		
	Almidones	Almidones nativos o modificados de hidrolisis enzimática, oxidación, dextrinización o mono sustitución disponible en formas pre gelatinizadas.	Almidones extraídos de maíz, papa, yuca y arroz	4 Kcal/g	Pastas, margarinas , aderezos, salsas, productos horneados, coberturas y emulsiones para carne
		Oatrim	Harina de avena hidrolizada con 5% de Beta glucanos	1-4 kcal/g	Aderezos para ensaladas, mayonesas , productos cárnicos, productos horneados, helados, salsas, sopas, queso, margarinas y alimentos dietéticos
		Maltodextrina	Producida por hidrolisis parcial de almidón proveniente de maíz, arroz, avena trigo o tapioca	4 kcal/g	Productos horneados, aderezos, coberturas, salsas postres, procesados

Tipo de miméticos		Fuentes	Densidad energética	Aplicación	
Derivados de carbohidratos	Celulosas	Celulosa micro cristalina	No tiene calorías	Aderezos, salsas, postres helados, productos lácteos.	
		Celulosa en polvo		Freído y productos horneados.	
		Metil celulosa	No tiene Calorías	Mezclas secas de para salsas, productos horneados, postres helados	
		Hidropropil metil celulosa		Salsas y aderezos	
	Polímeros de azúcar	Polidextrosa	Polímero de glucosa con sorbitol y ácido cítrico	3 kcal/g	Pastas de pastelería, confites, aderezos, coberturas, postres fríos.
		Maltitol	Polialcohol producido por polimerización de maltosa	2,1kcal/g	Galletas, coberturas, brownies, tortas, Galletas, aderezos, mezclas secas.
		Inulina	Mezcla de polímeros de fructosa extraída principalmente del Agave	1,5 kcal/g	Postres fríos, salsas, sopas, productos horneados,
	Fibra dietaria	$\beta$ -glucano	Fibra soluble extraída de avena, cebada, levaduras hongos o maíz		Galletas, productos horneados, tortas, postres fríos, tortas



## 1.2.3 Principales miméticos evaluados en tortas

### 1.2.3.1 *Miméticos a base de carbohidratos*

Diversos tipos de miméticos tipo han sido evaluados en tortas y otros productos similares como muffins. Khalil (1998) evaluó el efecto en de la sustitución de grasa con tres ingredientes comerciales derivados de carbohidratos, N-Flate ( mezcla de solidos no grasos de leche, almidones modificados y goma guar), Paselli MD (maltodextrina de papa) y Litesse (polidextrosa). La sustitución se hizo en los niveles 0, 25, 50 y 75% de grasa. Como resultado la gravedad específica de los tratamientos de N-Flate y Paselli MD al 25 y 50% disminuyó al ser comprada con el control. Las tortas con 25 y 50% de sustitución con los tres concentrados presentaron incrementos en el volumen, diferencias significativas en las coordenadas de color, así una mayor aceptación por un panel sensorial.

El efecto de la sustitución total de grasa por Maltodextrina(MD), amilodextrina(AD), maltodextrina octenil succinilada (OSAD) y de mezclas de estos carbohidratos fueron analizadas por Kim, Yeom et al.(2001) obteniéndose una reducción en la gravedad específica y en el índice volumen con MD, mientras que para los tratamientos con AD y OSAD el índice de volumen aumentó. En cuanto al análisis de textura evaluado por un panel sensorial entrenado, las tortas con una mezcla de MD y AD presentaron características similares de textura al control. Los resultados de TPA instrumental indicaron que la inclusión de cada uno de estos carbohidratos afectó de forma positiva la textura de las tortas.

De forma similar Zambrano, Despinoy et al. (2004) analizó los resultados de la sutitucion de 25 , 50, 75 y 100% de grasa por gomas xantan y guar, en la densidad específica de los batidos, volumen, contenido de humedad y textura, así como el efecto de la sustitución en la vida media, para el desarrollo de una torta ligera. De acuerdo a los resultados obtenidos por Zambrano y Despinoy, la densidad específica de los batidos aumentó a medida que se incrementaban los niveles de sustitución, de forma contaría disminuyo el contenido de humedad y el volumen. La actividad de agua disminuyó, para

todos los tratamientos después de 20 días de conservación y de forma contraria los valores de firmeza aumentaron. Teniendo en cuenta estos resultados y los obtenidos en una prueba hedónica, los autores concluyeron que el mejor tratamiento fue obtenido con la sustitución de 50% de grasa con goma xantan.

Continuando con los sustitutos derivados de carbohidratos Psimouli and Oreopoulou (2013) compararon 5 miméticos de grasa (maltodextrina, inulina, oligofructosa, pectina cítrica y proteína microparticulada) en niveles de remplazo de 35, 65 y 100% de shortening. Las propiedades evaluadas dieron como resultado que un 35% de sustitución para cada uno de los reemplazantes evaluados no indujo, en general, a diferencias significativas en cuanto a las características reológicas del batido, gravedad específica, volumen, textura, color de corteza y miga, así como en los resultados obtenidos de un análisis descriptivo realizado por un panel sensorial acreditado. Sustituciones del 65% alcanzaron valores más bajos de viscosidad y de incorporación de aire el batido, lo que generó una disminución del volumen y un aumento en la dureza. A pesar de lo anterior los tratamientos con 65% presentaron atributos aceptables a nivel de textura y características sensoriales.

#### **1.2.3.2 Inulina**

Este carbohidrato no digerible ha sido ampliamente evaluado como sustituto de grasa en diversos productos de panificación entre ellos las tortas. Rodríguez-García, Puig et al. (2012) analizaron los efectos de la inclusión de inulina en 5 niveles de sustitución de grasa (0, 35, 50, 70 y 100%) en una torta esponja. Los autores encontraron que la inclusión de inulina disminuyó la viscosidad de los batidos, afectando el tamaño de burbujas de aire a medida que aumentaba el nivel de inclusión. En cuanto al color se encontraron valores de  $\Delta E^*$  que indicaron diferencias significativas entre los tratamientos y el control, perceptibles al ojo humano. Los valores de TPA presentaron incrementos en la dureza, cohesividad y adhesividad, a medida que aumentaba la inclusión de inulina. El análisis sensorial hecho con un panel no entrenado reveló que los tratamientos hasta el 70% de sustitución presentaron buena aceptación.

Siguiendo con el mismo sustituto de grasa los autores del trabajo anterior evalúan el remplazo total de aceite por inulina, así como el efecto del agente leudante en presencia de inulina y de aceite. Los resultados obtenidos por Rodríguez-García, Puig et al. (2013) ratificaron la importancia de la grasa en estabilidad de los batidos, la función del agente leudante en la esponjosidad de las tortas y los defectos generados la sustitución total de inulina por aceite, tanto en las propiedades físicas de batidos y de la tortas.

Buscando mejores características en tortas con altos niveles de sustitución de grasa por inulina Rodríguez-García, Sahi et al.(2014) evaluó los efectos de lipasa (0.003 y 0.006 g/100g de harina) y emulsificante (0.5 y 1 g/100g de harina) para remplazos de grasa en tres niveles (0, 50 y 70%) de inulina. Los resultados indicaron que los tratamientos con sustitución de grasa, con 0.003 g/100g de harina de lipasa y 0.5 g/100g de harina de emulsificante presentaron una estructura de miga similar a la torta control. Las mejores características para los tratamientos con sustitución de 50 y 70% de inulina de obtuvieron con menores concentraciones de lipasa y emulsificante.

Como complemento de los trabajos anteriores Rodríguez-García, Salvador et al. (2014) evaluó la doble sustitución de grasa por inulina en dos niveles (0 y 50%) y azúcar por oligofructosa en 4 niveles de reemplazo (0, 20, 30, 40 y 50%). Los tratamientos con inclusión de inulina y oligofructosa generaron batidos con bajos valores de viscosidad aparente. Las tortas bajas en grasa presentaron en los batidos densidades de burbujas de aire, generando tortas con menores volúmenes frente al control. En general, los tratamientos con 50% de sustitución de grasa y 30% de azúcar presentaron aceptación ante el panel sensorial.

### **1.2.3.3** *Miméticos derivados de fibra*

Teniendo en cuenta las propiedades nutricionales de la fibra dietaría (El Khoury, Cuda et al. 2012) diversos autores han evaluado algunos concentrados comerciales de fibra como sustitutos de grasa en tortas, como lo refleja el trabajo de Lee, Inglett et al. (2004) quienes reemplazaron *shortening* en tortas por polvo de linaza y Nutrim, el cual es un concentrado de salvado de avena (Jones 1996), obteniendo como resultado sustituciones del 40% de ambas fibras, tratamientos con volúmenes similares al control. La inclusión

de estos ingredientes afectó el color de la miga y la corteza. En niveles por encima del 40% incrementaron la dureza y la cohesividad.

Partiendo también de un concentrado de fibra comercial, Oatrim compuesto de  $\beta$ -Glucanos de avena, Lee, Kim et al (2005) encontraron que al sustituir grasa por este mimético derivado de fibra en 20, 40 y 60% la gravedad específica de los batidos aumentó y la viscosidad disminuyó ocasionando tortas con menores volúmenes en los tratamientos. Los autores concluyeron después del efecto de la inclusión de Oatrim que el tratamiento con el 20% de sustitución de grasa no presenta diferencias significativas con la torta control. Resultados similares fueron obtenidos por Mahnaz, Hashemiravan (2012) quienes investigaron el efecto de la sustitución de grasa en dos niveles (20 y 40%) con Nutrim Oat bran, el cual es un concentrado comercial derivado de salvado de avena con 10% de  $\beta$ -glucanos. Los resultados indicaron que el volumen de las tortas disminuyó y la dureza aumentó notablemente en el nivel más alto de sustitución. Estos resultados indicaron que el tratamiento del 20% de reemplazo de grasa presentó menos diferencias frente al control.

Martínez-Cervera, Salvador et al. (2011) investigaron el efecto de sustitución de grasa en muffins de chocolate por fibra extraída de la cascara de cacao. Los niveles evaluados (25, 50 y 75%) dieron como resultado bajos valores de dureza, incrementos en el contenido de humedad a medida que se incrementaba el contenido de fibra de cocoa. Los resultados indicaron que los muffins con el menor nivel de sustitución presento características similares al control.

#### **1.2.3.4** *$\beta$ -glucanos como sustitutos de grasa*

Realmente son muy escasos los trabajos que han evaluado la sustitución de grasa por  $\beta$ -glucanos en productos de panificación. Kalinga (2010) evaluó el efecto de la inclusión de  $\beta$ -glucanos derivados de avena y cebada en tortas como sustituto de grasa. En este trabajo el autor analizó como afectó la presencia de estos polisacáridos la gelatinización de los almidones provenientes de la harina y cual seria los resultados de esta interacción en el producto final. Análisis de gravedad específica, comportamiento reológico de los batidos, textura y evaluación sensorial indicaron que el efecto los  $\beta$ -glucanos, en altos

niveles de sustitución de grasa, genera consecuencias negativas para las características tecnológicas de las tortas (Kalinga y Mishra (2009).

Sampson, Tetteh et al(2014) investigaron la sustitución de grasa en galletas para pie con  $\beta$ -glucanos de maíz, después de analizar las características reológicas de la masa, y la aceptación por un panel no entrenado, concluyeron que el que el mejor tratamiento fue el de 15% de inclusión.

Como podemos ver los  $\beta$ -glucanos de cebada, avena y maíz han sido utilizados como sustitutos de grasa en varias matrices de productos horneados obteniéndose buenos resultados a bajos niveles de sustitución. A pesar de esto no se ha encontrado en la literatura investigada ningún tipo de sustitución con beta glucanos extraídos de *Ganoderma lucidum*.

### **1.3 *Ganoderma lucidum***

*Ganoderma lucidum* es un hongo basidomiceto que pertenece a la familia de Ganodermataceae poliporales el cual ha sido usado por cientos de años como un ingrediente y como medicamento de la medicina tradicional asiática especialmente en la China (Dong, Wang et al. 2012). La cantidad de información sobre este hongo es abundante, sin embargo existe una combinación de misticismo y pseudociencia sobre sus propiedades medicinales (Paterson 2006). Este hongo está involucrado en procesos de degradación de lignocelulosa en la naturaleza y es llamado de “Ling-Zhi” en China, “Reishi” en Japón y “Yeongji” en Corea, países en los cuales se considera que incrementa la vitalidad y longevidad humana(Ma, Hsieh et al.). También se le han atribuido propiedades terapéuticas frente a enfermedades del corazón, hígado, cáncer, tumores, hiperglicemia, enfermedades inflamatorias y estimulación del sistema inmunológico (Bishop, Kao et al. 2015). Es por esto que comercialmente es cultivado para elaboración de té, polvos y extractos que se producen a partir de diferentes partes de su cuerpo los cuales son usados como un ingrediente en la medicina, o como parte de complementos nutricionales (McMEEKIN 2004).

Sus propiedades medicinales y nutricionales reconocidas por cientos de años han llamado la atención de la medicina tradicional y numerosos investigadores, buscando el análisis de sus componentes para identificar los metabolitos responsables de las virtudes del *Ganoderma Lucidum*. Es por esto, que esta seta ha sido la más estudiada con respecto a sus efectos hepatoprotectores, aislándose aproximadamente 400 sustancias dentro de las cuales están polisacáridos, triterpenoides, nucleósidos, ergosteroles, ácidos grasos, péptidos, proteínas y trazas de otros elementos. Entre los más importantes monosacáridos que hacen parte de las cadenas de polisacáridos que se han encontrado en este hongo está la glucosa, galactosa, manosa, arabinosa, xilosa, ácido glucurónico, ácido galacturónico y ramosa, los cuales conforma las cadenas de D-glucopiranosas que constituyen los  $\beta$ -glucanos  $\beta$ -(1-3),  $\beta$ -(1-6), los cuales han sido los más importantes polisacáridos bioactivos aislados de *Ganoderma Lucidum* (Leskosek-Cukalovic, Despotovic et al. 2010). En cuanto a los triterpenoides se han identificado entre otros, 40 tipos de ácidos ganodéricos, 14 ganoderioles, 5 ácidos ganolucídicos y 15 ácidos lucidénicos. Tanto los polisacáridos como los triterpenoides han sido los metabolitos más estudiados en cuanto a su estructura y sus propiedades, ya que a estos compuestos se les atribuye los efectos medicinales del *Ganoderma Lucidum* (Paterson 2006).

Dentro de esas propiedades medicinales atribuidas a los polisacáridos y terpenoides, se considera también como los constituyentes responsables de la protección contra la lesión hepática producida por toxinas. De la misma manera, extractos de polisacáridos obtenidos de *Ganoderma lucidum*, han mostraron actividad contra la antihepatitis B reduciéndola en un 25%. Los mecanismos de los efectos hepatoprotectores todavía no están bien definidos pero se sugiere que están relacionados a la actividad antioxidante y a la inhibición de la enzima  $\beta$ -glucuronidasa que es indicador de daño hepático (Soares, de Sá-Nakanishi et al. 2013). La Tabla 1-3 resume los efectos más importantes atribuidos a principales compuestos extraídos de la especie *Ganoderma*.

**Tabla 1-3** Compuestos importantes de la especie *Ganoderma* y sus principales efectos

Fuente:(Paterson 2006)

Compuesto	Efecto
Adenosina	Agregación plaquetaria
Lectinas	Mitogénico
Polisacáridos	Antifibrotico
	Antiherpetico
	Anti-inflamatorio
	Hepatoprotector
	Hipoglucemico
	Inmuno moduladorio y anti tumoral
	Protector contra las radiaciones, Daños en el ADN y antioxidante
Proteína LZ-8	Inmunomoduladorio
	Inmunosupresivo
Terpenoides y compuestos relacionados	Anti bacterial
	Anti inflamatorio
	Anti-oxidante
	Agregación plaquetaria
	Anti viral
	Citotoxocidad
	Inhibidor de enzimas
	Hepatoprotector
	Hipolipidemico (inhibidor de colesterol)
	Hipotensivo

## 1.4 $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum*

Más de 200 polisacáridos han sido aislados y purificados de los frutos, esporas, micelios y del hongo *Ganoderma lucidum*(Liu, Zhang et al. 2014), Dentro de estos las glicoproteínas, los polisacáridos ( $\beta$ -glucanos) y los hetero-polisacáridos ( glucuronoglucanos, manoglucanos y xilogucanos ) han sido estudiados en relación a su actividad anticancerígena e inmunomoduladora. Dentro de estos compuestos, los  $\beta$ -glucanos ha sido propuestos recientemente como potentes agentes inmunomoduladorios(Ríos-Cañavate 2008). Aunque los  $\beta$ -glucanos pueden ser extraídos de la levadura, avena, cebada, algas y bacterias. La principal fuente de estos polisacáridos, con importancia médica, son las paredes celulares de hongos, las cuales están constituidas por biopolímeros tales como la quitina, la celulosa, los (1-3), (1-6)  $\beta$ -glucanos , $\alpha$ -glucanos, y complejas glicoproteínas(Vannucci, Krizan et al. 2013).

Los  $\beta$ -glucanos se encuentran dentro de la parte interna de la pared fúngica y su estructura están basados en cadenas de D-glucopiranosas. Dependiendo de su estructura anomérica pueden ser  $\alpha$ -D-glucanos,  $\beta$ -glucanos encontrándose también, mezclas de  $\alpha$ ,  $\beta$ -D-glucanos, con enlaces glucosúricos que varían entre (1-3), (1-4) y (1-6). Dependiendo de las unidades de constitución pueden ser homogluconos (solamente moléculas de glucosa) o heterogluconos (no solamente moléculas de glucosa). Los  $\beta$ -glucanos fueron identificados por Riggi y Luzio como un compuesto de inmunoactivación (Vannucci, Krizan et al. 2013).

A pesar que la cantidad de polisacáridos extraídos del cuerpo de *Ganoderma lucidum* es más de 200, la investigación farmacéutica ha encontrado que aquellos que presentan mayores efectos fisiológicos, incluyendo actividad antioxidante, inmunomodulatoria y anti-tumor, son los polisacáridos con enlaces  $\beta$ -D-1-3,  $\beta$ -D 1-6, heterogluconos con enlaces  $\beta$ -1-4, y peptigluconos (Uriza 2014). Dentro de este grupo los más importantes polisacáridos bioactivos son los  $\beta$ -1-3 y  $\beta$ -1-6 D-glucanos los cuales constituyen la tercera parte de Ganology, el cual es un extracto comercial que contiene una mezcla de polisacáridos extraídos del hongo *Ganoderma lucidum*. y que ha sido ampliamente investigado por sus efectos en pacientes con cáncer avanzado (Gao, Zhou et al. 2003, Leskosek-Cukalovic, Despotovic et al. 2010).

Dado que los  $\beta$ -glucanos están localizados en diversas partes del cuerpo fructífero del *Ganoderma lucidum* los métodos de extracción dependen de las partes del hongo, del tipo de  $\beta$ -Glucanos y su de concentración así como también de la estructura y la solubilidad de los polisacáridos que se deseen extraer (Zhang, Cui et al. 2007). De esta manera, Los métodos de extracción pueden ser: la convencional, la cual se hace normalmente por medio de centrifugación en medio acuoso, cuando el polisacárido es parte extramural del mucilago o capsula. Con agua presurizada donde suelen usarse altas presiones y temperaturas, con fluidos supercríticos usando comúnmente dióxido de carbono como solvente, asistida con ultrasonido, y asistida con microondas. También existe el método biotecnológico para la obtención de  $\beta$ -glucanos en el que se parte de un inóculo y cual crece bajo condiciones controladas de pH, sustrato, temperatura para



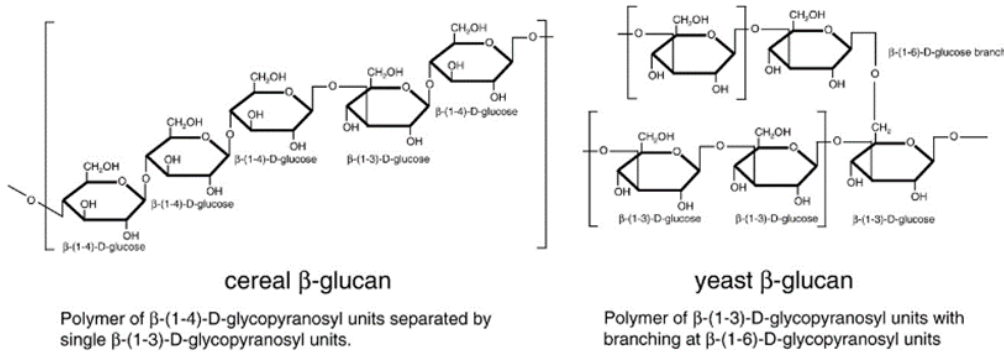
fomentar la producción específica de estos metabolitos(Ferreira, Heleno et al.)(Uriza 2014)

Las investigaciones de las características químicas de los  $\beta$ -Glucanos han sido muy importantes para llegar a inferir que su estructura está ligada a su bioactividad. El potencial de actividad biológica y antitumoral parecen estar altamente relacionados con su composición química y configuración, así como con sus propiedades físicas; como se ha demostrado desde los primeros reportes en 1981 cuando Miyazaky y Nishijima caracterizaron  $\beta$ -Glucanos (1-4), (1-6) y (1-3) a los cuales se les infirió actividad antitumoral como se ha ratificado en investigaciones más recientes. Este tipo de enlaces está presente en  $\beta$ -Glucanos, heteroglucanos, glicoproteínas,  $\alpha$ -manno-  $\beta$ -Glucanos y proteínas heterocíclicas complejas. Ha sido descubierto también que la actividad antitumoral de los polisacáridos que contienen glucosa y manosa, está relacionada a su estructura triple helicoidal, debido a que se encontró que los macrófagos humanos presentan un receptor con alta especificidad para la glucosa y la manosa en este tipo de estructuras. De esta forma la conformación triple helicoidal de este tipo de  $\beta$ -glucanos se considera un importante rasgo responsable de su actividad inmundo-estimulante(Ferreira, Heleno et al.).

#### **1.4.1 Estructura de $\beta$ -Glucanos de *Ganoderma lucidum***

Como se mencionó anteriormente los  $\beta$ -Glucanos son macromoléculas constituidas por unidades de glucopiranosas ligadas por enlaces glucosídicos ya sea a través de enlaces de configuraciones anoméricas  $\alpha$  o  $\beta$ . A pesar de que su composición se basa en monosacáridos se pueden encontrar diversidad de configuraciones con distinta posición de la secuencia de los enlaces glucosídicos en la cadena principal del polímero, con diferente grado de derivación, así como también de distinta frecuencia de las ramificaciones a lo largo de la conformación de la cadena(Kagimura, da Cunha et al. 2015). A pesar que estos polímeros son los principales componentes estructurales de las levaduras, los hongos y algunas bacterias también, cereales como la cebada y la avena, contienen  $\beta$ -Glucanos como parte de su endospermo. De esta manera dependiendo de

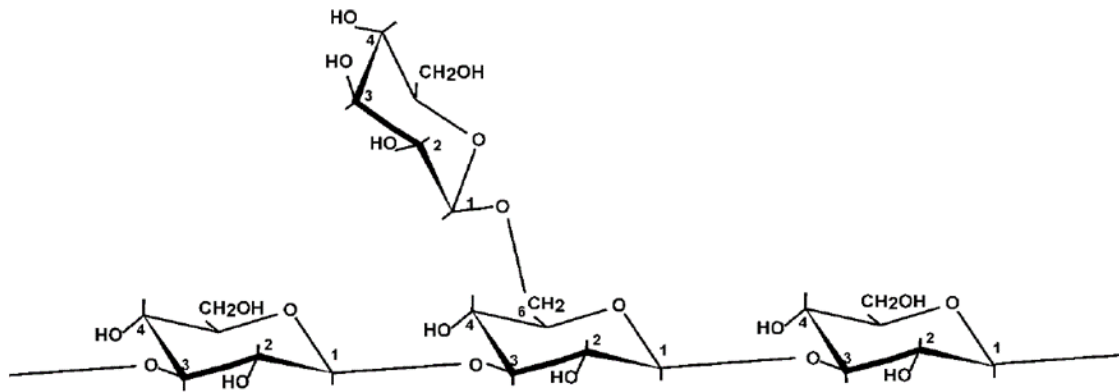
las fuentes existen diferencias en la estructura molecular de los  $\beta$ -Glucanos para cada una de ellas como lo podemos ver en la Figura 1(Volman, Ramakers et al. 2008).



$\beta$ -Glucan type	Structure	Description
Bacterial	—————	Linear $\beta$ 1,3 glucan (i.e. Curdlan)
Fungal	┆┆┆┆┆┆┆┆	Short $\beta$ 1,6 branched, $\beta$ 1,3 glucan (i.e. Schizophyllan)
Yeast	┆┆┆┆┆┆┆┆	Long $\beta$ 1,6 branched, $\beta$ 1,3-glucan (i.e. WGP $\beta$ -glucan, Betafectin™)
Cereal	—————	Linear $\beta$ 1,3/ $\beta$ 1,4-glucan (i.e oat, barley, rye)

**Figura 1-1** Estructura y esquema de varias fuentes de  $\beta$ -Glucanos. Fuente:(Volman, Ramakers et al. 2008)

Las paredes celulares del cuerpo de los hongos, entre ellos del *Ganoderma lucidum*, están constituidas entre otros polisacáridos tipo  $\beta$ -Glucanos, consistentes en residuos de 1,3  $\beta$ -Glucopiranosil ligados con ramificaciones  $\beta$ -1-6 y  $\beta$  1-4. Estas diferencias moleculares marcan por lo tanto características particulares con respecto a su solubilidad, su peso molecular, su grado de ramificación y su conformación en solución (triple hélice o simple espiral al azar). Diversos estudios ha indicado que por todas sus particularidades, los  $\beta$ -glucanos (1-3), (1-6) insolubles presenta amplia actividad biológica y por lo cual su importancia en la farmacia y en la aplicación para el diseño de alimentos funcionales (Volman, Ramakers et al. 2008). La Figura 1-2 nos muestra la estructura general de este tipo de moléculas encontradas en los hongos de la familia Ganoderma.



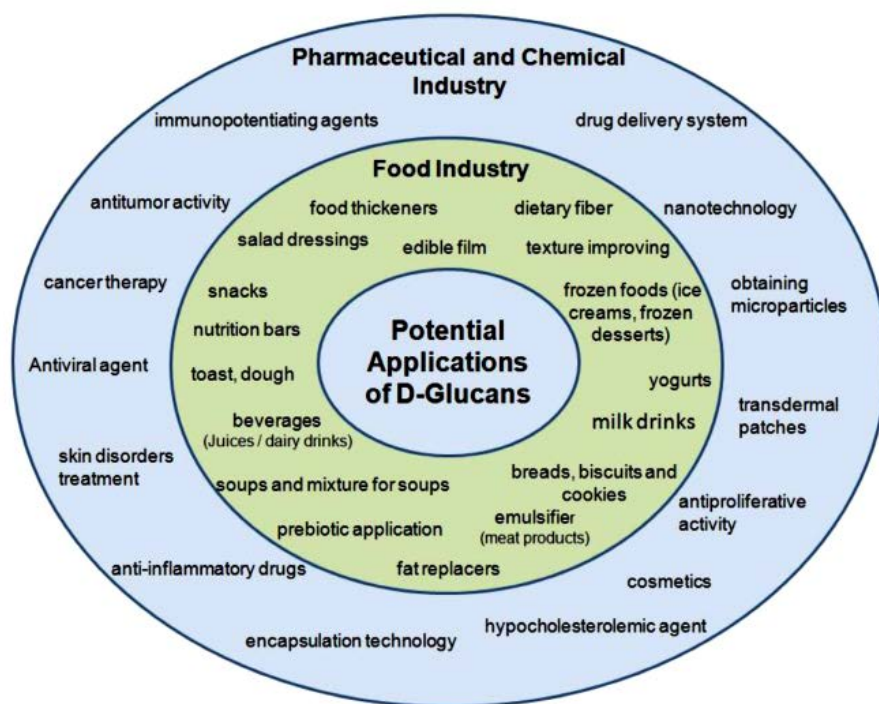
**Figura 1-2** Estructura general de  $\beta$ -Glucano de *Ganoderma Lucidum*. Fuente: (Gao and Zhou 2003).

Existen datos que sugieren que estructuras altamente ordenadas de  $\beta$ -Glucanos (1-3), (1-6) tipo triple hélice que presentan alto peso molecular son los responsables de actividad inumomodulatoria. Hay también datos que indican que la distribución de unidades del glucosil a través de la cadena principal confiere también este tipo de moléculas determinada actividad biológica. De esta manera estructuras con un peso molecular mayor a los 90 kDa con estructura triple helicoidal las cuales son estabilizadas con ramificaciones de  $\beta$ -D-glucopiranosil, presentan importante actividad inmunomodulatoria (Bohn and BeMiller 1995). Teniendo en cuenta estos parámetros, la estructura de triple hélice y el peso molecular, son factores determinantes en la unión al receptor de la membrana (CR3, aMb2 integrin o CD11b/CD18) en las cuales se inicia la respuesta inmune innata o adaptativa de los linfocitos y macrófagos, lo cual es el paso inicial para denotar la capacidad de los  $\beta$ -glucanos derivados de *Ganoderma lucidum* para modular el sistema inmunológico (Zhang, Cui et al. 2007).

#### 1.4.2 Aplicación de $\beta$ -Glucanos de *Ganoderma lucidum* en alimentos

Como se ha descrito anteriormente en este documento hay numerosas investigaciones y artículos de revisión que describen de los múltiples efectos terapéuticos de los  $\beta$ -glucanos los cuales ha llevado a buscar su potencial uso en alimentos funcionales y nutracéticos. Ya que se ha referido a estos importantes polisacáridos como modificadores biológicos de respuesta debido a su habilidad para desencadenar una

reacción del sistema inmune contra células tumorales, infecciones bacteriales y virales, inflamaciones y también para provocar un incremento en la síntesis de hormonas y células del sistema inmune huésped. Además su capacidad para bajar los niveles de colesterol y azúcar en la sangre, actuando como una fibra dietaria no digerible, con capacidad antioxidante, así como hepatoprotector y desintoxicante molecular (Giavasis 2014), la industria química, farmacéutica y de alimentos lo ha contemplado con ingrediente para sus productos, como lo podemos ver en la Figura 1-3.



**Figura 1-3** Potenciales aplicaciones de los  $\beta$ -Glucanos en la industria de los alimentos, farmacéutica y química. Fuente: (Kagimura, da Cunha et al. 2015).

Teniendo en cuenta la figura anterior, las características funcionales de los  $\beta$ -Glucanos y la aprobación de la FDA, se considera seguro el consumo de este ingrediente aplicado a productos de panificación, leche y derivados lácteos, cereales y sus derivados, jugos de frutas, derivados de vegetales y sopas entre otros (FDA 2011). Diversas investigaciones han evaluado el comportamiento de estos polisacáridos en distintas matrices alimentarias encontrándose propiedades tecnológicas importantes para la industria alimentaria como espesante, estabilizante, emulsificante, gelificante, ligante de agua, ligante de aceite,

sustituto de grasa, constituyente en la fabricación de películas e recubrimiento para frutas y prebiótico, lo que ha llevado a ser integrados a diversos tipos de alimentos, tanto para humanos como para animales (Zhu, Du et al. 2016). Claramente los  $\beta$ -Glucanos derivados de cereales han tenido más desarrollo en la industria de alimentos en productos como la pasta (Yokoyama 1997), pan, tortas, galletas, sopas, salsas bebida y algunos productos lácticos y cárnicos (Brennan and Cleary 2005, Havrlentová, Petrušáková et al. 2011, Ahmad, Anjum et al. 2012, Uriza 2014, Zhu, Du et al. 2016). Como también se ha desarrollado concentrados comerciales con un 10- 20 % de concentración de  $\beta$ -Glucanos como son las marcas Oatrim y Nutrim los cuales ser integrados a diferentes matrices alimentarias (Ahmad, Anjum et al. 2012, El Khoury, Cuda et al. 2012).

En cuanto a los  $\beta$ -Glucanos de hongos y levaduras aunque hay diversa cantidad de literatura que describe sus propiedades funcionales su uso comercial se resume a nuevos productos farmacéuticos y concentrados, por lo cual su aplicación en los alimentos es limitada y no ha sido investigada ampliamente (Giavasis 2014). Dentro de las pocas inclusiones de  $\beta$ -Glucanos de *Ganoderma lucidum* se encuentra hecha por Uriza (Uriza 2014) en el cual evaluó los efectos de estos polisacáridos en sobre las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de un yogur, en cinco niveles de concentración (0-1,25%). Generalmente las aplicaciones de  $\beta$ -Glucanos de hongos, especialmente de *Ganoderma lucidum* pretenden producir alimentos funcionales debido a las propiedades bioactivas de este tipo de polisacáridos, Sin embargo, es importante analizar la interacción de estos biopolímeros con los componentes de la matriz pues pueden afectar si bioactividad. Los  $\beta$ -Glucanos de *Ganoderma lucidum* son degradados por pectinasas y dextranasas, por lo cual su actividad biológica en alimentos que contienen este tipo de enzimas no es segura. También cuando estos polisacáridos interactúan con carrageninas su actividad antitumoral es reducida (Giavasis 2014).

Teniendo en cuenta lo anterior, algunos estudios han incluidos estos polisacáridos de hongos en matrices alimentarias como es el caso de los  $\beta$ -Glucanos de *Lentinus edodes* los cuales fueron utilizados parcial de harina de trigo en alimentos horneados con el fin de producir un alimento rico en fibra, bajo en calorías con características funcionales (Kim, Lee et al. 2011). De forma similar se hizo un reemplazo parcial de harina de trigo

también con  $\beta$ -Glucanos de *Lentinus edodes* en fideos para mejorar integrar características funcionales a estos (SY Kim, SI Chung et al. 2009). En cuanto a los  $\beta$ -Glucanos de *Ganoderma lucidum* debido a su notable capacidad antioxidante se han propuesto como antioxidantes naturales en aplicaciones alimentarias como ingredientes para recubrimientos, encapsulados e inclusión en líquidos (Giavasis 2014).

La incorporación de  $\beta$ -Glucanos en productos de panadería es un avance prometedor en el campo de la producción de alimentos funcionales mejorando sus características nutricionales y de calidad sensorial para inclusiones hasta del 20%, como es el caso de algunos panes a los cuales se les agrego este biopolímero hasta el 10% y presentaron efectos positivos en la calidad en el pan en cuanto a color de corteza, suavidad, humedad y gusto (El Khoury, Cuda et al. 2012).

Scleroglucanos derivados de hongos han sido utilizados como estabilizantes de textura en postres y salsas ya que soportan bajos niveles de pH, altas temperaturas y además pueden formar películas que contribuyen a la textura y permite lograr alimentos bajos en calorías con carácter funcional. De esta manera son diversas las aplicaciones que día a día se investigan de estos biopolímeros ya que han permitido ser utilizados, como vimos anteriormente, como mimético de grasa por su capacidad emulsificante y de aumento de viscosidad, así su capacidad de ligar agua que es típica de los sustitutos de grasa (Giavasis 2014).

## 2. Hipótesis y objetivos

### 2.1 Hipótesis

Es factible producir tortas reducidas en grasa utilizando  $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum* como reemplazantes de grasa, sin afectar significativamente sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales, comparadas con una torta control sin adición de estas biomoléculas.

### 2.2 Objetivo general

Evaluar el comportamiento de beta-glucanos de *Ganoderma lucidum* como reemplazantes de grasa para elaborar tortas bajas en grasa.

### 2.3 Objetivos específicos

- Evaluar la influencia de diferentes concentraciones  $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum* en las propiedades fisicoquímicas y reológicas de los batidos y de los productos terminados
- Analizar los efectos del reemplazo de grasa por  $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum* en la micro estructura de las tortas terminadas.
- Analizar sensorialmente el tratamiento con mejores características tecnológicas y la torta control





### **3. Use of beta-glucans from *Ganoderma lucidum* as effective biomolecules for replacing fat in cakes**

*Jairo Lindarte Artunduaga, Jairo Hernando Moreno, Luis-Felipe Gutiérrez\**

En este capítulo escrito en forma de artículo científico se describen los resultados obtenidos, en relación a los efectos del remplazo de grasa, en cinco diferentes niveles, por  $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum* en las propiedades fisicoquímicas y reológicas de los batidos y de los productos terminados, así como su efecto en la microestructura de los tratamientos y su análisis sensorial. El artículo fue sometido a la revista LWT-Food Science and Technology (Impact factor: 2.416).

#### **3.1 Resumen**

En este trabajo presenta una evaluación tecnológica del uso de  $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum* ( $\beta$ GGL) como remplazante de grasa en tortas. La grasa fue reducida en diferentes niveles (20- 50%), y se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de los batidos y de las tortas. La sustitución de grasa por  $\beta$ GGL afectó significativamente la gravedad específica, las propiedades de flujo y el color de los batidos. A medida que el nivel de sustitución se incrementaba, hubo una disminución en las burbujas de aire incorporadas en los batidos, que dio lugar a una ligera reducción en el volumen de las tortas. Sin embargo, la dureza de las tortas frescas no fue afectada por la inclusión de  $\beta$ GGL, mostrando un progresivo incremento durante la vida media, siendo más pronunciado a medida que el nivel de reemplazo aumentaba. Ni el color de la corteza ni el de la miga se vieron afectados por el reemplazando de grasa. Del mismo modo, el contenido de humedad y la actividad de agua de las tortas preparadas no mostraron

diferencias significativas por la adición de  $\beta$ GGL. Las micrografías electrónicas de barrido revelan que la estructura de la miga fue afectada por la sustitución de la grasa. Las tortas elaboradas con un reemplazo de grasa del 40% presentaron una buena aceptación sensorial por panelistas no entrenados. Estos resultados muestran por primera vez que  $\beta$ GGL podría ser utilizado como eficaces biomoléculas para la sustitución de la grasa en tortas.

**Palabras claves:** *Ganoderma lucidum*, betaglucanos, horneado, tortas, sustitución de grasa.

### 3.2 Abstract

This work presents a technological evaluation of using betaglucans from *Ganoderma lucidum* ( $\beta$ GGL) as fat replacers in cakes. Fat was reduced at different levels (20-50%), and the physicochemical properties of batters and cakes were evaluated. Fat substitution by  $\beta$ GGL significantly affected the specific gravity, the flow properties and the color of the batters. As the fat-replacing level increased, there was a decrease in the incorporated air bubbles into the batters, which led to a slight reduction in the cakes volume. Although the hardness of the fresh cakes was not affected by the inclusion of the  $\beta$ GGL, it showed a progressive increase during shelf-life, being more pronounced as the fat-replacing level augmented. Neither the crust nor the crumb colors were affected by the fat replacement. Similarly, the moisture content and water activity of the cakes did not show significant differences by the inclusion of  $\beta$ GGL. Scanning electron micrographs revealed that the crumb structure was affected by the fat substitution. The cakes elaborated with a fat replacement of 40% had a good sensorial acceptability by untrained panelists. These results show for the first time that  $\beta$ GGL could be used as efficient biomolecules for replacing fat in cakes.

**Keywords:** *Ganoderma lucidum*, betaglucans, baking, cakes, fat replacement.

### 3.3 Introduction

The continuous growing of the functional foods market has introduced many challenges to the food industry. Fat-reduced foods are gaining an important place in the called “healthy foods”, taking into account that obesity has been rising dramatically in recent years, reaching epidemic levels in some developed countries, leading to a variety of human health problems such as cardiovascular disease, diabetes, and cancer. However, the fat reduction in food products may lead to the loss of important quality attributes, including texture, mouthfeel, and flavor. Consequently, a variety of fat replacers and mimetics have been developed to achieve the desired texture and mouthfeel of fat without increasing caloric content (Ma and Boye 2015).

In bakery products, fat plays an important role on their physicochemical and sensorial properties, since it provides higher volume and softness to cakes, due to a higher air incorporation during the creaming process and inhibition of the gas-bubble coalescence, thus leading to a finer and softer crumb structure (Bennion and Bamford 1997). Moreover, fat and surfactants tenderizes by coating protein and starch particles; delays starch gelatinization by retarding the transfer of water into the starch granule; improves the tenderness, fineness, moisture content and flavor of the cakes, extending their shelf-life (Bennion and Bamford 1997, Luna Pizarro, Almeida et al. 2013, Wilderjans, Luyts et al. 2013, Felisberto, Wahanik et al. 2015).

Various studies have been carried out to evaluate the performance of different ingredients for replacing fat in bakery products. Inulin, a polydisperse carbohydrate consisting mainly of  $\beta$ -(2-1) fructosyl-fructose links, has been successfully used as fat replacer in cakes, achieving substitution levels up to 70% without detrimental effects on the cake quality (Rodríguez-García, Puig et al. 2012, Rodríguez-García, Puig et al. 2013, Rodríguez-García, Salvador et al. 2013, Rodríguez-García, Sahi et al. 2014). Other polysaccharides such as polydextrose, maltodextrin, amilodextrin, and oligofructose, have been also tested, but at lower substitution levels, because they lead to a decrease in the tenderness of the cakes (Khalil 1998, Kim, Yeom et al. 2001, Psimouli and Oreopoulou 2013). Fat mimetics derived from carbohydrates, such as guar and xanthan gums, allowed the production of fat-reduced cakes with a maximum substitution level of 50% (Zambrano, Despinoy et al. 2004). Cereal betaglucons, especially from oat and barley have been employed for

replacing shortening in cakes. Good results were obtained up to 20% fat substitution (Kalinga and Mishra 2009). Recently, it was found that chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage may be used as fat replacer in pound cakes up to 25% substitution level, with no significant alterations on the quality characteristics of the final products (Felisberto, Wahanik et al. 2015).

*Ganoderma lucidum* is an edible mushroom used long time ago as traditional medicine, pharmaceutical and nutraceutical agent in various Asian countries. It has been employed in the treatment of several human diseases, including hepatitis, hypertension, hypercholesterolemia and various types of cancer, because of its content of several biologically active molecules, especially polysaccharides (Bishop, Kao et al. 2015). The major bioactive polysaccharides isolated from *Ganoderma* species are glucans,  $\beta$ -1-3 and  $\beta$ -1-6 D-glucans (Leskosek-Cukalovic, Despotovic et al. 2010). These compounds might be considered as smart ingredients in functional foods, because of their health-promoting effects, and due to their technological functional properties.

The aim of this work was to evaluate the technological behavior of betaglucans from *Ganoderma lucidum* as new ingredients for replacing fat in cakes, by studying the effects of their incorporation at different levels (20, 30, 40 and 50%) on the physicochemical characteristics of batters and cakes. To the best of our knowledge, these biomolecules have not been used as fat replacers in bakery products.

## **3.4 Materials and methods**

### **3.4.1 Materials**

The ingredients used in the preparation of cakes were wheat flour type-cake (8% protein, 0.9% ash and 12.5% moisture), vegetable fat (industrial margarine: 77% total fat and 20.5% moisture), fresh whole eggs, white granulated sugar, skim milk powder, baking powder, emulsifier (mono and diglycerides of fatty acids (471), propylene glycol (E1520), propylene glycol ester (E477), ethoxylated mono and diglycerides and stearic acid), and betaglucans from *Ganoderma lucidum* ( $\beta$ GGL) (Ganogen®, which were kindly supplied by Progal-BT, Medellín, Colombia).

## 3.4.2 Methods

### 3.4.2.1 Physicochemical characteristics of $\beta$ GGL

The protein, ash, moisture and fat contents of  $\beta$ GGL were determined using the following official methods: 950.36, 923.03, 935.29, and 922.06, respectively (AOAC 2012). Total carbohydrates were calculated by difference.

Thermogravimetric analyses (TGA) were performed using a TGA 1 (Mettler Toledo Instruments, USA).  $\beta$ GGL samples (5 mg) were weighed with an aluminum pan and heated at 10°C/min to 550°C (Kumar 2010). Data were analyzed using thermal analysis software (STARe Evaluation Mettler Toledo).

Transform infrared (FT-IR) spectra were recorded in transmission mode on a Nicolet iS10 FT-IR Spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) in the range of 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  by the co-addition of 20 scans at a 8  $\text{cm}^{-1}$  resolution. FT-IR analysis were carried out at room temperature using potassium bromide (KBr) pellets containing about 0.5% of the  $\beta$ GGL samples, which were compacted in a uniaxial press under a nominal pressure of 6.89 kPa. The spectrum of dry KBr was taken for background subtraction, before recording the samples (Gutiérrez, Hamoudi et al. 2012).

### 3.4.2.2 Cake formulation and preparation

The cake formulations studied in this work are shown in Table 4. They were based and balanced according Bennion and Bamford (1997), taking into account the atmospheric conditions of Bogota, Colombia (2640 m altitude, and 560 mmHg atmospheric pressure).  $\beta$ GGL were used for replacing 20, 30, 40 and 50% of vegetable fat.

For cake preparation, sugar, vegetable fat, emulsifier, potassium sorbate and salt were creamed in a Hobart N-50 mixer (Hobart Manufacturing Company Ltd., London, UK) by mixing for 10 min at speed 2 (124 rpm). Whole fresh eggs were then added to cream and mixed for 5 min at speed 2. Subsequently, the wheat flour, baking powder, skim milk powder,  $\beta$ GGL and water were added and mixed for 5 min at speed 1 (60 rpm). Finally,

the batters were mixed for 1 min at speed 1 until homogeneous (Rodríguez-García, Puig et al. 2013). The batter temperature was around 25°C.

The cake batters (500 g) were transferred into cake pans and baked at 175°C for 45 min using a convection oven (JAVAR, Bogota, Colombia). The cakes were baked for each formulation in triplicate. After baking, cakes were allowed to cool 25 min, removed from pans, cooled 2 hours, packaged in polypropylene bags, and stored at room temperature for evaluation during shelf-life.

### **3.4.2.3 Batter analyses**

#### **3.4.2.3.1 Specific gravity**

The specific gravity of the batters was measured using a calibrated density cup of known volume. The cup was filled with the batters up to brim level, and then it was weighed. The specific gravity was calculated by dividing the weight of the volume of batter into the weight of the same volume of water (Sowmya, Jeyarani et al. 2009)

#### **3.4.2.3.2 Flow behavior of batters**

The flow behavior of batters was determined using a rotational viscometer (Haake viscotester, Thermo Scientific, Waltham, USA) with a sensor SV-DIM. The experiments were performed at 25°C, in ascending (from 0 to 300 s<sup>-1</sup>) and descending (from 300 to 0 s<sup>-1</sup>) runs. Flow curves were adjusted to the Ostwald-de Waele model ( $\sigma = K\dot{\gamma}^n$ ) where  $K$  is the consistency index, and  $n$  is the flow index. The fit correlation coefficients ( $R^2$ ) were always higher than 0.99.

#### **3.4.2.3.3 Color**

The color of batters was measured in terms of their L\*, a\* and b\* values of the CIELAB system, using a color spectrophotometer (ColorQuest XE Hunterlab, Minolta Reston USA). Three different measures were carried out for each sample.

#### 3.4.2.3.4 Light microscopy (LM) and image analysis of batter bubbles

The batter samples were observed in a microscope (Nikon Eclipse E200, Nikon Co., Ltd., Tokyo, Japan) at 10× magnification (objective lens 10×/0.25 EPlan Flour, Nikon). For analysis, one drop of the batter samples was placed on the glass slide with a cover slide carefully positioned to exclude air pockets, assuring a sufficient and constant sample thickness, to allow the comparison of the sizes and number densities of the bubbles (Rodríguez-García, Puig et al. 2012). Images were captured using the microscope software (Nikon ACT-1, Version 4.3 Nikon). The image analysis was performed using the software Optika™ Vision version 4.3 Pro (Ponteranica (BG) - Italy). The measured parameters were bubble area ( $\mu\text{m}^2$ ) and bubble size distribution.

#### **3.4.2.4** *Technological characteristics of the cakes*

##### 3.4.2.4.1 Volume

The volume of cakes was determined by the rise displacement method, according to Sahing and Gulum (2006), with slight modifications (changing rapeseed for rice grains).

##### 3.4.2.4.2 Color

The color of the crust and crumb of the cakes was measured in terms of their  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  values of the CIELAB system, using a color spectrophotometer (ColorQuest XE Hunterlab, Minolta Reston USA). For each sample, the measures of the crumb color were carried out by triplicate on central slices, after 1, 7 and 14 days of storage.

##### 3.4.2.4.3 Texture

The textural characteristics of the cakes were investigated by conducting texture profile analyses (TPA). A texture analyzer (TA-TXX Plus Texture Analyzer, Stable Micro Systems, Godalming, UK), provided with the software Texture Exponent 32 (version 4.0.8.0, Stable Microsystems, Godalming, UK) was used for this purpose. Cylindrical samples (2.0 cm height and 3.5 cm diameter) were compressed twice to 50% of their original height using an aluminum probe (P/75) at a test speed of 5 mm/s, with a 5 s delay

between the two compression cycles. A trigger force of 5 g was used. Hardness ( $g_f$ ), cohesiveness and springiness were calculated from the TPA graphics. Measurements were performed in triplicate on days 1, 7, and 14. For each sample three different cylindrical portions of crumb slices were analyzed under ambient conditions.

#### 3.4.2.4.4 Proximate analysis

The protein, ash, moisture and fat contents of cakes were determined using the following official methods of analysis: 950.36, 923.03, 935.29, and 922.06, respectively (AOAC 2012). Total carbohydrates were calculated by difference. The moisture of cakes was investigated during shelf life (on days 1, 7, and 14).

#### 3.4.2.4.5 Water activity

The water activity ( $A_w$ ) of cakes was measured during shelf life (on days 1, 7, and 14), using a CX-2T hydrometer (Decagon, Pullman USA). All measurements were performed at room temperature ( $\sim 25^\circ\text{C}$ ).

#### 3.4.2.4.6 Structure of the crumb

Structure of the crumb was analyzed by means of scanning electron microscopy (SEM), using a Leo scanning electron microscope Model 200 Fei Quanta (FEI Corporate, Oregon, USA). The cake samples (20×20 mm) were vacuum dried for 12 hours at  $60^\circ\text{C}$ , and then were separately placed on the sample holder with the help of a double sided scotch tape and sputter-coated with gold (80 s, 80mAp). Samples were observed at 15 kV and  $1 \times 10^6$  Pa vacuum. SEM images of 50X were analyzed using the software ImageJ (Natl. Inst. of Health).

#### 3.4.2.4.7 Sensory analysis

Hedonic sensory tests were conducted by 60 untrained panelists consisting of staff and students of the Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. Samples, presented in 2.5 cm-cubes, were evaluated for overall acceptance on a 7-point hedonic scale, ranging from extremely dislike to extremely like. Samples were considered acceptable when the



percentage of discrimination as “like” was higher than 60%. The control cake was presented simultaneously with the fat-replaced sample  $\beta$ GGL-40. Both samples were evaluated in random order among panelists.

#### 3.4.2.4.8 Experimental design and statistical analysis

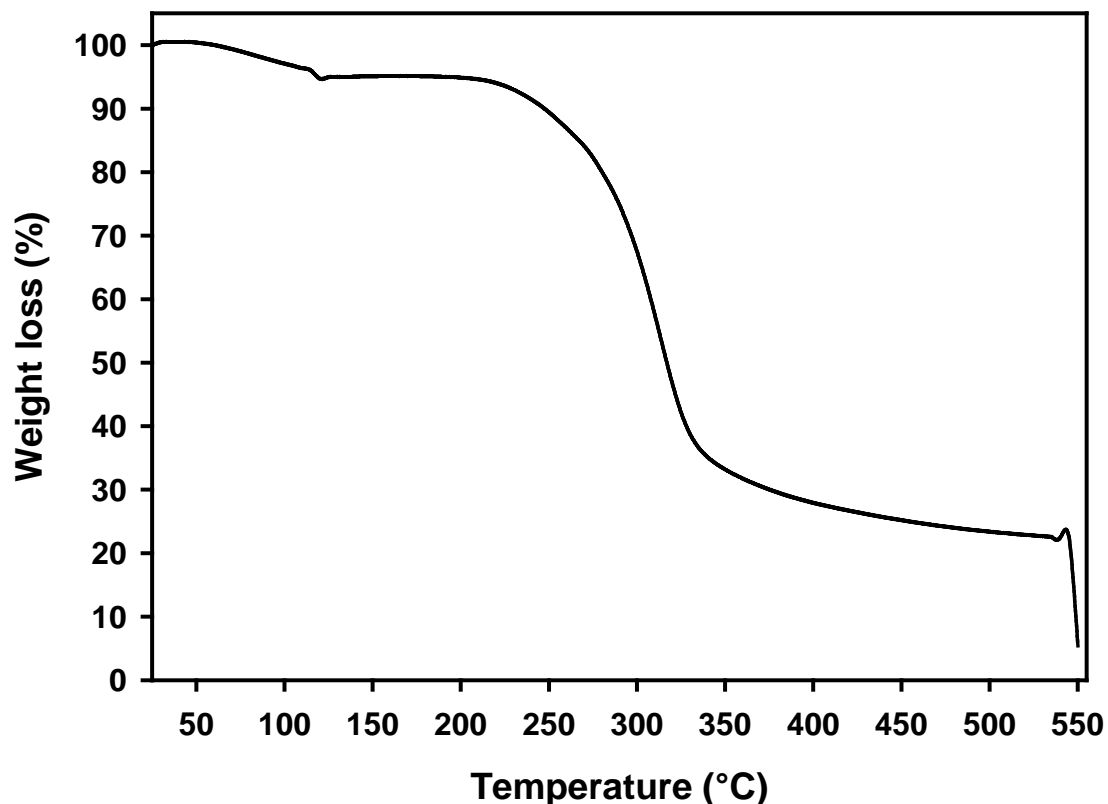
The experiments were carried out following a randomized block design. The experimental units (500 g of batters) were divided into three homogeneous blocks, and then randomly assigned to a treatment group. Analysis of variance by the general linear models (GLM) procedure and mean comparisons by the least significant difference (LSD) test were performed using the statistical analysis system software (SAS, version 9.4, SAS Institute Inc., Cary USA).

## 3.5 Results and discussion

### 3.5.1 Physicochemical characteristics of $\beta$ GGL

Proximate analysis of  $\beta$ GGL indicated that this ingredient is principally composed of carbohydrates (93.52%). The contents of moisture, protein and ash were found in minor amounts (4.33, 1.95 and 0.2%, respectively). These results are in agreement with the technical datasheet furnished by the manufacturer.

TGA were carried out to evaluate the weight loss and the decomposition of  $\beta$ GGL as a function of temperature. As depicted in Figure 3-1, there is a weight loss peak at about 120°C, corresponding to a loss of water of *circa* 5%. This value is very close to that obtained in the proximate analysis (4.33%). For higher temperatures, up to 200°C, there is no appreciable loss of weight. From this temperature the  $\beta$ GGL begin to decompose, and their complete degradation is close to 350°C. Similar TGA profiles were obtained recently for barley betaglucans (Kumar 2010). These results suggest that the  $\beta$ GGL do not decompose under the operating conditions of the baking process used in this study.



**Figure 3-1** Thermogravimetric profile of  $\beta$ GGL

FT-IR spectroscopy is a useful analytical technique for the identification of characteristic organic groups in polysaccharides, especially O–H, N–H, and C=O. The FT-IR spectra of  $\beta$ GGL in the range of 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  is shown in Figure 3-2. As it can be seen in this figure, the IR pattern of  $\beta$ GGL displayed in the hydroxyl region (3000-4000  $\text{cm}^{-1}$ ) a characteristic broad low-frequency absorption band centered at 3425  $\text{cm}^{-1}$ , which may be assigned to the stretching vibrations of O–H in the constituent sugar residues, and to the adsorbed water (Huang, Li et al. 2011, Gutiérrez, Hamoudi et al. 2012, Kan, Chen et al. 2015). The small absorption band at around 2923  $\text{cm}^{-1}$ , and the strong one observed at circa 1383  $\text{cm}^{-1}$ , are attributed to the stretching vibration of C–H in the sugar ring (Huang, Li et al. 2011, Kozarski, Klaus et al. 2012). The presence of a small amount of proteins and C=C aromatic groups is suggested by the absorption band found at 1639  $\text{cm}^{-1}$  (Kozarski, Klaus et al. 2012). The “finger print” of polysaccharides generally ranges in the 1200-850  $\text{cm}^{-1}$  region, which normally presents ring vibrations overlapped with

stretching vibrations of (C–OH) side groups and the (C–O–C) glycosidic band vibrations (Kan, Chen et al. 2015). The absorption bands centered at circa 1157, 1080 and 1023  $\text{cm}^{-1}$  evidenced the presence of  $\beta$ -glycosidic, glucosidic and C–O linkages, respectively (Kozarski, Klaus et al. 2012). The small absorption band at around 930  $\text{cm}^{-1}$ , is attributable to  $\alpha$  linkages, while that observed at 847  $\text{cm}^{-1}$  may be assigned to the characteristic absorption band of  $\beta$ -glycosidic linkages between the sugar unites (Huang, Li et al. 2011, Kozarski, Klaus et al. 2012, Kan, Chen et al. 2015).

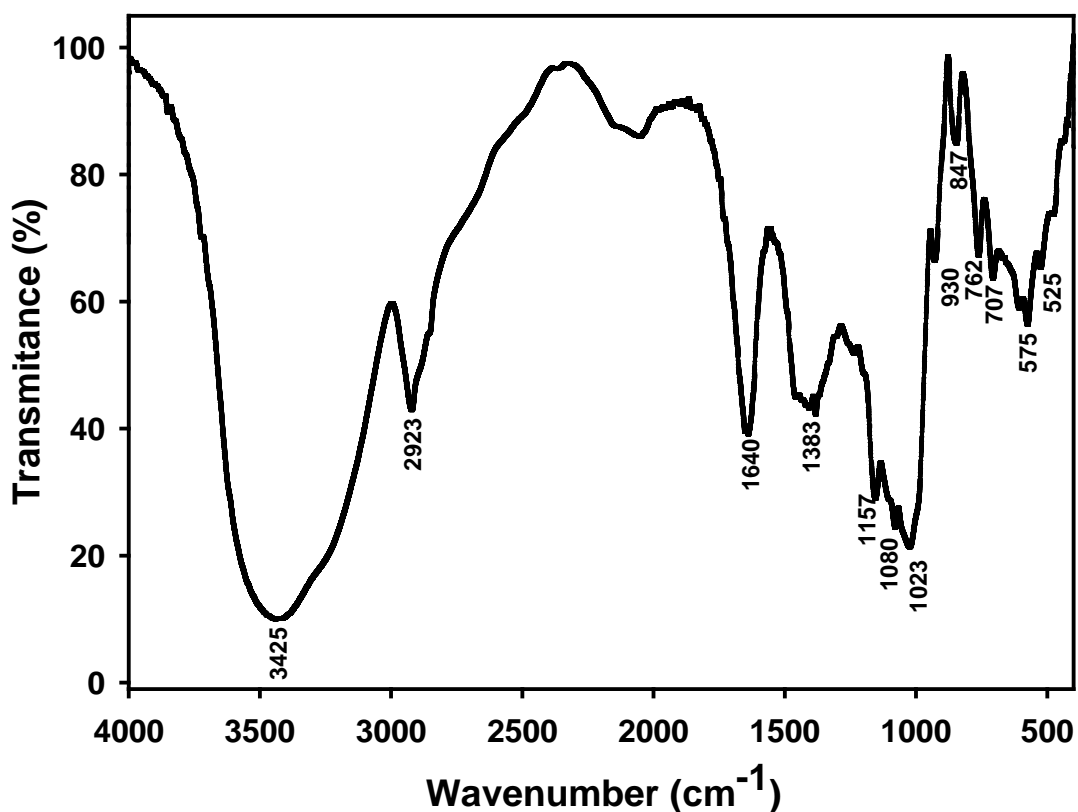


Figure 3-2 FT-IR spectrum of  $\beta$ GGL

### 3.5.2 Cake batters

The effects of adding  $\beta$ GGL on the characteristics of the cake batters is presented in Table 3-1.

**Table 3-1** Characteristics of batters' formulations with replacement of vegetable fat by  $\beta$ GGL

Ingredient (g)	Control	$\beta$ GGL-20	$\beta$ GGL-30	$\beta$ GGL-40	$\beta$ GGL-50
Wheat flour	200	200	200	200	200
Sugar	150	150	150	150	150
Eggs	80	80	80	80	80
Baking powder <sup>1</sup>	2	2	2	2	2
Skim milk powder	20	20	20	20	20
Vegetable fat	60	48	42	36	30
$\beta$ GGL powder	0	12	18	24	30
Emulsifier gel	2	2	2	2	2
Salt	2	2	2	2	2
Total water added <sup>2</sup>	150	150	150	150	150
<b>Physical properties</b>					
Specific gravity (g/cm <sup>3</sup> )	0.81±0.02 <sup>d</sup>	0.87±0.01 <sup>c</sup>	0.89±0.01 <sup>c</sup>	0.93±0.01 <sup>b</sup>	0.99±0.02 <sup>a</sup>
K (Pa.s <sup>n</sup> )	43.05±1.78 <sup>a</sup>	38.30±3.53 <sup>ab</sup>	32.68±1.39 <sup>b</sup>	26.37±4.32 <sup>c</sup>	16.72±0.62 <sup>d</sup>
Flow index n	0.47±0.01 <sup>c</sup>	0.47±0.03 <sup>c</sup>	0.49±0.01 <sup>bc</sup>	0.54±0.05 <sup>b</sup>	0.62±0.01 <sup>a</sup>
Thixotropy (Pa/s x 10 <sup>4</sup> )	2.62±0.11 <sup>a</sup>	2.43±0.38 <sup>ab</sup>	2.34±0.11 <sup>ab</sup>	2.01±0.31 <sup>bc</sup>	1.77±0.27 <sup>c</sup>
Color L*	86.59±0.32 <sup>a</sup>	85.92±0.18 <sup>b</sup>	85.33±0.09 <sup>c</sup>	84.61±0.21 <sup>d</sup>	83.48±0.01 <sup>e</sup>
Color a*	3.07±0.06 <sup>d</sup>	3.24±0.05 <sup>c</sup>	3.43±0.04 <sup>b</sup>	3.47±0.12 <sup>ab</sup>	3.54±0.04 <sup>a</sup>
Color b*	18.48±0.14 <sup>c</sup>	19.03±0.29 <sup>bc</sup>	18.95±0.38 <sup>bc</sup>	19.38±0.26 <sup>ab</sup>	19.67±0.58 <sup>a</sup>
$\Delta E^*$ <sup>3</sup>	0	0.92	1.43	2.22	3.39
Cake volume (cm <sup>3</sup> )	1086.45±26.42 <sup>a</sup>	1100.92±10.96 <sup>a</sup>	1089.18±19.54 <sup>a</sup>	1053.20±90.37 <sup>a</sup>	1053.20±42.50 <sup>a</sup>

Means in rows followed by the same letter are not significantly different by LSD test at the 5% level.

<sup>1</sup> Sodium pyrophosphate, sodium bicarbonate, mono-calcium phosphate and corn starch.

<sup>2</sup> Water + water in reconstituted skim milk.

$$^3 \Delta E^* = \sqrt{(L_{Sample}^* - L_{Reference}^*)^2 + (a_{Sample}^* - a_{Reference}^*)^2 + (b_{Sample}^* - b_{Reference}^*)^2}$$

### 3.5.2.1 Specific gravity

As expected, when  $\beta$ GGL were incorporated into the cake formulations, there was an overall increase in the specific gravity of the cake batter samples, as the fat replacing level increased. The specific gravity of the control batter sample was significantly lower than all the batter samples including  $\beta$ GGL ( $p < 0.05$ ). No significant differences were found between the specific gravity of batter samples in which fat was replaced at 20 and 30% levels, but the specific gravity of the batter samples fat-replaced at 40% level was significantly lower than that of batters with 50% less fat. Taking into account that in cake

formulations fat promotes the air incorporation into the batter during mixing, the substitution of this ingredient by  $\beta$ GGL led to a reduction in the air retention of the batters, and consequently their specific gravity increased. Similar results were found by Lee, Kim and Inglett (2005), when replacing fat by Oatrim in cakes, and by Sowmya, Jeyarani, Jyotsna, and Indrani (2009), who replaced fat by sesame oil in cakes.

### 3.5.2.2 Flow behavior

Viscosity is a very important parameter in cake production, since it is related to the texture and volume of the final products (Bennion and Bamford 1997). The cake batters investigated in this study exhibited a pseudoplastic flow behavior when subjected to shear strain rates between 0 and 300 s<sup>-1</sup>. The apparent viscosity of the batters decreased as the fat replacing level increased, as indicated by the consistence index ( $K$ ) which showed an overall decrease as the fat replacing level increased (43.05 to 16.72 Pa.s <sup>$n$</sup> , for the control and  $\beta$ GGL-50 treatments, respectively), while the flow index ( $n$ ) increased as the fat replacing level increased (0.47 to 0.62, for the control and  $\beta$ GGL-50 treatments, respectively). This flow behavior is in agreement with the obtained results for specific gravity, and similar to that found by Psimouli and Oreopoulou (2013) when using different mimetic fat substitutes in cake batters. However, it is different to the flow behavior reported by Kalinga and Mishra (2009) who used betaglucans from oat and barley for replacing fat in cakes. These differences may be explained because the  $\beta$ GGL employed in this study does not retain water, in contrast to the betaglucans from oat and barley, which are recognized by their high water-binding capacity.

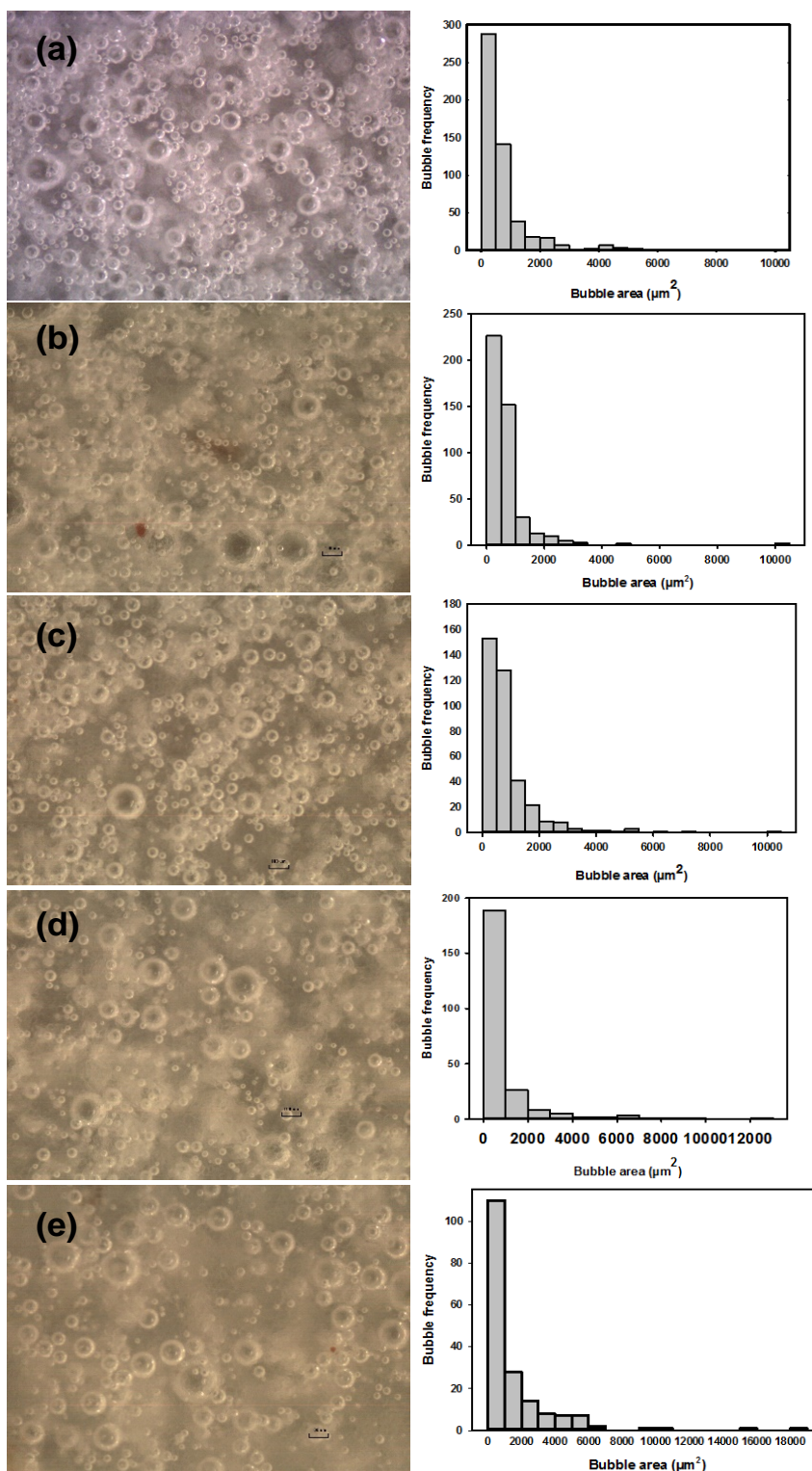
### 3.5.2.3 Color

The color of the batter samples changed significantly when fat was replaced by  $\beta$ GGL, as indicated by the color coordinates  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  of the CIELAB system. As it can be noticed in Table 3-1, in comparison to the control sample, lightness ( $L^*$ ) was significantly reduced ( $p < 0.05$ ) as the fat replacing level increased (86.59 to 83.48, for the control and  $\beta$ GGL-50 treatments, respectively), indicating that the cake batters became darkness as the  $\beta$ GGL concentration increases. On the contrary, the redness ( $a^*$ ) and yellowness ( $b^*$ ) values increased as the fat replacing level increased (3.07 vs. 3.54 and 18.48 vs. 19.67,

for the control and  $\beta$ GGL-50 treatments, respectively). However, there were no significant differences either in the redness or in the yellowness values between the batters corresponding to the  $\beta$ GGL-40 and  $\beta$ GGL-50 treatments. Moreover, the calculated values of total color difference ( $\Delta E$ ) indicated that: (i) there is no perceptible difference for the human eye between the control and the  $\beta$ GGL-20 treatment ( $\Delta E < 1$ ); (ii) minor color differences could be appreciated by the human eye between the control and  $\beta$ GGL-30 and  $\beta$ GGL-40 treatments ( $1 < \Delta E < 3$ ); and (iii) the color differences between the control and the  $\beta$ GGL-50 treatment are obvious for the human eye ( $\Delta E > 3$ ) (Martínez-Cervera, Salvador et al. 2011).

#### 3.5.2.4 *Light microscopy (LM) and image analysis of air bubbles*

Representative LM images of the batter samples and their corresponding air bubble area distributions are presented in Figures 3-3a-e. As it can be noticed in this figures, as the fat substitution level increased the number of small air bubbles decreased. Moreover, the bubble size distribution became broader as the fat replacing level increased. This behavior was expected, since fat stabilizes the air bubbles by forming a film in the interface air-matrix during the creaming process (Rodríguez-García, Puig et al. 2012). Consequently, the batter samples containing more fat showed a narrower bubble size distribution and a smaller bubble area. These results are in agreement with the decrease observed in the consistence index, and with the increase of the specific gravity, as the fat substitution level increased. A similar behavior has been recently reported for fat-reduced cakes by using inulin (Rodríguez-García, Puig et al. 2012, Rodríguez-García, Puig et al. 2013).



**Figure 3-3** Representative LM images and air bubble area distributions. (a) Control, (b) βGGL-20, (c) βGGL-30, (d) βGGL-40, (e) βGGL-50 batters. Magnification: 10x.

### 3.5.3 Technological characteristics of the cakes

#### 3.5.2.3 *Volume*

The volume of cakes is an important parameter determining the preference and acceptance of consumers. Various studies indicate that fat replacing affects the volume of baking products (Min, Lee et al. 2010). However, in spite of the slight decrease found in the volume of cakes as the fat replacing level increased, there were not significant differences between the control and the cakes including  $\beta$ GGL as fat replacer, as it can be noticed in Table 3-1. These results are in agreement with the differences found in the specific gravity, and with the obtained values of the flow parameters  $K$  and  $n$ . Moreover, they are in accordance with the results obtained by Psimouli and Oreopoulou (2013) when replacing fat by oligofructose in batter cakes, and by Zahn, Pepke, and Rohm (2010), who replaced fat by inulin in muffins.

#### 3.5.2.4 *Color*

Color is one of the most significant quality attributes in cakes. Although it does not necessarily reflect nutritional, flavor and functional values, color determines the acceptability of this kind of baking products (Sahin and Sumnu 2006). The browning of the cake surface is a result of the Maillard reaction and the caramelization of sugars (Purlis 2010). The effects of different levels of fat substitution by  $\beta$ GGL on the crust and crumb colors of the cakes are summarized in Table 3-2. It can be noticed that the values of the color coordinates  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  of the crust of the cakes were not significantly affected by the addition of  $\beta$ GGL. The small differences observed could be due to slight differences in both the baking time and baking temperature.

The crumb color of cakes is not affected by the Maillard reaction, but it depends on the ingredients used in the formulation (Bishop, Kao et al. 2015). From the data presented in Table 3-2, it can be observed that the color of the crumb was not significantly changed by the inclusion of  $\beta$ GGL as fat replacers, neither between treatments nor during shelf-life. Similar results were found recently by Psimouli and Oreopoulou (2013) when replacing fat



by maltodextrin in cakes, and by Felisberto et al. (2015), who replaced fat by Chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage.

**Table 3-2** Crust and crumb colors of cakes formulated with replacement of vegetable fat by  $\beta$ GGL

		Control	$\beta$ GGL-20	$\beta$ GGL-30	$\beta$ GGL-40	$\beta$ GGL-50
<b>Crust</b>						
L*		38.95±1.29 <sup>a</sup>	40.29±1.34 <sup>a</sup>	42.36±2.75 <sup>a</sup>	43.13±1.81 <sup>a</sup>	41.89±4.92 <sup>a</sup>
a*		18.43±0.11 <sup>a</sup>	19.63±1.45 <sup>a</sup>	19.46±1.08 <sup>a</sup>	18.94±0.42 <sup>a</sup>	19.03±0.26 <sup>a</sup>
b*		33.76±0.91 <sup>a</sup>	39.90±8.41 <sup>a</sup>	38.81±3.94 <sup>a</sup>	38.18±0.45 <sup>a</sup>	40.38±0.64 <sup>a</sup>
<b>Crumb</b>						
L*	Day 1	78.21±1.44 <sup>aA</sup>	77.09±1.37 <sup>abA</sup>	77.63±1.38 <sup>abA</sup>	77.60±1.32 <sup>abA</sup>	77.16±1.41 <sup>bA</sup>
	Day 7	77.87±1.34 <sup>aA</sup>	78.04±0.5 <sup>aA</sup>	78.12±0.61 <sup>aA</sup>	78.08±0.53 <sup>aA</sup>	77.58±0.66 <sup>aA</sup>
	Day 14	78.83±0.87 <sup>aA</sup>	78.53±0.39 <sup>aA</sup>	78.65±0.74 <sup>aA</sup>	78.60±0.66 <sup>aA</sup>	78.53±0.48 <sup>aA</sup>
a*	Day 1	3.65±0.53 <sup>aA</sup>	3.87±0.64 <sup>aA</sup>	3.61±0.14 <sup>aA</sup>	3.62±0.41 <sup>aA</sup>	3.53±0.56 <sup>aA</sup>
	Day 7	3.69±1.29 <sup>aA</sup>	3.27±0.04 <sup>cA</sup>	3.64±0.16 <sup>bA</sup>	3.56±0.23 <sup>abcA</sup>	3.35±0.16 <sup>bcA</sup>
	Day 14	3.36±0.07 <sup>aA</sup>	3.42±0.24 <sup>aA</sup>	3.26±0.31 <sup>aA</sup>	3.40±0.06 <sup>aA</sup>	3.29±0.24 <sup>aA</sup>
b*	Day 1	24.87±1.29 <sup>aA</sup>	24.91±0.82 <sup>aA</sup>	24.18±0.58 <sup>aA</sup>	23.91±0.85 <sup>aA</sup>	24.15±1.01 <sup>aA</sup>
	Day 7	24.80±1.20 <sup>aA</sup>	24.30±0.51 <sup>aB</sup>	24.07±0.51 <sup>aA</sup>	23.94±0.64 <sup>aA</sup>	23.93±0.77 <sup>aA</sup>
	Day 14	24.59±1.20 <sup>aA</sup>	24.27±0.47 <sup>aB</sup>	23.93±0.51 <sup>aA</sup>	23.99±0.90 <sup>aA</sup>	23.71±0.67 <sup>aA</sup>

Means in rows followed by the same lowercase letters are not significantly different by LSD test at the 5% level. Means in columns followed by the same uppercase letters are not significantly different by LSD test at the 5% level.

### 3.5.2.5 Texture

Texture is a very important quality attribute in cakes, since it can be used for determining their shelf-life during storage (Wilderjans, Luyts et al. 2013). Table 3-3 presents the TPA results for fresh and stored samples. As it can be observed, one day after the preparation of cakes, no significant differences were observed in the hardness values between the control sample and the fat-replaced formulations, indicating that for fresh cakes the substitution of fat by  $\beta$ GGL would not have a negative effect on hardness, even though fat is well known for its softening effect in cakes. Similarly, the springiness and cohesiveness values did not show significant differences after one day of storage, except for the cohesiveness values of the control sample and the formulation  $\beta$ GGL-50,

which showed significant differences (0.66 vs. 0.75, respectively,  $p < 0.05$ ). Similar results were obtained by Kalinga (2009) and Lee (2004), when replacing fat by oat and barley betaglucans and by Nutrim oat bran, respectively.

On the other hand, significant changes in the evaluated textural attributes were observed during storage. The values of hardness significantly increased for both the control sample and the fat-replaced formulations. However, it is noteworthy that the inclusion of  $\beta$ GGL increased the crumb hardness. During storage, the greater the level of fat replacement was, the higher hardness was. After 14 days storage, the hardness values of the formulations  $\beta$ GGL-20 and  $\beta$ GGL-50 were 120 and 158% higher than those of the control samples. These results can be explained, taking into account that fat is an ingredient conferring positive effects on the texture of cakes, by keeping them softer for a long period of time; so its replacing by nonfat solids, normally leads to a higher hardness values during shelf-life (Bennion and Bamford 1997, Psimouli and Oreopoulou 2013). Moreover, since  $\beta$ GGL can be considered as carbohydrate-based fat replacers, they could contribute to the strength of the crumb network through H-bonds among their molecules and starch molecules (Psimouli and Oreopoulou 2013). Thus, the effects of  $\beta$ GGL on cake hardness could be explained by the different chemical interactions between them and the starch, affecting its retrogradation (Gómez, Ronda et al. 2007).

As far as the springiness is concerned, it can be noticed that during storage this textural parameter showed a significant decrease in all treatments ( $p < 0.05$ ), but there were no significant differences between the control sample and the fat-replaced formulations ( $p > 0.05$ ). These results are well correlated with both the hardness values and the moisture content during the shelf life period, as explained below. Moreover, taking into account that the hardness of cakes increased during the shelf life, their structure is denser during aging, thus, it is normal that the springiness values decreased during this period, since springiness is a measure of the ability of a cake to recover after compression. These results are in agreement with those obtained recently Rodríguez-García et al. (2014) when replacing fat by inulin in cakes.

**Table 3-3** TPA of cakes formulated with replacement of vegetable fat by  $\beta$ GGL

Textural parameter		Control	$\beta$ GGL-20	$\beta$ GGL-30	$\beta$ GGL-40	$\beta$ GGL-50
Hardness (g)	Day 1	1164.02±106.82 <sup>aB</sup>	1057.34±45.91 <sup>aC</sup>	1125.21±285.28 <sup>aC</sup>	1216.35±356.26 <sup>aC</sup>	1104.36±268.39 <sup>aC</sup>
	Day 7	1660.02±204.92 <sup>bA</sup>	1861.55±48.68 <sup>bB</sup>	2028.31±295.84 <sup>abB</sup>	2377.14±104.06 <sup>aB</sup>	2315.37±335.31 <sup>aB</sup>
	Day 14	1956.67±337.65 <sup>cA</sup>	2353.44±136.29 <sup>cbA</sup>	2562.55±114.82 <sup>bacA</sup>	2959.70±518.66 <sup>baA</sup>	3098.20±670.94 <sup>aA</sup>
Springiness	Day 1	0.90±0.00 <sup>aA</sup>	0.92±0.01 <sup>aA</sup>	0.88±0.07 <sup>aA</sup>	0.92±0.04 <sup>aA</sup>	0.89±0.05 <sup>aA</sup>
	Day 7	0.83±0.03 <sup>aB</sup>	0.85±0.00 <sup>aBA</sup>	0.84±0.03 <sup>aA</sup>	0.85±0.03 <sup>aB</sup>	0.85±0.02 <sup>aA</sup>
	Day 14	0.79±0.01 <sup>aC</sup>	0.79±0.08 <sup>aB</sup>	0.83±0.02 <sup>aA</sup>	0.83±0.02 <sup>aB</sup>	0.84±0.02 <sup>aA</sup>
Cohesiveness	Day 1	0.66±0.07 <sup>bA</sup>	0.73±0.05 <sup>abA</sup>	0.71±0.04 <sup>abA</sup>	0.74±0.03 <sup>abA</sup>	0.75±0.02 <sup>aA</sup>
	Day 7	0.45±0.03 <sup>cB</sup>	0.51±0.00 <sup>abB</sup>	0.50±0.05 <sup>bB</sup>	0.53±0.02 <sup>abB</sup>	0.56±0.02 <sup>aB</sup>
	Day 14	0.41±0.04 <sup>aB</sup>	0.45±0.02 <sup>aB</sup>	0.43±0.03 <sup>aB</sup>	0.48±0.03 <sup>aB</sup>	0.47±0.05 <sup>aC</sup>

Means in rows followed by the same lowercase letters are not significantly different by LSD test at the 5% level.  
 Means in columns followed by the same uppercase letters are not significantly different by LSD test at the 5% level



Cohesiveness quantifies the internal resistance of food structure (Gómez, Ronda et al. 2007). Regarding the behavior during ageing, the cohesiveness of all cake samples were significantly reduced ( $p < 0.05$ ), as noticed in Table 3-3. However, similar to springiness there were no significant differences of this textural parameter between the control and the fat-reduced treatments ( $p > 0.05$ ) after 14 days of storage. Similar results have been reported for other baked goods (Esteller, Amaral et al. 2004). According to Gómez et al. (2007), these results could be due to the loss of intramolecular attractions between ingredients, drying, and the trend to crumbliness during storage.

#### **3.5.2.6** *Proximate analysis*

Table 3-4 presents the proximate composition of the control sample and the fat-replaced formulations, as well as the influence of storage on the moisture content and water activity. As expected, the fat substitution by  $\beta$ GGL led to a significant increase ( $p < 0.05$ ) in the amount of carbohydrates, varying from 55.4% in the control sample to 60.6% in the  $\beta$ GGL-50 treatment. The protein and ash content did not showed significant differences between the control and the fat-replaced treatments, being their average values 6.5 and 0.95%, respectively. Similarly, the moisture content on day 1 did not change significantly as the fat replacing level increased. Values around 27.5% were obtained. Nevertheless, on day 1 the water activity was significantly affected by the inclusion of  $\beta$ GGL into the formulations. On day 1, the water activity of the control sample was significantly higher ( $p < 0.05$ ) than all the formulations including  $\beta$ GGL.

**Table 3-4** Proximate composition of cakes formulated with replacement of vegetable fat by  $\beta$ GGL

Component (%)	Control	$\beta$ GGL-20	$\beta$ GGL-30	$\beta$ GGL-40	$\beta$ GGL-50	
Fat	9.44±0.88 <sup>a</sup>	8.90±1.98 <sup>a</sup>	6.74±0.08 <sup>b</sup>	6.12±0.41 <sup>bc</sup>	4.35±0.12 <sup>c</sup>	
Protein	6.53±0.17 <sup>a</sup>	6.50±0.21 <sup>a</sup>	6.51±0.09 <sup>a</sup>	6.52±0.15 <sup>a</sup>	6.64±0.16 <sup>a</sup>	
Carbohydrates	55.44±0.69 <sup>b</sup>	55.84±0.2.29 <sup>b</sup>	58.56±1.36 <sup>a</sup>	58.74±0.78 <sup>a</sup>	60.56±1.10 <sup>a</sup>	
Ash	0.95±0.02 <sup>a</sup>	0.95±0.06 <sup>a</sup>	0.96±0.04 <sup>a</sup>	0.98±0.04 <sup>a</sup>	0.96±0.01 <sup>a</sup>	
Moisture	Day 1	27.65±0.82 <sup>aA</sup>	27.81±1.03 <sup>a</sup>	27.34±1.47 <sup>aA</sup>	27.65±1.05 <sup>aA</sup>	27.49±1.17 <sup>aB</sup>
	Day 7	26.86±1.47 <sup>aA</sup>	27.10±1.33 <sup>aAB</sup>	26.64±0.83 <sup>aAB</sup>	26.85±0.62 <sup>aAB</sup>	26.15±0.65 <sup>aAB</sup>
	Day 14	26.10±2.65 <sup>aA</sup>	26.26±0.50 <sup>aB</sup>	25.91±0.28 <sup>aB</sup>	26.08±0.62 <sup>aB</sup>	25.72±0.35 <sup>aB</sup>
Aw	Day 1	0.90±0.01 <sup>aA</sup>	0.89±0.01 <sup>bA</sup>	0.89±0.01 <sup>bA</sup>	0.88±0.01 <sup>bA</sup>	0.89±0.01 <sup>bA</sup>
	Day 7	0.89±0.01 <sup>aA</sup>	0.88±0.01 <sup>abA</sup>	0.88±0.00 <sup>bcA</sup>	0.88±0.00 <sup>bcA</sup>	0.87±0.01 <sup>cA</sup>
	Day 14	0.89±0.01 <sup>aA</sup>	0.88±0.00 <sup>abA</sup>	0.88±0.00 <sup>bcA</sup>	0.88±0.01 <sup>bcA</sup>	0.88±0.01 <sup>cA</sup>

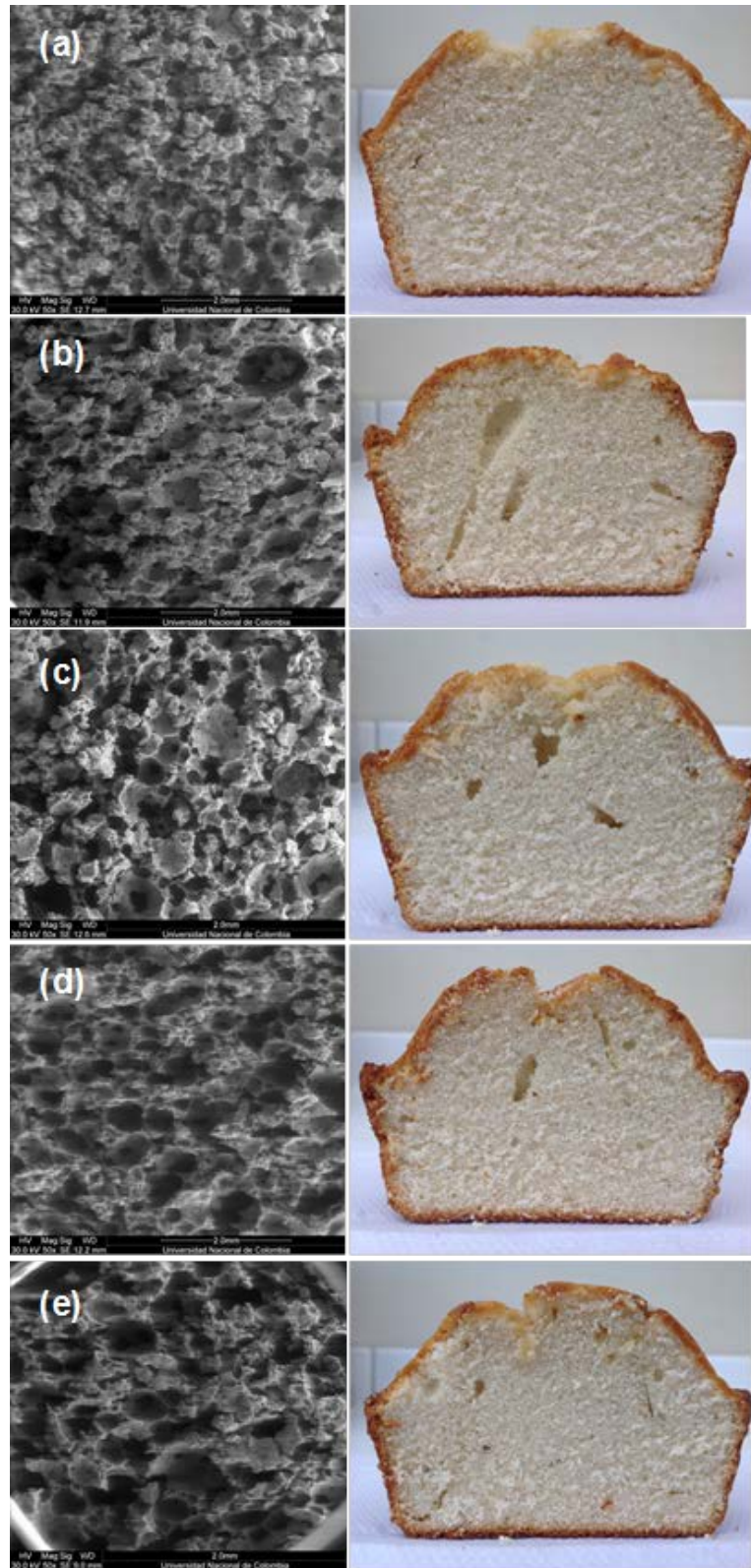
Means in rows followed by the same lowercase letters are not significantly different by LSD test at the 5% level. Means in columns followed by the same uppercase letters are not significantly different by LSD test at the 5% level

Regarding the behavior during storage, it can be noticed that the moisture content of the control sample did not significantly change during ageing ( $p>0.05$ ), while for all fat-replaced formulations, there was a significant decrease ( $p<0.05$ ) in the moisture content after 14 days of storage. In spite of this, the values of water activity did not change during storage, either for the control sample or for the fat-reduced treatments. These results are in accordance to the high solubility of the  $\beta$ GGL, which do not retain appreciable amounts of water.

### 3.5.2.7 Structure of the crumb

The effects of replacing fat by  $\beta$ GGL on the microstructure of crumb were analyzed by means of SEM. Representative scanning electron micrographs of the cake samples are presented in Figures 3-4a-e. In concordance with the image analysis of the batter bubbles, it can be observed in these figures that the control cake presents smaller and higher density bubble cells (which are seen as caverns in the SEM images) in comparison with the fat-replaced formulations. As the fat substitution level increased, the bubble cells tended to be bigger, while their density was lower. These results are consistent with the relative viscosity of the batter samples, and with the specific gravity, taking into account that more fat in the formulation generates finer crumbs and smaller cells (Cauvain 2003).

It is evident in the higher levels of fat replacement (*i.e.*  $\beta$ GGL-40 and  $\beta$ GGL-50) the presence of large bubble cells, in comparison with the control sample. These results are in agreement with those obtained recently by Rodríguez-García et al. (2012) when replacing fat by inulin in sponge cakes.

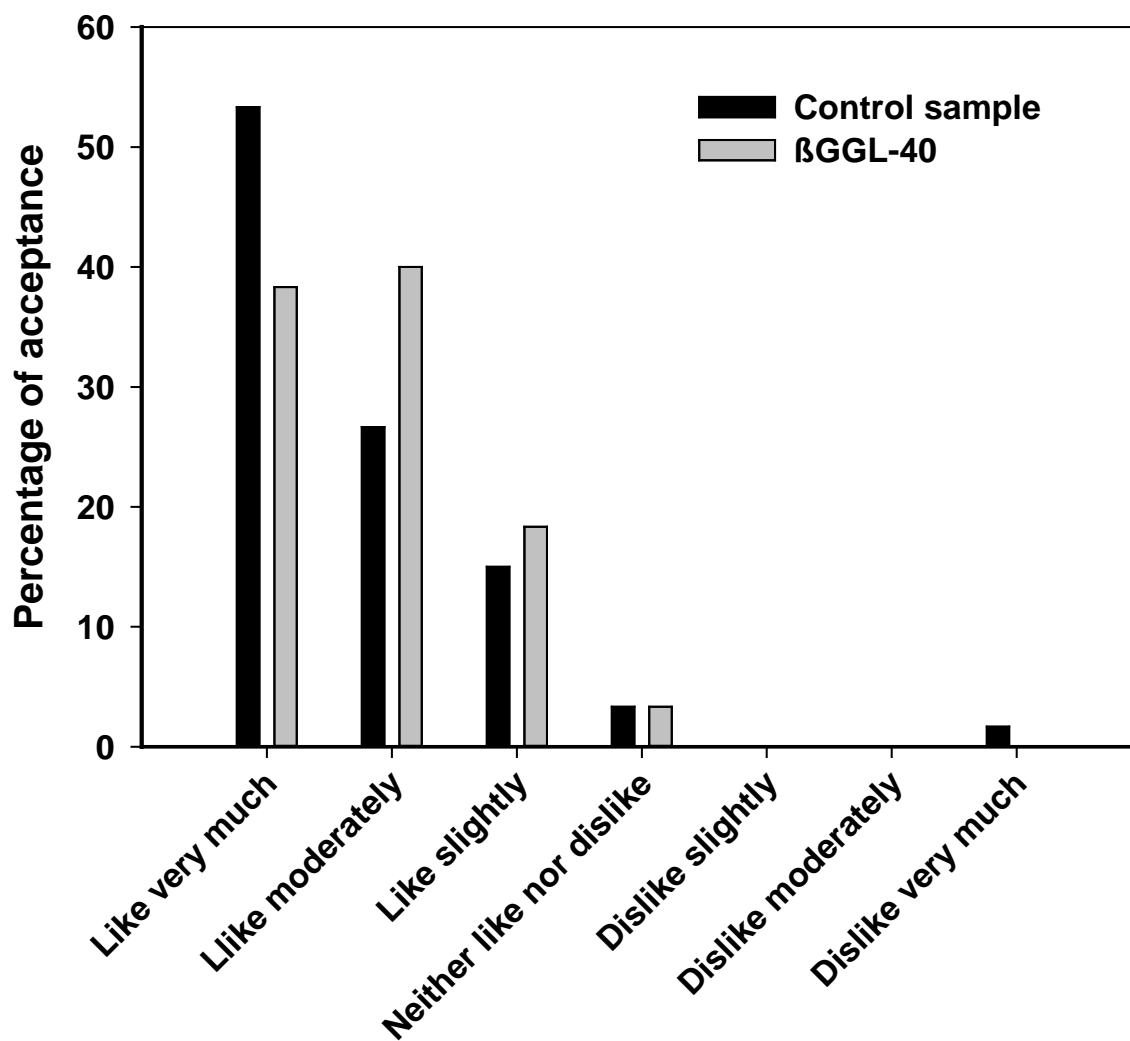


**Figure 3-4** Representative scanning electron micrographs and slices of cakes formulated with replacement of vegetable fat by  $\beta$ GGL. (a) Control, (b)  $\beta$ GGL-20, (c)  $\beta$ GGL-30, (d)  $\beta$ GGL-40, (e)  $\beta$ GGL-50.



### **3.5.2.8** *Sensory analysis*

Figure 3-5 shows the average results of the hedonic sensory analysis of the control sample and the cake elaborated with 40% level of fat replacing. As depicted in this figure, both cakes presented high level of acceptance. However, the formulation  $\beta$ GGL-40 achieved in general higher acceptance than the control sample (97 vs. 95%). Although the control sample had higher scores in the preference “Like very much” than the fat-replaced cake (53.3 vs. 38.3%), the former presented lower scores for the preferences “like moderately” and “like slightly” (27 vs. 40% and 15 vs. 18.3%, respectively). Moreover, it is remarkable that there were no negative ratings for the fat-replaced formulation, indicating that  $\beta$ GGL could be a good fat substitute in cakes, since they can maintain the sensory characteristics of these baked goods, even at high replacing levels.



**Figure 3-5** Sensory acceptance of fat-replaced cake ( $\beta$ GGL-40) in comparison to the control cake sample.

### 3.6 Conclusions

This study showed for the first time the  $\beta$ GGL as a new ingredient for replacing fat in cakes. Even if the addition of  $\beta$ GGL significantly modified some parameters of the batters (specific gravity, flow properties, and color), these biomolecules could be used effectively as fat replacers in cakes, since the obtained results indicate that formulations with up to 40% of fat substitution, displayed similar technological characteristics (cake volume, color,

and texture) in comparison to the control sample, and were well accepted by the untrained panelists. Although the thermogravimetric analyses suggest that  $\beta$ GGL do not decompose during the baking process, investigations are underway to determine if their interactions with the other ingredients may affect their bioavailability and their beneficial physiological effects

### **3.7 Acknowledgements**

This research was funded by the Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá (Project Hermes 30420). The authors are grateful to Progal-BT for providing the  $\beta$ GGL. Jose David Cortés is acknowledged for his collaboration in the FT-IR analyses.



## 4. Conclusiones y recomendaciones

### 4.1 Conclusiones generales

Para evaluar el comportamiento de los  $\beta$ GGL como sustituto de grasa y probar la hipótesis de este trabajo de investigación se evaluó la descomposición termo gravimétrica del concentrado de  $\beta$ GGL utilizado, obteniéndose un resultado positivo en cuanto a su estabilidad en el horneado, ya que su descomposición empieza a partir de los 200°C, temperatura a la cual no alcanza la cocción de una torta. En cuanto a su análisis proximal su resultado fue cercano a la ficha técnica entregada por el proveedor (Progal BT).

Teniendo en cuenta las características físico químicas del  $\beta$ GGL se evaluó en los siguientes niveles de sustitución de grasa: 20, 30, 40 y 50% para los cuales se elaboraron formulaciones de tortas que fueron analizadas contra un control, el cual presentaba un contenido estándar de grasa a partir del cual se hicieron las respectivas sustituciones. Se analizó el efecto de la inclusión de  $\beta$ GGL en dos etapas de producción de las tortas, en los batidos (torta cruda sin hornear) y en el producto terminado teniendo en cuenta algunas características que determinaban la vida media para las tortas, las cuales fueron medidas en los días 1, 7 y 14 de almacenamiento.

En cuanto a las propiedades fisicoquímicas de los batidos, la inclusión de  $\beta$ GGL en los tratamientos afectó de forma significativa la gravedad específica aumentándola a medida que se incrementaba el porcentaje de sustitución, debido a la menor capacidad de retención de aire en los batidos ocasionado por la disminución de grasa. Esto se vio reflejado en la reducción del índice de consistencia ( $K$ ) y en el aumento del índice de flujo ( $n$ ), lo que generó menor cantidad de burbujas de aire en el batido. Como consecuencia de lo anterior se presentó una disminución no significativa entre el volumen de los

tratamientos y la torta control. Esta diferencia no significativa muestra que el efecto de la inclusión de  $\beta$ GGL en el volumen de los tortas no es tan agresivo como el de otros sustitutos de derivados de fibra (Lee, Kim et al. 2005, Kalinga and Mishra 2009). De la misma manera el color de los batidos no se vio afectado por la inclusión de  $\beta$ GGL.

Las características tecnológicas evaluadas en los productos terminados indicaron que la dureza y la elasticidad no presentaron diferencias significativas en el primer día de almacenamiento al ser comparados los tratamientos contra la torta control, lo que indica que los  $\beta$ GGL no generan un efecto negativo en estos dos parámetros de textura. A pesar de lo anterior la cohesividad si se vio afectada en los niveles  $\beta$ GGL-40 y  $\beta$ GGL-50, los cuales fueron estadísticamente diferentes en al control en cuanto a este parámetro. En el análisis de perfil de textura se notaron diferencias significativas para los días 7 y 14 en cuanto a dureza, elasticidad y cohesividad debido a la falta de grasa en los tratamientos lo cual hizo los productos más duros, más rígidos y con menor estructura interna. Teniendo en cuenta esto, es notable el efecto de la sustitución de grasa por  $\beta$ GGL en la textura de las tortas, durante su vida media.

En cuanto al análisis proximal como era de esperarse disminuyó el contenido de grasa lo cual es el objetivo primordial de cualquier trabajo de sustitución de grasa. Las cenizas y las proteínas no presentaron diferencias significativas. La humedad y la actividad de agua como parámetros de vida media, no presentaron diferencias significativas en el primer día, pero para los días 7 y 14 el efecto de la sustitución generó disminución en el contenido de humedad y en la actividad de agua debido a la falta de grasa, la cual ayuda a retener agua en la estructura de la torta.

A partir de lo evaluado tanto en batidos como en las tortas hemos desarrollado nuestro primer objetivo al mostrar de forma clara, y apoyados en el análisis estadístico el efecto de las diferentes concentraciones de  $\beta$ GGL en las propiedades fisicoquímicas y reológicas de los batidos y de los productos terminados. En cuanto al segundo objetivo, se encontró que un cambio progresivo en la microestructura de los tratamientos, similar al obtenido por algunos autores que hacen parte de nuestra la revisión bibliográfica, que

es la formación de grandes canales originados por burbujas de gran tamaño encontradas en el batido (Rodríguez-García, Puig et al. 2012).

Con relación a nuestro último objetivo específico, la evaluación sensorial hedónica por consumidores dio un excelente resultado para el tratamiento  $\beta$ GGL-40, el cual obtuvo un porcentaje de aceptación por encima de la torta control. De esta forma el resultado de las características tecnológicas de los batidos, y de las tortas, así como las características de evaluadas en durante la vida media, nos indican que nuestra hipótesis fue verdadera lográndose obtener una torta con 40% de sustitución de grasa por  $\beta$ GGL sin afectar significativamente sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales, comparadas con una torta control sin adición de  $\beta$ GGL.

## 4.2 Recomendaciones

Teniendo en cuenta que es factible producir tortas con sustitución de grasa por  $\beta$ GGL sería recomendable hacer un estudio biológico para poder dar a este producto la calificación de alimento funcional ya que los  $\beta$ GGL tienen características funcionales ampliamente descritas en la literatura. De esta forma este alimento podría llegar a ser consumidos por personas que necesiten activar su sistema inmunológico

En trabajos posteriores sería interesante analizar cómo serían los ajustes a la formulación, los costos y los procesos, para el desarrollo de este producto a escala industrial que le permita ser un alimento comercial de fácil adquisición por muchos consumidores y de esta manera poder reducir un poco el consumo de grasas en la población

Sería de gran importancia evaluar las interacciones de los  $\beta$ GGL con otro tipo de matiz alimentaria para poder generar otros alimentos los cuales podrían ser también evaluados en cuanto a sus características funcionales.





## 5. Contribuciones

- Presentación oral:


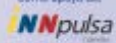
**Beta-Glucans from *Ganoderma lucidum*: Effective biomolecules for replacing fat in cakes.** 15th International Cereal and Bread Congress. Estambul (Turquía), Abril 18-21 de 2016

Artículo científico:

- **Use of betaglucans from *Ganoderma lucidum* as effective biomolecules for replacing fat in cakes.** Autores: Jairo Lindarte Artunduaga, Jairo Hernando Moreno, Luis-Felipe Gutiérrez. Sometido a la revista LWT-Food Science and Technology (Impact factor: 2.416). Submission LWT-S-16-01718.



## A. Anexo: Ficha técnica beta glucanos de *Ganoderma lucidum*

		<b>INFORMACIÓN TÉCNICA</b> <b>Ganogen®</b> β-Glucanos biotecnológicamente obtenidos a partir de <i>Ganoderma lucidum</i>	Código: FT 01 Versión: 03 Página 1 de 2
<b>DEFINICIÓN</b>	Ingrediente funcional, clínicamente probado para ayudar a fortalecer de manera natural el sistema inmune del cuerpo y sus mecanismos de defensa. El producto se obtiene biotecnológicamente a través de la técnica de inmersión del hongo <i>Ganoderma lucidum</i> . Es un polvo de color beige destinado para su uso como alimento funcional, bebida y / o suplemento dietario. El producto puede ser consumido directamente.		
<b>CLASIFICACIÓN</b>	Materia prima en polvo destinadas a uso industrial o doméstico.		
<b>INGREDIENTES</b>	β-D-Glucanos, Maltodextrina, Polidextrosa, derivados de <i>Ganoderma lucidum</i> .		
<b>DESCRIPCIÓN DEL PROCESO</b>	Recepción de materia prima – prueba de calidad de materia prima – preparación del medio de cultivo – fermentación en biorreactores – pasteurización – cuantificación de polisacáridos – secado por spray dryer con un carrier de maltodextrina y polidextrosa – empaque y almacenamiento.		
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS			
COMPOSICIÓN/ CARACTERÍSTICAS	ESPECIFICACIONES	MÉTODO DE EVALUACIÓN Y ANÁLISIS	
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS			
<b>Apariencia</b>	Polvo homogéneo de color crema	Visual	
<b>Olor</b>	Específico del producto	Olfetivo	
<b>Sabor</b>	Componentes específicos	Probando	
Características Químicas			
<b>Humedad (%)</b>	< 7.0	AOAC 925.45 Modificado Ed. 16	
<b>Cenizas (%)*</b>	< 3.0	AOAC 923.03 Ed.16	
<b>Grasa total (%)</b>	< 1.0	AOAC 2000.18 Ed. 17 Modificado	
<b>Proteína (%)</b>	< 2.0	AOAC 988.05 Ed. 15	
<b>Carbohidratos (%)</b>	> 90	Estimación través de la diferencia de elementos distintos de los térazos de carbono	
<b>Beta-glucanos (%)</b>	≥ 70%	Megazyme K-YBGL 07/11 Hongo y levadura de Beta-glucanos	
Metales Pesados			
<b>Plomo</b>	< 0.5 ppm	Método de medida para la evaluación de agua Ed. 21 de 2005, 311 18, MTC 404 an. 60 0485-1	
<b>Arsenico</b>	< 0.5 ppm	AOAC 912.01 Ed. 18 Modificada	
<b>Cadmio</b>	< 0.5 ppm	Método de medida para la evaluación de agua Ed. 21 de 2005, 311 18, MTC 404 an. 60 0485-1	
<b>Mercurio</b>	< 0.1 ppm	Método estándar, Ed. 21st 2005, 3112A	
Características Microbiológicas			
<b>Recuento de Hongos aerobios viables (CFU/g)</b>	<10,000	AOAC 988.18	
<b>Recuento de Mohos y Levaduras (MFC/g)</b>	<10	ISO 7954 igual a NTC 4132	
<b>NMP coliformes totales</b>	< 10	AOAC 2005.03	
<b>Escherichia coli /g</b>	Negativo	AOAC 2005.03	
<b>Salmonella sp.</b>	Negativo	Determinación de presencia o ausencia de NTC ausencia 4574:1998	
 Biotecnological Products Investigación y desarrollo para el bienestar		www.progal-bt.com   @progal_bt   Progal-RT PBX: (+57) (4) 444 20 60 / Medellín - Antioquia Con el apoyo de: 	



## B. Anexo: Formato de pruna de aceptación para consumidores

Pruebe las tortas que se presentan a continuación. Por favor marque con una X, el recuadro que está junto a la frase que mejor defina su opinión sobre el producto que acaba de probar.

Numero de producto \_\_\_\_\_

Numero de Producto \_\_\_\_\_

- Me gusta mucho
- Me gusta moderadamente
- Me gusta ligeramente
- Ni me gusta ni me disgusta
- Me disgusta ligeramente
- Me disgusta moderadamente
- Me disgusta mucho

- Me gusta mucho
- Me gusta moderadamente
- Me gusta ligeramente
- Ni me gusta ni me disgusta
- Me disgusta ligeramente
- Me disgusta moderadamente
- Me disgusta mucho

Muchas gracias por su colaboración.



## Bibliografía

Ahmad, A., et al. (2012). "Beta glucan: A valuable functional ingredient in foods." Critical Reviews in Food Science and Nutrition **52**(3): 201-212.

AOAC (2012). AOAC International. Official Methods of Analysis of AOAC International. Gaithersburg, Maryland, USA.

Bennion, E. B. and G. S. T. Bamford (1997). The Technology of Cake Making. Boston, MA, Springer US.

Bishop, K. S., et al. (2015). "From 2000 years of Ganoderma lucidum to recent developments in nutraceuticals." Phytochemistry **114**: 56-65.

Bishop, K. S., et al. (2015). From 2000years of Ganoderma lucidum to recent developments in nutraceuticals.

Bohn, J. A. and J. N. BeMiller (1995). "(1→3)-β-d-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships." Carbohydrate Polymers **28**(1): 3-14.

Borneo, R., et al. (2010). "Chia (Salvia hispanica L) Gel Can Be Used as Egg or Oil Replacer in Cake Formulations." Journal of the American Dietetic Association **110**(6): 946-949.

Brennan, C. S. and L. J. Cleary (2005). "The potential use of cereal (1→3,1→4)-β-d-glucans as functional food ingredients." Journal of Cereal Science **42**(1): 1-13.

Cauvain, S. P. (2003). CAKES | Nature of Cakes. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition). B. Caballero. Oxford, Academic Press: 751-756.

Conforti, F. D., et al. (1997). "Evaluation of a carbohydrate-based fatreplacer in a fat-reduced baking powder biscuit." Journal of Food Quality **20**(3): 247-256.

Chen, J. and R. Seviour (2007). "Medicinal importance of fungal  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6)-glucans." Mycological Research **111**(6): 635-652.

Chung, H.-J. and D. B. Min (2004). 17 - Developments in fat replacers. Functional Foods, Cardiovascular Disease and Diabetes. A. Arnoldi, Woodhead Publishing: 351-373.

DesRochers, J. L., et al. (2003). CAKES | Chemistry of Baking. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition). B. Caballero. Oxford, Academic Press: 760-765.

Dong, Q., et al. (2012). "A novel water-soluble  $\beta$ -D-glucan isolated from the spores of *Ganoderma lucidum*." Carbohydrate Research **353**: 100-105.

El Khoury, D., et al. (2012). "Beta glucan: Health benefits in obesity and metabolic syndrome." Journal of Nutrition and Metabolism **2012**.

ENSIN (2011). Encuesta nacional de la situación nutricional en colombia ENSIN 2010. M. d. P. Social.

Esteller, M. S., et al. (2004). "Effect of sugar and FAT replacers on the texture of baked goods." Journal of Texture Studies **35**(4): 383-393.

FDA (2011). GRAS NOTICE (MUSHROOM BETA GLUCAN) 000413: 30.

Felisberto, M. H. F., et al. (2015). "Use of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage gel to reduce fat in pound cakes." LWT - Food Science and Technology **63**(2): 1049-1055.

Ferreira, I. C. F. R., et al. "Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities." Phytochemistry.

Gao, Y. and S. Zhou (2003). "Cancer Prevention and Treatment by *Ganoderma*, a Mushroom with Medicinal Properties." Food Reviews International **19**(3): 275-325.



Gao, Y., et al. (2003). "Effects of ganopoly (a *Ganoderma lucidum* polysaccharide extract) on the immune functions in advanced-stage cancer patients." Immunol Invest **32**(3): 201-215.

Giavasis, I. (2014). "Bioactive fungal polysaccharides as potential functional ingredients in food and nutraceuticals." Current Opinion in Biotechnology **26**: 162-173.

Gómez, M., et al. (2007). "Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes." Food Hydrocolloids **21**(2): 167-173.

Griguol, V., et al. (2007). "Revisión de los niveles de ácidos grasos trans encontrados en distintos tipos de alimentos." Review of the levels of trans fatty acids reported in different food products.

Gutiérrez, L.-F., et al. (2012). "Effective gold catalyst supported on mesoporous silica decorated by ceria for the synthesis of high value lactobionic acid." Applied Catalysis A: General **425–426**(0): 213-223.

Hanneman, L. J. (2005). Chapter 6 - Cakes. Patisserie (Second Edition). L. J. Hanneman. Oxford, Butterworth-Heinemann: 95-108.

Havrlentová, M., et al. (2011). "Cereal  $\beta$ -glucans and their significance for the preparation of functional foods - A review." Czech Journal of Food Sciences **29**(1): 1-14.

Huang, S.-q., et al. (2011). "Purification and structural characterization of a new water-soluble neutral polysaccharide GLP-F1-1 from *Ganoderma lucidum*." International Journal of Biological Macromolecules **48**(1): 165-169.

Jones, S. (1996). Handbook of fat replacers. New York

Kagimura, F. Y., et al. (2015). "Biological activities of derivatized d-glucans: A review." International Journal of Biological Macromolecules **72**: 588-598.

Kalinga, D. and V. K. Mishra (2009). "Rheological and physical properties of low fat cakes produced by addition of cereal  $\beta$ -glucan concentrates." Journal of Food Processing and Preservation **33**(3): 384-400.

KALINGA, D. N. (2010). DELIVERING  $\beta$ - GLUCAN VIA SELECTED BAKERY SYSTEMS: CAKE. Melbourne Australia, Victoria University Melbourne Australia.

Kan, Y., et al. (2015). "Antioxidant activity of polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* using response surface methodology." International Journal of Biological Macromolecules **72**: 151-157.

Khalil, A. H. (1998). "The influence of carbohydrate-based fat replacers with and without emulsifiers on the quality characteristics of lowfat cake." Plant Foods for Human Nutrition **52**(4): 299-313.

Khalil, A. H. (1998). "The influence of carbohydrate-based fat replacers with and without emulsifiers on the quality characteristics of lowfat cake." Plant Foods Hum Nutr **52**(4): 299-313.

Kim, H. Y. L., et al. (2001). "Replacement of Shortening in Yellow Layer Cakes by Corn Dextrins." Cereal Chemistry Journal **78**(3): 267-271.

Kim, H. Y. L., et al. (2001). "Replacement of shortening in yellow layer cakes by corn dextrins." Cereal Chemistry **78**(3): 267-271.

Kim, J., et al. (2011). "(1-3)(1-6)- $\beta$ -Glucan-enriched materials from *Lentinus edodes* mushroom as a high-fibre and low-calorie flour substitute for baked foods." Journal of the Science of Food and Agriculture **91**(10): 1915-1919.

Kozarski, M., et al. (2012). "Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used mushrooms *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* and *Trametes versicolor*." Journal of Food Composition and Analysis **26**(1-2): 144-153.

Kumar, H. (2010). Development and evaluation of a beta-glucan biopolymer formulation of lactoferrin produced using a novel cryomilling technique, ResearchSpace@ Auckland.

Laguna, L., et al. (2014). "HPMC and inulin as fat replacers in biscuits: Sensory and instrumental evaluation." LWT - Food Science and Technology **56**(2): 494-501.

Lee, K. Y., et al. (2011). "Effect of oat  $\beta$ -glucan and its oxidised derivative on the quality characteristics of sponge cake." International Journal of Food Science and Technology **46**(12): 2663-2668.

Lee, S., et al. (2004). "Effect of nutrim oat bran and flaxseed on rheological properties of cakes." Cereal Chemistry **81**(5): 637-642.

Lee, S., et al. (2005). "Effect of shortening replacement with oatrim on the physical and rheological properties of cakes." Cereal Chemistry **82**(2): 120-124.

Leskosek-Cukalovic, I., et al. (2010). "Ganoderma lucidum — Medical mushroom as a raw material for beer with enhanced functional properties." Food Research International **43**(9): 2262-2269.

Liu, Y., et al. (2014). "Physicochemical characterization of a high molecular weight bioactive  $\beta$ -d-glucan from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*." Carbohydrate Polymers **101**: 968-974.

Lucca, P. A. and B. J. Tepper (1994). "Fat replacers and the functionality of fat in foods." Trends in Food Science & Technology **5**(1): 12-19.

Luna Pizarro, P., et al. (2013). "Evaluation of whole chia (*Salvia hispanica* L.) flour and hydrogenated vegetable fat in pound cake." LWT - Food Science and Technology **54**(1): 73-79.

Ma, H.-T., et al. "Anti-diabetic effects of *Ganoderma lucidum*." Phytochemistry.

Ma, Z. and J. I. Boye (2015). Novel Health Ingredients and Their Applications in Salad Dressings and Other Food Emulsions. Nutraceutical and Functional Food Processing Technology, John Wiley & Sons, Ltd: 151-187.

Mahnaz Hashemiravan, A. D. (2012). Effect of shortening replacement with nutrim oat bran on chemical and physical properties of shortened cakes. Scholars Research Library. **6**: 2682-2687.

Marika, L. (2006). Added  $\beta$ glucan as a source of fibre for consumers. VTT. Finlandia, Technical Research Centre of Finland. **3**: 3-77.

Martínez-Cervera, S., et al. (2011). "Cocoa fibre and its application as a fat replacer in chocolate muffins." LWT - Food Science and Technology **44**(3): 729-736.

Mattes, R. D. (1998). "Position of The American Dietetic Association: Fat replacers." Journal of the American Dietetic Association **98**(4): 463-468.

McMEEKIN, D. (2004). "The perception of Ganoderma lucidum in Chinese and Western culture." Mycologist **18**(4): 165-169.

Min, B., et al. (2010). "Functional characterization of steam jet-cooked buckwheat flour as a fat replacer in cake-baking." Journal of the Science of Food and Agriculture **90**(13): 2208-2213.

Ognean, C. F., et al. (2006). "Fat replacers: review." Journal of Agroalimentary Processes and Technologies **2**: 433-442.

Paterson, R. R. M. (2006). "Ganoderma – A therapeutic fungal biofactory." Phytochemistry **67**(18): 1985-2001.

Penfield, M. P. and A. M. Campbell (1990). CHAPTER 21 - SHORTENED CAKES. Experimental Food Science (Third Edition). M. P. Penfield and A. M. Campbell. San Diego, Academic Press: 452-473.

Psimouli, V. and V. Oreopoulou (2013). "The effect of fat replacers on batter and cake properties." Journal of Food Science **78**(10): C1495-C1502.

Purlis, E. (2010). "Browning development in bakery products – A review." Journal of Food Engineering **99**(3): 239-249.

Ríos-Cañavate, J. L. (2008). "Ganoderma lucidum, un hongo con propiedades inmunoestimulantes." Revista de Fitoterapia **8**(2): 135-146.

Rios, R. V., et al. (2014). "Application of fats in some food products." Food Science and Technology **34**(1): 3-15.

Rodríguez-García, J., et al. (2012). "Optimization of a Sponge Cake Formulation with Inulin as Fat Replacer: Structure, Physicochemical, and Sensory Properties." Journal of Food Science **77**(2): C189-C197.

Rodríguez-García, J., et al. (2013). "Functionality of several cake ingredients: A comprehensive approach." Czech Journal of Food Sciences **31**(4): 355-360.

Rodríguez-García, J., et al. (2013). "Functionality of Several Cake Ingredients: A Comprehensive Approach." Czech Journal of Food Science **31**(4): 355-360.

Rodríguez-García, J., et al. (2014). "Functionality of lipase and emulsifiers in low-fat cakes with inulin." LWT - Food Science and Technology **58**(1): 173-182.

Rodríguez-García, J., et al. (2013). "Replacing Fat and Sugar with Inulin in Cakes: Bubble Size Distribution, Physical and Sensory Properties." Food and Bioprocess Technology **7**(4): 964-974.

Rodríguez-García, J., et al. (2014). "Replacing Fat and Sugar with Inulin in Cakes: Bubble Size Distribution, Physical and Sensory Properties." Food and Bioprocess Technology **7**(4): 964-974.

Sahin, S. and S. G. u. u. Sumnu (2006). Physical Properties of Foods. Turkey, Springer.

Sampson, G. O., et al. (2014). Rheological behaviour of maize  $\beta$ -glucan and its application as a fat replacer in baked goods: 318-327.

Soares, A., et al. (2013). "Hepatoprotective Effects of Mushrooms." Molecules **18**(7): 7609-7630.

Sowmya, M., et al. (2009). "Effect of replacement of fat with sesame oil and additives on rheological, microstructural, quality characteristics and fatty acid profile of cakes." Food Hydrocolloids **23**(7): 1827-1836.

Swanson, B. G. (2003). FATS | Fat Replacers. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition). B. Caballero. Oxford, Academic Press: 2284-2287.

SY Kim, et al. (2009). "Cholesterol lowering action and antioxidant status improving efficacy of noodles made from unmarketable oak mushroom (*Lentinus edodes*) in high cholesterol fed rats." Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry **52**(3).

Uriza, J. (2014). Evaluación de la inclusión de los  $\beta$ -glucanos de *Ganoderma lucidum* en yogur. Bogotá Colombia, Universidad Nacional de Colombia.

Vannucci, L., et al. (2013). "Immunostimulatory properties and antitumor activities of glucans." International Journal of Oncology **43**(2): 357-364.

Volman, J. J., et al. (2008). "Dietary modulation of immune function by  $\beta$ -glucans." Physiology & Behavior **94**(2): 276-284.

Wilderjans, E., et al. (2013). "Ingredient functionality in batter type cake making." Trends in Food Science and Technology **30**(1): 6-15.

Yokoyama, W. H. (1997). "Effect of barley  $\beta$ -glucan in durum wheat pasta on human glycemic response." Cereal Chemistry **74**.

Zahn, S., et al. (2010). "Effect of inulin as a fat replacer on texture and sensory properties of muffins." International Journal of Food Science & Technology **45**(12): 2531-2537.

Zambrano, F., et al. (2004). "The use of guar and xanthan gums in the production of 'light' low fat cakes." International Journal of Food Science and Technology **39**(9): 959-966.

Zhang, M., et al. (2007). "Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity." Trends in Food Science & Technology **18**(1): 4-19.

Zhu, F., et al. (2015). " $\beta$ -Glucans from edible and medicinal mushrooms: Characteristics, physicochemical and biological activities." Journal of Food Composition and Analysis **41**: 165-173.

Zhu, F., et al. (2016). "A critical review on production and industrial applications of beta-glucans." Food Hydrocolloids **52**: 275-288.

