



# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**

## **FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS**

### **DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE UN ALIMENTO TIPO SNACK POR SECADO DE GELES MIXTOS DE PROTEINAS DE LACTOSUERO Y MIEL**

**Ing. Ana Carolina Rodriguez Negrette**

Trabajo de tesis presentado para optar al grado académico de  
Magister en Tecnología e Higiene de los Alimentos

Director: Dr. Diego Karim Yamul

Co-Director: Dr. Ricardo Martín Torrez Irigoyen

*Dedicada a*

*Mis amados padres, Hector y Emercy*

*Por todo su amor y apoyo incondicional. Gracias!*

## AGRADECIMIENTOS

- ❖ A Dios por permitirme vivir esta experiencia enriquecedora tanto personal como profesional.
- ❖ A los doctores Karim Yamul y Martin Torres por haberme brindado su confianza, por el acompañamiento, dirección y paciencia durante el desarrollo de este trabajo de tesis.
- ❖ A mis padres, hermanos y familiares, que con sus infinitas muestras de cariño hicieron que la estadía lejos de ellos fuera mucho más amena.
- ❖ A Luz Karime y Johan Barraza por su gran generosidad y acompañamiento durante mi estancia en la Argentina.
- ❖ A Carolina Medina, por sus palabras de motivación a seguir adelante.
- ❖ A la Doctora Alba Navarro por la amabilidad con que nos asesoró, brindando grandes aportes para el desarrollo de esta tesis.
- ❖ A la Dra. María Lidia Herrera por la flexibilidad de tiempo brindado para la culminación de este proyecto.
- ❖ Al CIDCA, especialmente al laboratorio de secado y al laboratorio de nuevos alimentos por permitirme realizar la parte experimental de este proyecto.
- ❖ A Leidy, Alex, Jhon, Alejo, Camilo y a los que de alguna forma u otra aportaron un granito de arena para la realización de este proyecto.
- ❖ A la Farm. Vanina Pérez de la Unidad Productora de Medicamentos de la Facultad de Ciencias Exactas (UNLP) por facilitarnos usar el microscopio óptico.

# ***GLOSARIO***



**a<sub>w</sub>**: actividad de agua

**Å**: amstrongs

**ANAVA**: análisis de varianza

**APL**: aislado de proteínas del lactosuero

**APM**: alto peso molecular

**b.s**: base seca

**BPM**: bajo peso molecular

**°C**: grados centígrados

**cm**: centímetros

**cP**: centipoise

**CPL**: concentrado de proteínas del lactosuero

**Cromaticidad a\***: parámetros de Hunter para el ensayo de color

**Cromaticidad b\***: parámetros de Hunter para el ensayo de color

**D<sub>eff</sub>**: coeficiente de difusión del agua

**D<sub>∞</sub>**: factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius para D<sub>eff</sub>, m<sup>2</sup>/s

**E<sub>a</sub>**: energía de activación

**FAO**: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)

**FAOSTAT**: food and agriculture organization of the United Nations statistics division. (División estadística de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)

**Fig.**: figura

**FTIC**: Isotiocianato de fluoresceína

**g**: gramos

**H<sub>bh</sub>**: humedad en base húmeda.

**H<sub>bs</sub>**: humedad en base seca.

**HCl**: ácido clorhídrico

**HRE:** humedad relativa de equilibrio (%) del aire

**J:** julios

**kDa:** kilodalton

**kg:** kilogramo

**Luminosidad L\*:** parámetros de Hunter

**Ln:** logaritmo natural

**m:** metros

**min.:** minutos

**mm:** milímetro

**m<sup>3</sup>:** metros cúbicos

**N:** solución Normal

**Na OH:** hidróxido de sodio

**nm:** nanometro

**P<sub>D</sub>:** moléculas de proteínas desnaturalizadas

**pH:** coeficiente del grado de acidez o basicidad de una solución acuosa.

**pi:** peso inicial de la muestra

**pl:** punto isoeléctrico

**pf:** peso final de la muestra

**P<sub>N</sub>:** moléculas de proteínas nativas

**p/p:** peso/peso

**pva:** presión parcial de vapor de agua en el aire, Pa

**pvs:** presión de vapor de agua en la superficie del grano, Pa

**R:** constante universal de los gases

**s:** segundos

**T<sub>abs.</sub>:** temperatura absoluta del aire

**t:** tiempo

**μm:** micrómetro

**W:** contenido de humedad expresado, kg de agua/ kg de materia seca

**Wad:** humedad adimensional

## RESUMEN

Las proteínas del lactosuero tienen un valor nutricional muy elevado debido a un adecuado balance de aminoácidos, varios de ellos esenciales como la lisina y el triptófano, además de otros aminoácidos azufrados que les otorgan un alto valor biológico. El presente trabajo de tesis se realizó con el objetivo de desarrollar un snack obtenido por gelificación y secado con aire caliente de geles de proteínas de lactosuero, miel e hidrocoloides. Se estudiaron las condiciones de secado de los geles a través de determinaciones del contenido de humedad y la  $a_w$  de los snacks. Se utilizaron tres temperaturas 60, 75 y 85°C y se extrajeron muestras a diferentes tiempos entre 0 y 180 minutos. Para interpretar los resultados, se planteó un modelado de la cinética de secado basado en la solución analítica de la segunda Ley de Fick aplicados sobre los datos experimentales determinándose el  $D_{eff}$ . Se determinó la variación de estos coeficientes con la temperatura mediante una correlación tipo Arrhenius y se calculó la  $E_a$ . Posteriormente, se analizó la influencia de las diferentes condiciones de obtención de los snacks, conteniendo hidrocoloides como goma xantina, pectina, almidón de maíz y goma guar, sobre la calidad final del producto. Finalmente se seleccionaron los snacks preparados con 15% de concentrado de proteína de lactosuero, 30% de miel y 5% de almidón de maíz o 1% de goma guar a pH 3, 4 y 7. Se estudió la textura (estrés de fractura, tensión de fractura y módulo de Young), color superficial ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ),  $a_w$  y el contenido de humedad. La estructura se observó por microscopía óptica y microscopía confocal de barrido láser. También se realizó una evaluación sensorial con panelistas no entrenados. La tensión de fractura de los snacks preparados con almidón de maíz fue mayor que en aquellos preparados con goma guar en todas las condiciones ensayadas. El módulo de Young fue mayor a pH 7 a ambas composiciones (almidón de maíz o de goma guar). Además, el tiempo de almacenamiento aumentó el módulo de Young, especialmente a pH neutro. La goma guar aumentó la tensión de fractura de los snacks principalmente a pH 3 y 7, sugiriendo que este hidrocoloide hace que el producto sea menos friable y presente una textura más gomosa. El análisis de color mostró que la variación del pH tuvo una marcada influencia sobre el color de los snack. A medida que aumentó el pH de las muestras el valor de  $L^*$  disminuyó,



indicando que se hicieron más oscuras. Las reacciones de pardeamiento fueron favorecidas a pH neutro debido a la presencia de la miel. Los resultados de la cromaticidad  $a^*$ , indican que no existe diferencia significativa para los snacks con almidón de maíz a los tres pHs ensayados. Sin embargo, los snacks con goma guar mostraron un incremento significativo de la cromaticidad  $a^*$  a medida que se incrementó el pH, obteniéndose productos más rojizos a pH neutro. Con respecto a la cromaticidad  $b^*$  se observó que no existen diferencias significativas para éste parámetro en snacks preparados a pHs ácidos tanto para almidón como para goma guar. Sin embargo, los snack a pH 7 para ambas composiciones fueron menos amarillos que a pH 3 y 4; es decir, que el color generado por la reacción de Maillard enmascaró la tonalidad amarilla aportada por la miel. La presencia de almidón de maíz y goma guar hizo que la microestructura presentara características tortuosas. Los panelistas prefirieron los snacks a pH 7 por sobre los snacks ácidos (pH 3). No se encontraron diferencias significativas en las propiedades sensoriales utilizando almidón de maíz o goma guar en la formulación. Por tanto, en base a lo estudiado, la mejor formulación y condiciones para la obtención de los snack fueron los geles preparados con 15% de CPL, 30% de miel y 5% de almidón de maíz o 1% de goma guar a pH 7 y secados a 85°C durante 100min.

*Palabras claves:* snack, miel, lactosuero, almidón de maíz, goma guar, geles, secado.

# ÍNDICE



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

### Capítulo 1. Introducción y objetivos

1.1. EL LACTOSUERO	2
1.1.1. Producción del lactosuero	3
1.1.2. Composición del lactosuero Proteínas del lactosuero	4
1.1.3. Proteínas del lactosuero	5
1.1.4. Propiedades funcionales de las proteínas de lactosuero	6
1.1.5. Subproductos del lactosuero	8
1.1.6. Obtención del concentrado de proteínas del lactosuero	9
1.1.7. Obtención del aislado de proteínas del lactosuero	11
1.1.8. Aplicaciones de los CPL en la industria de alimentos	12
1.1.9. Gelificación de los CPL	14
1.1.9.1. Mecanismos de formación de gel	15
1.1.10. Factores que afectan las características de los geles de proteína de lactosuero.	17
1.1.11. Geles mixtos	18
1.2. LA MIEL	19
1.2.1. Producción de la miel	20
1.2.2. Composición de la Miel	22
1.2.3. Reología	24
1.2.4. Características organolépticas	25

1.2.5. Usos y propiedades de la miel en la industria de alimentos	25
1.3. HIDROCOLOIDES	26
1.3.1. Goma xantica	27
1.3.2. Pectina	29
1.3.3. Goma guar	31
1.3.4. Almidón de maíz	32
1.4. DESHIDRATACIÓN DE ALIMENTOS	34
1.4.1. Snack	35
1.4.2. La cinética de secado	39
1.4.2.1. Determinación de la funcionalidad del $D_{eff}$ con la temperatura	40
Objetivos	42
 <b>Capítulo 2. Materiales y métodos</b>	
2.1. MATERIALES	43
2.1.1. Concentrado de proteínas de lactosuero	43
2.1.2. Miel	43
2.1.3. Almidón	43
2.1.4. Pectina de alto metoxilo	43
2.1.5. Goma guar	43
2.1.6. Goma xantica	43
2.2. MÉTODOS	44
2.2.1. Preparación de muestras	44

2.2.2. Cinética de secado	46
2.2.2.1. Modelado matemático	46
2.2.2.1.1. Balance microscópico de materia con transporte difusivo	46
2.2.2.1.2. Determinación de la funcionalidad del $D_{\text{eff}}$ con la temperatura. $E_a$	47
2.2.3. Determinación de humedad	47
2.2.4. Determinación de la $a_w$	48
2.2.5. Determinación del color de los snacks	49
2.2.6. Estudio de la textura	50
2.2.7. Microestructura de los snacks	53
2.2.7.1. Microscopía óptica	53
2.2.7.2 Microscopía láser confocal de barrido	54
2.2.8. Evaluación sensorial	56
2.2.9. Análisis estadístico de los datos	58

### **Capítulo 3. Resultados y discusión**

3.1. Determinación de humedad de los geles	60
3.2. Determinación de la actividad de agua de los geles	61
3.3. Secado de los geles CPL	63
3.3.1. Sin agregado de hidrocoloides	63
3.3.1.1. Secado a 60°C	64
3.3.1.2. Secado a 75°C	65
3.3.1.3. Secado a 85°C	66

3.3.2. Curvas de secado experimental. Medida de la humedad de los geles CPL con 15% y 30% de miel, después de las diferentes condiciones de secado	69
3.3.2.1. Modelado matemático de la cinética de deshidratación	74
3.3.3. Agregado de aditivos. Hidrocoloides	78
3.3.3.1. Secado a 60°C	79
3.3.3.2. Secado a 75°C	82
3.3.3.3. Secado a 85°C	86
3.4. Propiedades reológicas: textura	91
3.5. Microestructura de los snacks	95
3.5.1. Microscopía óptica	95
3.5.2. Microscopía láser confocal de barrido	96
3.6. Determinación del color de los snacks	97
3.7. Evaluación sensorial	100
<b>Conclusiones</b>	<b>104</b>
<b>Anexos</b>	<b>107</b>
<b>Referencias bibliográficas</b>	<b>109</b>

**ÍNDICE DE TABLAS****Capítulo 1. Introducción y objetivos**

<b>Tabla 1.1.</b> Composición de lactosuero dulce y ácido	5
<b>Tabla 1.2.</b> Composición nutricional y valor de pH de los aislados y concentrados proteicos con diferentes contenidos de proteína	9
<b>Tabla 1.3.</b> Beneficios que proporciona el uso de las proteínas del suero de leche en los alimentos anteriormente mencionados	13
<b>Tabla 1.4.</b> Variabilidad en la composición de la miel	22
<b>Tabla 1.5.</b> Contenido mineral de mieles	24
<b>Tabla 1.6.</b> Contenido vitamínico de la miel	24
<b>Tabla 1.7.</b> Clasificación de los hidrocoloides de acuerdo a la fuente	27
<b>Tabla 1.8.</b> Aplicaciones principales de la goma xantica en alimentos	29
<b>Tabla 1.9.</b> Aplicación de la goma guar en alimentos	32

**Capítulo 3. Resultados y discusión**

<b>Tabla 3.1.</b> Valores de humedad de los geles CPL y miel a diferentes formulaciones y distintos pH	60
<b>Tabla 3.2.</b> Valores de la $a_w$ de los geles antes y después de ser secados	62
<b>Tabla 3.3.</b> Coeficientes de difusión efectivos obtenidos a partir de la ecuación de Fick para las diferentes formulaciones de los snacks CPL y miel a pH 3, 4 y 7. Se presentan junto con el coeficiente de determinación	74
<b>Tabla 3.4.</b> Valores de la $E_a$ de las formulaciones de los snacks CPL y miel	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

## Capítulo 1. Introducción y objetivos

Figura 1.1. Diagrama del proceso de ultrafiltración y el componente de la alimentación retenido y permeado	10
Figura 1.2. Diagrama de flujo del proceso de obtención de CPL	11
Figura 1.3. Diagrama de flujo del proceso de obtención de ALP	12
Figura 1.4. Formación de la estructura del gel: (a) particulado y (b) collar de cuencas	16
Figura 1.5. Producción local de miel	21
Figura 1.6. Estructura química de la goma xantica	28
Figura 1.7. Estructura química de la pectina. (a) alto metoxilo y (b) bajo metoxilo.	30
Figura 1.8. Estructura química de la goma guar	31
Figura 1.9. Estructura química del almidón	33

## Capítulo 2. Materiales y métodos

Figura 2.1. Diagrama de flujo de preparación de los snacks	44
Figura 2.2. (a) Tubos de vidrio con tapones de goma; (b) Baño de agua térmico	46
Figura 2.3. (a) Equipo AQUALAB Serie 4TEV empleado para las determinaciones de $a_w$ , (b) modelo del funcionamiento interno del AQUALAB	48
Figura 2.4. (a) Colorímetro; (b) Carta de color	50
Figura 2.5. Texturómetro TA.XT2i	51



---

<b>Figura 2.6.</b> Ejemplo de gráfico y de los parámetros obtenidos durante el ensayo de tres puntos.	52
<b>Figura 2.7.</b> Microscopio óptico	53
<b>Figura 2.8.</b> Esquema del fundamento de la microscopía confocal	55
<b>Figura 2.9.</b> Presentación de las muestras y las planillas para la evaluación sensorial	58
<b>Capítulo 3. Resultados y discusión</b>	
<b>Figura 3.1.</b> Resultado del secado a 60°C de los geles formulados con 15% (p/p) de proteínas y 0% (p/p) de miel	63
<b>Figura 3.2.</b> Cinética de secado a 60°C. Las figuras (a), (c) y (e) corresponden a snacks con 15% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7 respectivamente; y las figuras (b), (d) y (f) a snacks con 30% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7	64
<b>Figura 3.3.</b> Cinética de secado a 75°C. Las figuras (a), (c) y (e) corresponden a snacks con 15% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7 respectivamente; y las figuras (b), (d) y (f) a snacks con 30% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7	66
<b>Figura 3.4.</b> Cinética de secado a 85°C. Las figuras (a), (c) y (e) corresponden a snacks con 15% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7 respectivamente; y las figuras (b), (d) y (f) a snacks con 30% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7	67
<b>Figura 3.5.</b> Contenido de humedad en función del tiempo de secado de los snacks CPL y miel: 15% (p/p) y 30% (p/p): llevados a pH: (a) 3, (b) 4 y (c) 7 a una temperatura de 60°C	70

- Figura 3.6.** Contenido de humedad en función del tiempo de secado de los snacks CPL y miel: 15% (p/p) y 30% (p/p): llevados a pH: (a) 3, (b) 4 y (c) 7 a una temperatura de 75°C 71
- Figura 3.7.** Contenido de humedad en función del tiempo de secado de los snacks CPL y miel: 15% (p/p) y 30% (p/p): llevados a pH: (a) 3, (b) 4 y (c) 7 a una temperatura de 85°C 73
- Figura 3.8.** Humedad experimental y predicha por el modelo difusivo de la ley de Fick en función del tiempo para las distintas temperaturas. pH 3: (a) snack con 15% (p/p) de miel (b) snack con 30% (p/p) de miel; pH 4: (c) snack con 15% (p/p) de miel (d) snack con 30% (p/p) de miel; pH 7: (e) snack con 15% (p/p) de miel (f) snack con 30% (p/p) de miel 75
- Figura 3.9.** Correlación tipo Arrhenius para la funcionalidad del coeficiente de difusión efectivo de agua en los snacks CPL y miel con la temperatura: (a) Geles CPL – 15% (p/p) de miel; (b) Geles CPL- 30% (p/p) miel 77
- Figura 3.10.** Secado a 60°C para los snacks CPL con 15% de miel y agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) de almidón de maíz; (b) 10% (p/p) de almidón de maíz; (c) 1% (p/p) goma guar; (d) 2% (p/p) goma guar; (e) 1% (p/p) pectina; (f) 2% (p/p) pectina; (g) 1% (p/p) goma xantica; (h) 2% (p/p) goma xantica 80
- Figura 3.11.** Secado a 60°C para los snacks CPL con 30% de miel y agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) de almidón de maíz; (b) 10% (p/p) de almidón de maíz; (c) 1% (p/p) goma guar; (d) 2% (p/p) goma guar; (e) 1% (p/p) pectina; (f) 2% (p/p) pectina; (g) 1% (p/p) goma xantica; (h) 2% (p/p) goma xantica 81

- Figura 3.12.** Cinética de secado a 75°C para los snacks CPL con 15% (p/p) de miel y agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) y 10% (p/p) de almidón de maíz; (b) 1% y 2% (p/p) goma guar; (c) 1% (p/p) y 2% (p/p) pectina; (d) 1% y 2% (p/p) goma xantica 83
- Figura 3.13.** Secado a 75°C para los snacks CPL con 30% de miel y agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) de almidón de maíz; (b) 10% (p/p) de almidón de maíz; (c) 1% (p/p) goma guar; (d) 2% (p/p) goma guar; (e) 1% (p/p) pectina; (f) 2% (p/p) pectina; (g) 1% (p/p) goma xantica; (h) 2% (p/p) goma xantica 84
- Figura 3.14.** Secado a 85°C para los snacks CPL y 15% de miel con agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) de almidón de maíz; (b) 10% (p/p) de almidón de maíz; (c) 1% (p/p) goma guar; (d) 2% (p/p) goma guar; (e) 1% (p/p) pectina; (f) 2% (p/p) pectina; (g) 1% (p/p) goma xantica; (h) 2% (p/p) goma xantica 86
- Figura 3.15.** Secado a 85°C para los snacks CPL y 30% de miel con agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) de almidón de maíz; (b) 10% (p/p) de almidón de maíz; (c) 1% (p/p) goma guar; (d) 2% (p/p) goma guar; (e) 1% (p/p) pectina; (f) 2% (p/p) pectina; (g) 1% (p/p) goma xantica; (h) 2% (p/p) goma xantica 87
- Figure 3.16.** Propiedades de textura de los snacks preparados con almidón de maíz y goma guar a diferentes pH y tiempo de almacenamiento. pH de los snacks: (a, d, g) 3; (a, e, h) 4; (c, f, i) 7. Contenido de proteína: 15% (p/p). Contenido de miel: 30% (p/p) 94
- Figure 3.17.** Microestructura de los snacks observada a 10 ×. pH: (a, b, c) 3; (d, e, f) 4; (g, h, i) 7. Composición: (a, d, g) sin hidrocoloides, (b, e, h) 5% 95

---

(p/p) almidón de maíz, (c, f, i) 1% (p/p) goma guar. Contenido de proteína: 15% (p/p). Contenido de miel: 30% (p/p)

- Figure 3.18.** Microestructura de los snacks observada por microscopía confocal de barrido láser. Las muestras fueron teñidas con rodamina B y FITC. pH: (a, b, c) 3; (d, e, f) 4; (g, h, i) 7. Composición: (a, d, g) sin hidrocoloides, (b, e, h) 5% p/p almidón de maíz, (c, f, i) 1% (p/p) goma guar. El contenido de proteína: 15% (p/p). contenido de miel: 30% (p/p) 97
- Figura 3.19.** Parámetros de Hunter: luminosidad ( $L^*$ ) y cromaticidad ( $a^*$  y  $b^*$ ) de los snacks de CPL y miel en función del pH: 3, 4 y 7, y la composición de hidrocoloides: 5% (p/p) almidón de maíz, 1% (p/p) de goma guar 98
- Figura 3.20.** Resultados de la evaluación sensorial para los parámetros de color, textura, sabor y aceptabilidad general de los snacks CPL y 30% (p/p) miel con: 5% (p/p) almidón de maíz; 1% (p/p) de goma guar 100
- Anexos**
- Figura 4.1.** Planilla de evaluación prueba de aceptabilidad 107

**ÍNDICE DE ECUACIONES****Capítulo 1. Introducción y objetivos**

<b>Ec. 1.1.</b> Ecuación de difusión de la ley de Fick	39
<b>Ec. 1.2.</b> Ecuación de difusión para una placa infinita	40
<b>Ec. 1.3.</b> Ecuación de Leiva para el cálculo del $W_e$	
<b>Ec. 1.4.</b> Ecuación de tipo Arrhenius con el propósito de obtener la $E_a$	41

**Capítulo 2. Materiales y métodos**

<b>Ec. 2.1.</b> Ecuación del % del contenido de agua en base húmeda	47
<b>Ec. 2.2.</b> Ecuación del % del contenido de agua en base seca	47
<b>Ec. 2.3.</b> Ecuación de la $a_w$ .	48
<b>Ec. 2.4.</b> Ecuación del estrés de fractura o compresión	52
<b>Ec. 2.5.</b> Ecuación de la tensión de deformación o de fractura	52
<b>Ec. 2.6.</b> Ecuación del módulo de elasticidad en flexión (módulo de Young)	52



*CAPÍTULO 1*  
*INTRODUCCIÓN*

## 1.1. EL LACTOSUERO

De acuerdo al Artículo 582 (Res 879, 5.6.85) del Código Alimentario Argentino, con la denominación de sueros de lechería se entiende a “los líquidos formados por parte de los componentes de la leche, que resultan de diversos procesos de elaboración de productos lácteos, por ejemplo de quesos, de manteca, de caseína o de ricotta”. Marshall (1991); Brody (2000) y Smithers y col. (1996) definen el lactosuero como un producto de la fabricación del queso y fabricación de caseína que contiene aproximadamente 6% (p/p) de sólidos, de los cuales 70% es lactosa y 0,7% es proteína.



Fuente: Revista Nº 87. Tecnología Láctea Latinoamericana

El lactosuero es una mezcla de proteínas, donde cada una de ellas presenta atributos únicos tanto nutricional como funcionalmente (Brody, 2000; Marshall, 1991; Smithers y col., 1996). Las proteínas principales del lactosuero son la  $\beta$ -lactoglobulinas y  $\alpha$ -lactoalbúmina, las cuales comprenden el 50 y 20% del total respectivamente. El resto de las proteínas presentes en menor cantidad son la seroalbúmina, inmunoglobulina, lactoferrina y lactoperoxidasa, entre otras. El lactosuero dulce, contiene además la proteína caseino-macropéptido (Metsämuuronen y Nyström, 2009).

En los últimos años, en la industria láctea, la utilización del lactosuero va acompañada de tareas de investigación y desarrollo, siendo hoy en día uno de los campos más importantes de investigación y desarrollo de esta industria de alimentos (Guerrero y col., 2011).

### **1.1.1. Producción del lactosuero**

La industria láctea es uno de los sectores más importantes de la economía de países industrializados y en desarrollo. Aproximadamente 85-90% del total de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada como lactosuero. Se estima que por cada kg de queso se producen 9 kg de lactosuero el cual retiene cerca de 55% del total de ingredientes de la leche como la lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales (Liu y col., 2005). Algunas posibilidades de la utilización de este residuo han sido propuestas, pero las estadísticas indican que una importante porción de este residuo es descartada como efluente el cual crea un serio problema ambiental (Aider y col., 2009; Silva y col., 2009). Según FAOSTAT (2014) la distribución de la producción de lactosuero en el mundo durante el año 2012 fue: Europa 50,9%, América del Norte y central 29,0%, Asia 7,3%, África 4,1%, Oceanía 3,2%, América del Sur 5,5%; lo que equivale aproximadamente a 173.000.000 m<sup>3</sup> de lactosuero. Especialistas del mercado de productos lácteos afirmaron que en el año 2013 el lactosuero representaba un mercado mundial de 7.600 millones de euros, o sea una suba de 36% con respecto al año 2011 y se espera que para el 2017 el mercado sea de 9.000 millones de euros. Una demanda que no para de aumentar, independientemente de los resultados relativamente malos de la economía mundial (Lechería latina, 2014).

El lactosuero ha experimentado en las últimas décadas un profundo y acelerado proceso de revalorización. Conforme pasó el tiempo, al uso más tradicional en la alimentación de animales, fueron agregándose innumerables alternativas de procesamiento de complejidad tecnológica creciente (Schaller, 2009).

En la Argentina, el 70% de las empresas lácteas y más del 90% de las pymes elaboran queso, generándose unas 450 mil toneladas anuales de lactosuero líquido, de las cuales el 60% se desecha o se destina a la alimentación animal (INFOCAMPO, 2013).

A partir del lactosuero generado en la Argentina, se produce una amplia gama de subproductos de alto valor nutricional, obtenidos por ultrafiltración, concentración y desecado del suero, los CPL, con concentraciones de proteína entre el 35 y el 80%. Además, se producen APL, con un mínimo de 90% de proteína. Así, la aplicación de las tecnologías de membranas en la industria láctea permite actualmente obtener múltiples



ingredientes de usos alimentarios y no alimentarios, de alto valor agregado (Schaller, 2009).

El año 2013 las exportaciones de lactosuero en Argentina ascendieron hasta los 150 millones de dólares; la provincia de Córdoba fue la principal exportadora. China fue el principal destino de exportación con registros de 65 millones de dólares, cubriendo más del 40% de las exportaciones totales de la Argentina. Brasil se ubicó en segundo lugar, seguido por Indonesia, Nueva Zelanda y Chile (exportar.org.ar, último acceso: 16/11/2015).

En otro orden, se estima que en Argentina existen aproximadamente 12 importantes plantas procesadoras de lactosuero. Las dos firmas más importantes por su capacidad de procesamiento son Arla Food Ingredients y Remotti. Otras empresas son: Mastellone Hnos., Milkaut, García Hnos., Sobrero y Cagnolo, Cotapa, Arcolen, Williner, Saputo, Coop. de James Craik y Lácteos Conosur. Las compañías líderes utilizan tecnología de punta y cumplen los más exigentes estándares internacionales, accediendo incluso a certificaciones BPM e ISO (Schaller, 2009).

### **1.1.2. Composición del lactosuero**

Existen varios tipos de lactosuero dependiendo principalmente de la eliminación de la caseína, el primero denominado dulce, está basado en la coagulación por la renina a pH 6,5. El segundo llamado ácido (pH final 4,6) resulta del proceso de fermentación o adición de ácidos orgánicos o ácidos minerales para coagular la caseína como en la elaboración de quesos frescos (Jelen, 2003). Como se observa en la tabla 1.1 el lactosuero dulce contiene mayor cantidad de lactosa y proteína que el lactosuero ácido. Entre los más abundantes de estos nutrientes están la lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales (8-10% de extracto seco) (Londoño, 2006; Muñi y col., 2005; Panesar y col., 2007). Entre los minerales presentes en el lactosuero los más abundantes son potasio, calcio, fósforo, sodio y magnesio, además, se encuentran vitaminas del grupo B (tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, cobalamina) y ácido ascórbico (Londoño y col., 2008).

**Tabla 1.1.** Composición de lactosuero dulce y ácido (Jelen, 2003).

Componente	Lactosuero dulce (g/L)	Lactosuero ácido (g/L)
Sólidos totales	63,0 - 70,0	63,0 - 70,0
Lactosa	46,0 - 52,0	44,0 - 46,0
Proteína	6,0 - 10,0	6,0 - 8,0
Calcio	0,4 - 0,6	1,2 - 1,6
Fosfatos	1,0 - 3,0	2,0 - 4,5
Lactato	2,0	6,4
Cloruros	1,1	1,1

### 1.1.3. Proteínas del lactosuero

Las proteínas del lactosuero tienen un valor nutricional muy elevado debido a un adecuado balance de aminoácidos, varios de ellos esenciales como la lisina y el triptófano, además de otros aminoácidos azufrados que les otorgan un alto valor biológico (Schaller, 2009).

**$\beta$ -lactoglobulina.** Es la proteína que se encuentra en mayor proporción. Está conformada por 162 residuos de aminoácidos siendo de gran importancia sus 5 residuos de cisteínas, cuatro de los cuales forman dos puentes disulfuro intramoleculares quedando un grupo sulfhidrilo libre. Este contenido de residuos de cisteína y cistina facilita la polimerización de la proteína por formación de puentes disulfuro intermoleculares durante el procesamiento a alta temperatura y almacenamiento. Por encima de los 65°C comienza a desnaturalizarse sufriendo extensivos cambios conformacionales que exponen grupos sulfhidrilo altamente reactivos (Morr y Ha, 1993).

**$\alpha$ -lactoalbúmina.** Representa aproximadamente el 20% de las proteínas del lactosuero. Cuenta con 123 residuos de aminoácidos donde todos sus residuos de cisteína se hallan en forma de 4 puentes disulfuro intramoleculares (morr y Ha, 1193). Otros investigadores (Rüegg y col., 1997) mostraron que esta proteína se desnaturaliza a 65,2°C y a Ph 6,7 y que se obtiene un 80 a 90% de desnaturalización por posterior enfriamiento.

**Inmunoglobulinas.** Son una familia heterogénea de glicoproteínas que tienen en común actividad de anticuerpos. Todas se hallan en la leche y provienen de la sangre (Morr y Ha, 1993). Son las más sensibles a la desnaturalización por temperatura (Walstra, 2001).

**Seroalbúmina bovina.** Representa alrededor del 6-12% del total de las proteínas del suero de leche y consiste en una cadena polipeptídica simple de 582 residuos de aminoácidos. Esta proteína es idéntica a la que se halla en el suero de la sangre y contiene 17 puentes disulfuro intramoleculares y un grupo sulfhidrilo libre (Morr y Ha, 1993).

**Otras proteínas y péptidos.** Existen otras proteínas que se encuentran en menor proporción en el lactosuero: fragmentos de  $\beta$  caseínas, fosfolipoproteínas, lactoporinas, lactoferrinas, lactoperoxidasa y lisozima, también conocidas como proteínas menores del suero (Morr y Ha, 1993).

Las proteínas mayoritarias del lactosuero,  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina, son las que más contribuyen a las propiedades funcionales (Flett y Corredig, 2009) y las más utilizadas en las formulaciones de alimentos (Nicorescu y col., 2009).

#### **1.1.4. Propiedades funcionales de las proteínas del lactosuero**

Las propiedades funcionales de una proteína son aquellas características hidrofílicas, interfásicas, intermolecular y organoléptica, que influyen en la estructura, aspecto, textura, viscosidad, sensación en la boca, o la retención del sabor del producto (Morr y Ha, 1993). El uso de estas proteínas como ingredientes funcionales y nutricionales en alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos se encuentra ampliamente expandido en la industria (Pouliot y col., 1999).

Meza y col. (2009); Morr y Ha (1993) describen algunas de estas propiedades funcionales más ampliamente:

- **Alta solubilidad.** Las proteínas de lactosuero no desnaturalizadas poseen una excelente solubilidad en un amplio rango de pH y especialmente a pH ácido, lo cual es muy importante en la elaboración de bebidas ácidas y aderezos para ensaladas.

- **Poder emulsificante.** Las proteínas de lactosuero tienen regiones hidrofílicas e hidrofóbicas que le permiten actuar como emulsificantes.
- **Capacidad de retención de agua.** Estas proteínas pueden fijar alrededor de 5 gramos de agua por gramo de concentrado, propiedad muy útil en productos cárneos y embutidos.
- **Espumado.** La formación de una espuma es análoga a la formación de una emulsión, pero en este caso la interfase es agua/aire. La capacidad espumante de estas proteínas se utiliza en la elaboración de postres helados aireados, baños batidos de postres y helados, y merengues.
- **Viscosidad.** Las proteínas de lactosuero aportan baja viscosidad comparada con la mayoría de las proteínas, y por calentamiento ésta no se modifica sustancialmente. Esta propiedad permite que se utilicen en altas concentraciones.
- **Adhesividad.** Las proteínas de lactosuero poseen buenas propiedades de adhesividad lo que los transforma en ingredientes útiles para adherir miga de pan masa o pan rallado a carnes o pescados, y también para fijar glaseados a productos de panadería.
- **Gelificación.** Las proteínas de lactosuero en condiciones adecuadas forman por calentamiento redes tridimensionales irreversibles llamadas geles. En estos geles el agua queda atrapada en los capilares de la matriz, lo que aumenta la capacidad de retención de agua y previene la sinéresis. Los geles mejoran el rendimiento de varios productos alimenticios como el jamón y el surimi y mejoran la apariencia evitando las superficies húmedas en yogures y cremas ácidas. Permiten modificar la firmeza, cohesividad y elasticidad de carnes, productos de mar y tortas.

Estas propiedades son importantes para el diseño de alimentos funcionales de diversas consistencias, texturas y sabores adecuados para diferentes grupos de consumidores, desde recién nacidos hasta personas con necesidades especiales. Se pueden consumir como mezclas de bebidas de proteína, comidas deportivas, barras de proteína, galletas y en forma de tableta (Luhovyy y col., 2007).

Las propiedades funcionales de una proteína puede verse afectada por varios factores, entre los que se incluyen propiedades intrínsecas, como la secuencia de

aminoácidos y la composición, la estructura secundaria y terciaria, el carácter hidrófilo/hidrófobo de la superficie de la proteína, la carga neta, y las distribuciones de carga; y también factores extrínsecos como pH, fuerza iónica, temperatura e interacción con otros componentes (Nicorescu y col., 2009).

#### **1.1.5. Subproductos del lactosuero**



Los subproductos del suero de leche se utilizan como excelentes aditivos para mejorar la formulación de alimentos. Propiedades tales como buena solubilidad, emulsificación, viscosidad, gelificación, retención del agua, formación de espuma y aireación, capacidad de dispersión, formación de película comestible, actividad antioxidante, propiedad de adhesión y pardeamiento inducido por el calor son muy apreciadas en la industria de alimentos (Luhovyy y col., 2007).

Para aprovechar todas las propiedades citadas anteriormente de las proteínas del lactosuero, una de las técnicas más utilizadas es la ultrafiltración, mediante la cual se obtiene el CPL y el APL. La diferencia entre ambos es que el primero contiene hasta un máximo de 85% de proteína, mientras que el segundo llega a contener hasta un 90%. (Kreczmann y col., 2015).

Los productos del lactosuero en el mercado abarcan: lactosuero en polvo dulce y ácido, lactosuero reducido en lactosa, lactosuero desmineralizado, CPL con diferentes contenidos de proteína: 34% (CPL 34), 50% (CPL 50), 60% (CPL 60), 75% (CPL 75), 80% (CPL 80), APL con no menos de 90% de proteína, lactoferrina, lactoperoxidasa, glicomacropéptido y sólidos de productos lácteos (Luhovyy y col., 2007). Las características de cada producto están relacionados con la técnica de procesamiento

aplicado antes de la etapa de secado, tales como la desmineralización, la eliminación de lactosa, concentrado de proteína de suero de leche o secado directo (González y col., 2002).

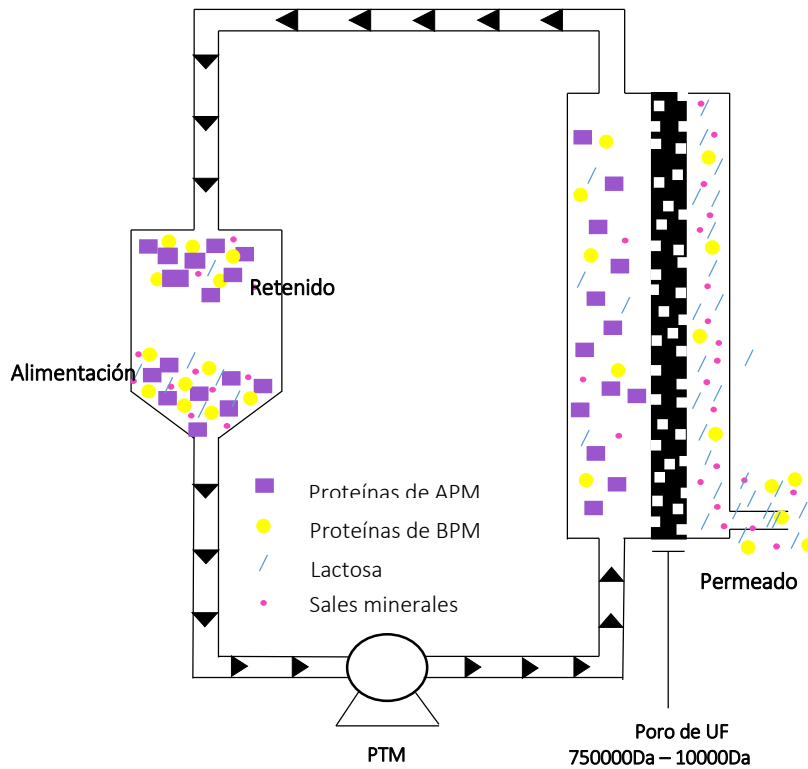
**Tabla 1.2.** Composición nutricional y valor de pH de los aislados y concentrados proteicos con diferentes contenidos de proteína (Parra Huertas, 2009).

Ingredientes	Proteínas (%)	Humedad (%)	Lactosa (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)	pH
CPL 35	34,7	3,7	51,3	3,9	6,5	6,4
CPL 35 rangos	34 -35,4	3,5-4,0	51 - 54,5	3,5-5,0	3,1- 8	6,2-6,7
WPC 80	81,3	4,8	5,9	6,3	3,7	6,6
CPL 80 rangos	80 -83	4,2- 5,5	4,2-1,0	4,2-10	2,9- 5	6,0-7,0
APL	94,3	4,8	1,0	0,7	3,0	6,7
APL rangos	92 - 96,1	4 -5,5	0,6-2,0	0,4-1,0	2,6- 3,4	6,0-7,1

### 1.1.6. Obtención del concentrado de proteínas del lactosuero

Los CPL se describen en términos de su contenido en proteína (porcentaje de proteína sobre materia seca), oscilando entre 35 y 80% (Kreczmann y col., 2015). La recuperación de la proporción de proteínas constituye el primer paso en la mayoría de los procedimientos de explotación del lactosuero. Los métodos más utilizados hoy en día son la ultrafiltración y diafiltración debido a su bajo costo, alta velocidad de proceso, la ausencia de desnaturalización o modificación estructural de las proteínas, y el hecho de que el concentrado de proteína es libre de sales, por lo tanto resulta adecuado para todo tipo de alimentos de consumo humano, incluso alimentos para bebés (Siso, 1996).

El sistema de ultrafiltración (figura 1.1) consiste en una corriente de alimentación que es introducida en un arreglo de módulos. El agua y los solutos de bajo peso molecular pasan a través de la membrana y son removidos como “permeado”. Los solutos de alto peso molecular y sólidos suspendidos son retenidos por la membrana y finalmente removidos como “concentrado” (Díaz y col., 2004; Rinaldoni y col., 2009). En este procedimiento el suero es filtrado a través de membranas porosas que dejan pasar moléculas chicas y retienen moléculas grandes. Las proteínas son moléculas grandes que no atraviesan los poros de estas membranas, por lo que permanecen en el suero que se va concentrando. La lactosa, las sales y los oligopéptidos atraviesan los poros y se recogen en el permeado (Anandharamakrishnan y col., 2008).



**Figura 1.1.** Diagrama del proceso de ultrafiltración y el componente de la alimentación retenido y permeado.

Para fabricar un producto con un 35% de proteína, el suero líquido se concentra unas seis veces hasta un contenido de sólidos totales aproximadamente del 9%. Para obtener un concentrado con un 80% de proteína, el suero líquido se concentra unas 20-30 veces mediante ultrafiltración hasta un contenido de sólidos de aproximadamente 25%. Este valor se considera como el máximo para una operación económica, por lo que es necesario diafiltrar el concentrado para eliminar lactosa y cenizas y aumentar la concentración de proteínas con relación a la materia seca total. La diafiltración es un proceso en el que el agua se añade conforme se realiza la filtración con el fin de lavar los componentes de bajo peso molecular que pasaran a través de la membrana, básicamente lactosa y sales minerales. Este permeado se utiliza como materia prima para obtener lactosa. Antes de la etapa de la ultrafiltración se pueden realizar tratamientos adicionales, como desmineralización mediante nanofiltración. Ésta se realiza por medio del uso de membranas de ósmosis inversa de poros muy pequeños, especialmente diseñadas, en donde pequeñas partículas como ciertos iones monovalentes (sodio, potasio, cloruro) y pequeñas moléculas orgánicas (como urea y ácido láctico) pueden escapar a través de la

membrana junto con el permeado acuoso. En la figura 1.2 se indican las etapas para obtener un CPL a partir de lactosuero. En el concentrado se retiene la mayoría de las proteínas junto con el contenido de grasa que no se eliminó en el desnatado (Kreczmann y col., 2015).

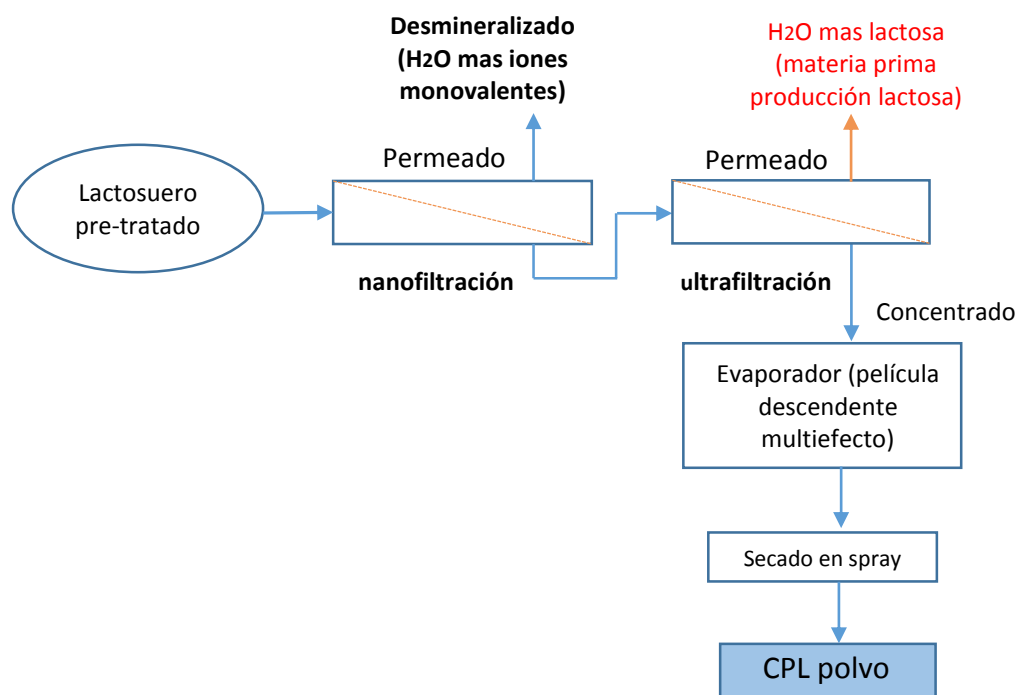


Figura 1.2. - Diagrama de flujo del proceso de obtención de CPL. (Kreczmann y col., 2015).

### 1.1.7. Obtención del aislado de proteínas del lactosuero

Los APL se pueden obtener, principalmente, por dos métodos: tecnología de membrana y tecnología por intercambio iónico. Los aislados de intercambio iónico, como muchos concentrados de suero, se procesan con altas temperaturas y por tanto sacrifican la actividad biológica de los componentes bioactivos, que dan valor extra a la proteína de suero para promover la salud. Una de las pérdidas más acusadas se produce sobre los llamados glicomacropéptidos. La tecnología de membranas utiliza etapas en serie de ultrafiltración y microfiltración para obtener APL; es decir el permeado de la microfiltración se envía a una segunda unidad de ultrafiltración para una posterior



concentración. Esta técnica difiere del intercambio iónico en que no hay modificación química de las proteínas y que la fracción de glicomacropéptidos es retenida junto con las demás. Si no hay ajuste de pH y el proceso se lleva a cabo a temperaturas intermedias, el producto final está casi completamente exento de proteínas desnaturalizadas. En la figura 1.3 se indican las etapas del proceso de desgrasado del concentrado de lactosuero (Kreczmann y col., 2015).

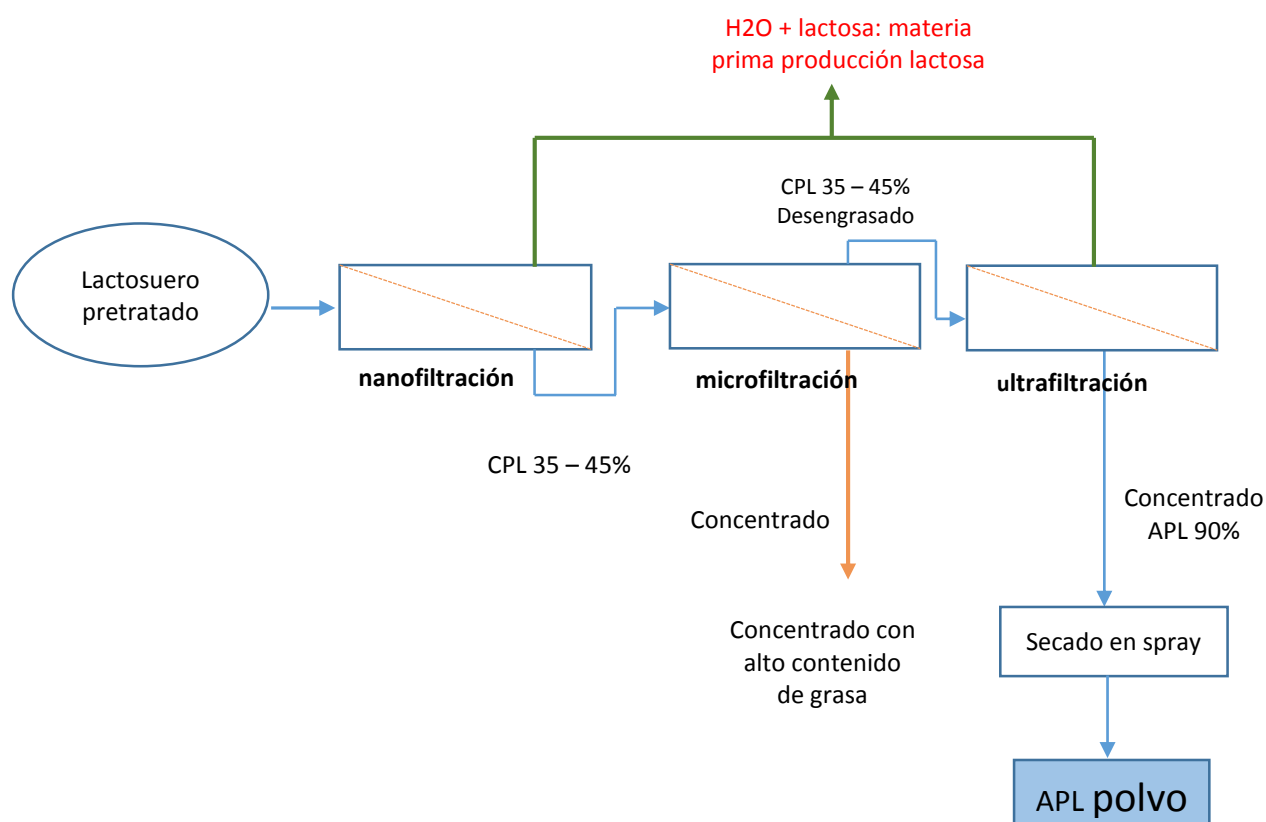


Figura 1.3. - Diagrama de flujo del proceso de obtención de APL (Kreczmann y col., 2015).

### 1.1.8. Aplicaciones de los CPL en la industria de alimentos

Debido a sus propiedades funcionales el concentrado proteico es un producto muy versátil y útil en las diversas industrias. Los CPL con un contenido aproximado de 35% de proteína son usados como sustitutos de leche descremada, y son utilizados en la elaboración de yogurt, queso procesado, en varias aplicaciones de bebidas (Foegeding y Luck, 2002), salsas, fideos, galletas, helados, pasteles (Muñi y col., 2005), derivados

lácteos, carne, bebidas, y productos de formulaciones infantiles debido a las propiedades funcionales excelentes de sus proteínas y sus beneficios nutricionales (Díaz y col., 2004; Foegeding y Luck, 2002) resaltando que los CPL que contienen un 80% de proteína, son formulados para aplicaciones como gelificación, emulsificantes y formación de espuma (Foegeding y Luck, 2002). Las características del gel dependerán de la concentración de proteínas, mientras más concentrados, se obtendrán geles más opacos y viceversa (Martinez, 2009). En la tabla 1.3 se muestran algunos beneficios que proporciona el uso de las proteínas del suero de leche en los alimentos anteriormente mencionados.

**Tabla 1.3.** Beneficios que proporciona el uso de las proteínas del suero de leche en los alimentos anteriormente mencionados (Poveda, 2013).

<b>Aplicación en</b>	<b>Algunos beneficios</b>
<b>Productos de panadería</b>	Incrementar el valor nutricional, emulgente, reemplazar la adición de huevo, dar cuerpo a la masa.
<b>Quesos</b>	Incrementar el valor nutricional, emulgente, gelificante, mejorar propiedades organolépticas, mejorar consistencia, incrementar la cohesividad
<b>Bebidas</b>	Incrementar el valor nutricional, mejorar la solubilidad, mejorar la viscosidad, mejorar la estabilidad coloidal
<b>Postres</b>	Emulgente, dar cuerpo y textura a los productos
<b>Confitería</b>	Emulgente y facilitar el batido
<b>Productos cárnicos</b>	Pre-emulgente, gelificante, mejorar solubilidad
<b>Otros</b>	Alimentos de mayor valor nutricional y bajo costo, alimentos para deportistas, para personas de la tercera edad, formulas nutricionales especiales para mantener peso saludable o aumentar consumo de proteína, formulas infantiles, formulas especiales para alimentación hospitalaria.

### **1.1.9. Gelificación de los CPL**

Las proteínas de lactosuero son usadas ampliamente en una variedad de alimentos gracias a sus propiedades gelificantes, siendo la  $\beta$ -lactoglobulina el principal agente gelificante (Akhtar y Dickinson, 2007; Spahn y col., 2008). Los cambios del entorno (temperatura, pH, fuerza iónica, presencia de otros componentes, etc.) causan que las proteínas se desnaturalicen, y la molécula compacta comience a desarrollar una estructura desordenada, al azar. El calentamiento de una dispersión de proteínas de suero de leche expone residuos de aminoácidos hidrófobos ocultos dentro de la estructura de la proteína nativa resultando en un aumento de la reactividad de tales grupos. Entre ellos, los grupos sulfhidrilo de los residuos de cisteína pueden sufrir oxidación a disulfuros (S-S) o ácido cisteico ( $-SO_3H$ ) o reacciones de intercambio de disulfuro-sulfhidrilo (de Wit, 1984; Donovan y Mulvihill, 1987b; Kella y Kinsella, 1988). A través del intercambio sulfhidrilo-disulfuro e interacciones hidrofóbicas, las moléculas de proteínas no plegadas pueden asociarse entre sí para formar agregados. Dependiendo de las condiciones ambientales, por ejemplo, pH, concentración de sal y concentración de proteínas, esta agregación puede ser seguida por una precipitación, coagulación y/o la gelificación (de Wit y Fox, 1989; Donovan y Mulvihill, 1987a, 1987b).

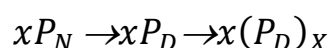
La gelificación se da como consecuencia de la desnaturalización de las proteínas, seguido de alteración de las interacciones proteína-proteína (Kamath y col., 1992). Cualquier acción que cambia la conformación nativa de la proteína, tiene en principio, el potencial para inducir la gelificación (Kamath y col., 1992), incluyendo el tratamiento térmico (Paulsson y col., 1986; Paulsson y Dejmek, 1990; Ziegler y Foegeding, 1990), la adición de calcio, ácido, urea u otros agentes desestabilizadores (Barbut y Foegeding, 1993; Kazumoto y Tetsuo, 1988; Clark y Ross-Murphy, 1987; Xiong y Kinsella, 1990), la oxidación química y tratamiento enzimático (Tanimoto y Kinsella, 1988; Traore y Meunier, 1992). De todas ellas la termogelificación es la más estudiada (Mulvihill y Kinsella, 1987; Tang y col., 1993; Taylor y col., 1994; Matsudomi y col., 1994).

La formación de geles de proteína de lactosuero inducidos por calor implica desplegamiento de la proteína y la agregación como los procesos primarios. Un gel se forma cuando la extensión de la agregación excede un cierto nivel crítico formando una red tridimensional autoportante que atrapa el disolvente del sistema. Cuando el grado

de agregación es inferior a cierto nivel crítico, se forman agregados solubles o un precipitado. Por lo tanto, la formación de gel y las propiedades del gel dependen del tipo y número de interacciones proteína-proteína que a su vez se ven afectados por variables tales como el tipo de proteína, la concentración de proteína, temperatura, pH, fuerza iónica, las concentraciones de calcio y lactosa, y la presencia de agentes quelantes tales como citrato y fosfato (Kinsella y Melachouris, 1976; Modler, 1985). Dependiendo de estas condiciones se verán modificadas, las propiedades funcionales, estructurales y sensoriales del gel.

### 1.1.9.1 Mecanismos de formación de gel

Ferry, (1948) y Hermansson, (1979) propusieron un proceso de dos etapas para la gelificación de proteínas globulares: el despliegue de moléculas de proteínas globulares y la asociación de las moléculas de proteínas desplegadas (desnaturalizadas) para formar una red tridimensional:



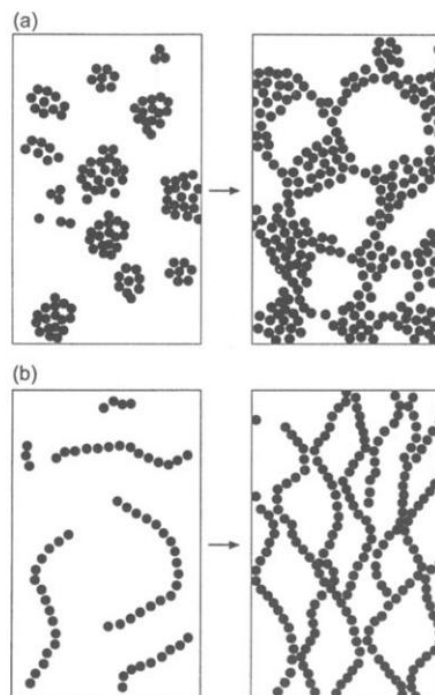
Donde,  $x$  es el número de moléculas de proteína,  $P_N$  las moléculas de proteínas nativas y  $P_D$  las moléculas de proteínas desnaturalizadas. La segunda agregación, avanza más lentamente que la primera, lo que permite a las moléculas de proteínas no plegadas orientarse a un cierto grado. Por lo tanto, las tasas de despliegue como la agregación son importantes en la formación de geles de proteínas (Clark, 1992; Doi, 1993).

Estudios posteriores propusieron una secuencia de cuatro pasos en la gelificación inducida por calor de las proteínas (Aguilera, 1995; Schmidt, 1981):

- 1) Desnaturalización de las proteínas nativas  $N \rightarrow D$
- 2) Agregación de moléculas desplegadas  $D \rightarrow A$
- 3) Formación de cadena de agregados  $A \rightarrow S$
- 4) Asociación de filamentos y formación de la red  $S \rightarrow G$

Las proteínas globulares que adoptan una única conformación en su estado nativo (N) se desnaturalizan (D) bajo ciertas condiciones (por ejemplo, calentamiento). Este cambio conformacional expone partes de la molécula que facilitan las interacciones intermoleculares. Estas interacciones conducen a la formación de agregados esféricos (A) (Beveridge y col., 1984; McSwiney y col., 1994; McSwiney y col., 1994), que serían los bloques de construcción básicos que conducen a la formación de cadenas (S) o pro-geles, y en última instancia a los geles (G).

Por otro lado, Tombs, (1974) propuso dos modelos para la formación de geles de proteínas globulares a partir de agregados: la agrupación al azar, normalmente se conoce como geles "particulados" y el collar de cuencas, normalmente se conoce como geles "trenzados". La figura 1.4 ilustra esquemáticamente la formación de la estructura del gel: (a) particulado y (b) collar de cuencas (Doi, 1993).



**Figura 1.4.** Formación de la estructura del gel: (a) particulado y (b) collar de cuencas.

#### **1.1.10. Factores que afectan las características de los geles de proteína de lactosuero.**

El aspecto y las propiedades de los geles de proteína de lactosuero se ven afectados por una serie de factores, en particular la concentración de proteína, tiempo y temperatura de calentamiento, el pH y la fuerza iónica. Estos factores, a su vez influyen en los tipos de fuerzas que mantienen los componentes juntos (Mangino, 1992a). Se requiere un equilibrio crítico entre las fuerzas de atracción y fuerzas de repulsión necesarias para formar una red, evitar su colapso y formar el gel (Mangino, 1992a, 1992b).

Diversos estudios se hicieron sobre la mínima concentración de proteína requerida para formar un gel y estos encontraron que era necesaria un valor de 7.5% de proteína o mayor con el fin de formar un gel fuerte (Schmidt y col., 1978). A medida que aumenta la concentración de proteína, el número de posibles interacciones entre las moléculas es mayor, lo que resulta en un aumento de la fuerza de gel, un tiempo de gelificación reducido y una red de gel más fina (Matsudomi y col., 1991; Paulsson y col., 1986).

El pH afecta a la conformación molecular y las interacciones intermoleculares, influyendo en la estructura de red de gel y sus propiedades funcionales y sensoriales. Las diferencias en las propiedades de los geles a diferentes pHs se atribuyen a las variaciones en las interacciones electrostáticas y formación o no de enlaces disulfuro. A valores de pH cerca del *pI*, están favorecidas las interacciones proteína-proteína formando agregados densos, resultando un gel con baja resistencia. A valores de pH alejados del *pI* las repulsiones electrostáticas inhiben las interacciones proteína-proteína, causando una baja resistencia del gel. El pH también afecta a la reactividad de los grupos tiol; favoreciendo la formación de enlaces disulfuro por encima de pH 7 (Hillier y col., 1980; Xiong y Kinsella, 1990).

Las sales tienen un efecto importante sobre las propiedades de los geles de proteína de lactosuero, especialmente a valores de pH alejados del *pI* donde las proteínas se encuentran cargadas eléctricamente. La adición de NaCl o CaCl<sub>2</sub> a una solución de CPL o APL dan como resultados un aumento en la resistencia del gel hasta alcanzar valores máximos, y luego la resistencia del gel disminuye a mayores concentraciones de sal (Kuhn

y Foegeding, 1991a, 1991b; Mulvihill y Kinsella, 1988; Schmidt y col., 1978; Schmidt y col., 1979).

#### **1.1.11. Geles mixtos.**

Muchas veces los alimentos incluyen en su formulación más de un hidrocoloide para lograr las características de textura, reológicas y sensoriales deseadas. Muchos de estos sistemas mixtos se comportan según las propiedades individuales de los polímeros que los constituyen. En otros, sin embargo, las propiedades de la mezcla son diferentes de la de cada componente por separado. Por ejemplo, algunas mezclas binarias de hidrocoloides gelificantes dan geles más fuertes que los que pueden llegar a dar los polímeros por separado, o lo que es equivalente, se obtiene la misma fuerza del gel a una concentración total menor, lo que se traduce en una baja en los costos. Más aún, algunos polímeros que por separado no gelifican lo hacen cuando están en una mezcla. Tal característica es usualmente descripta como sinergismo (Morris, 1990).

Dickinson y col. (2001) estudiaron las propiedades de geles de  $\beta$ -lactoglobulina en presencia de gomas no gelificantes (alginato de polipropilenglicol, xantica y  $\lambda$ -carragenina) y encontraron que estos polisacáridos modifican la cinética de agregación, el tamaño de los agregados de  $\beta$ -lactoglobulina y el grado de asociación de las partículas en la estructura. Spahn y col. (2006) encontraron que la presencia de  $\lambda$ -carragenina en geles de CPL promueve la gelificación a menor tiempo y concentración de proteínas (respecto de una muestra sin este polisacárido), lo cual está relacionado con la existencia de incompatibilidades termodinámicas entre las proteínas y el polisacárido.

Se observó que el almidón de mandioca incrementa la capacidad de retención de agua de los geles ácidos de CPL. Los geles ácidos mixtos de almidón de mandioca y CPL presentan zonas separadas de almidón gelatinizado y proteína agregada (Lupano y González, 1999). Por otro lado, en los geles mixtos CPL/proteínas de gluten preparados a pH ácido se observó que las proteínas del gluten aumentan la firmeza, la elasticidad y la capacidad de retención de agua de los geles, mientras que el CPL rompe la estructura del gluten (Lupano, 2000b).

A partir de ingredientes que incluyen mezclas de CPL y polisacáridos en su formulación se puede obtener una variedad de productos nuevos gelificados (Spahn y col., 2008). El uso de mezclas de proteínas y polisacáridos tiene una gran importancia debido a sus interacciones sinérgicas que ofrecen la posibilidad de controlar o mejorar la textura de un alimento (Capitani y col., 2007). El estudio de los mecanismos de gelificación de los CPL con otros componentes es de gran interés en la industria de alimentos, dado que estas mezclas modifican el comportamiento organoléptico y reológico del producto final (Jong y col., 2009).

## **1.2. LA MIEL**

Según el Artículo 782 del código alimentario argentino "Con la denominación de Miel o Miel de Abeja, se entiende el producto dulce elaborado por las abejas obreras a partir del néctar de las flores o de exudaciones de otras partes vivas de las plantas o presentes en ellas, que dichas abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, almacenándolo en panales, donde madura hasta completar su formación.



La miel es un edulcorante de origen natural. Se ha utilizado como alimento desde hace unos seis mil años y durante gran parte de ese tiempo era el único edulcorante de gran parte de la población mundial (Graham, 1992). Es rica en energía y contiene pequeñas cantidades de minerales, vitaminas, enzimas y hormonas. La miel era considerada un alimento real en el antiguo Egipto, y mencionada en antiguos textos



religiosos egipcios (Darby y col., 1977). Sus virtudes medicinales y nutritivas se destacaron en el Corán, el libro sagrado de los musulmanes, por lo que es considerada con gran respeto en los países musulmanes, particularmente en Arabia Saudita (Mesallam y El-Shaarawy, 1987).

Desde el punto de vista nutricional la miel es un alimento de alto poder energético, ya que proporciona entre 300 y 320 Kcal /100g, debido a su contenido rico en hidratos de carbono. El resto de los componentes, proteínas, lípidos, vitaminas y sales minerales, se encuentra en cantidades muy pequeñas por lo que su aporte no es significativo desde el punto de vista nutricional.

### **1.2.1. Producción de la miel**

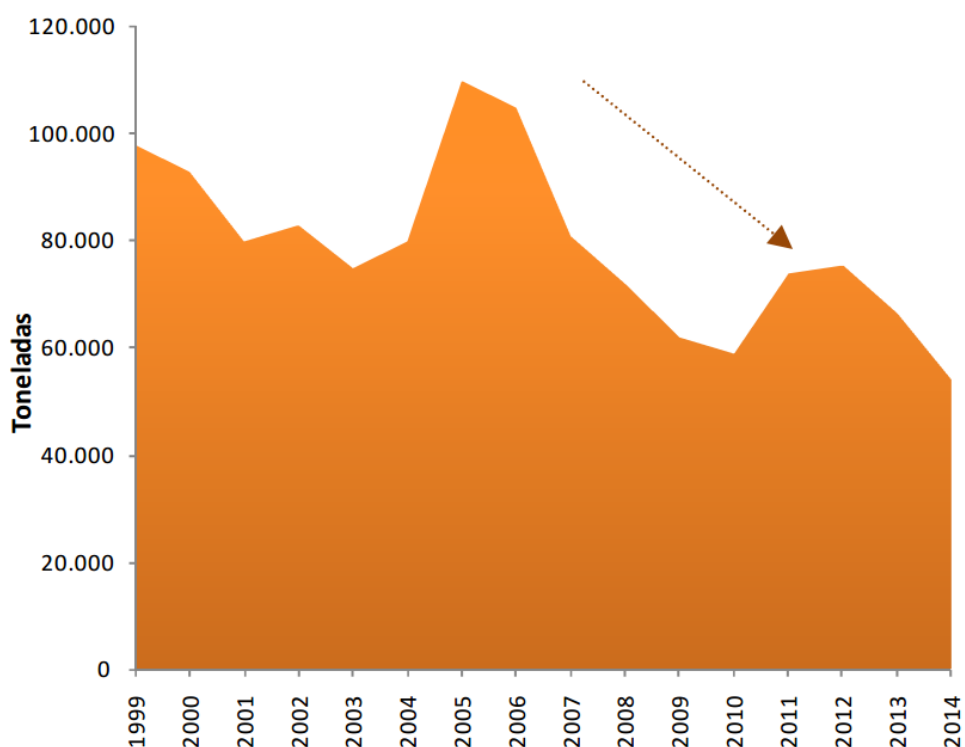
La Argentina es el tercer productor mundial de miel precedido por China y Turquía. Como se observa en la figura 1.5, la producción local de miel muestra una tendencia descendente a lo largo de los últimos años. Pasando de un promedio de 84.000 toneladas anuales en el período 2000-2009 a un promedio de 67.000 toneladas anuales en los últimos cuatro años. Si bien el 50% de la producción en Argentina se concentra en la provincia de Buenos Aires, existen otros polos productivos en Santiago del Estero, Misiones, Tucumán, Neuquén, Chubut, Córdoba, Entre Ríos, La Pampa y Santa Fe (Blengino, 2014).

El sector apícola se ha caracterizado históricamente por su atomización, productores de pequeña escala con escasos recursos para la inversión y escaso poder de negociación a la hora de comercializar sus productos. Desde el sector público se promovió la creación de consorcios para la exportación, como una herramienta de comercialización y diferenciación para cooperativas de productores. El 95% de la producción local se destina al sector externo siendo exportada como miel a granel y un pequeño porcentaje se comercializa como miel fraccionada, material vivo (abejas) y derivados como ceras y propóleos. La dinámica de las exportaciones del sector apícola no ha sido muy favorable en los últimos años. Entre 2004 y 2014, las exportaciones del sector apícola medidas en volumen (miel a granel) se redujeron un 17%. A pesar de estos datos desfavorables Argentina es el segundo exportador de miel en el mundo después de

China (21% del total), con una participación en el total de toneladas exportadas de alrededor del 11% (Blengino, 2014).

Con respecto a los principales destinos, en el caso de la miel a granel, la mayor participación correspondió a Estados Unidos (65.7%) seguido muy lejos por Alemania (12.2%) y Japón (10.2%). Estos tres países concentraron el 88% de las exportaciones realizadas por la Argentina durante el periodo 2014-2015. Para la miel fraccionada las exportaciones fueron principalmente: Estados Unidos y Alemania con alrededor del 75% entre ambos (Allende, 2015).

A nivel local el consumo de miel en Argentina es ínfimo, ronda los 200 gr. per cápita al año, si se lo compara con países como Japón, Estados Unidos o Alemania donde el consumo anual alcanza 1 kg. por persona.



**Figura 1.5.** Producción local de miel (Blengino, 2014).

### 1.2.2. Composición de la Miel

La composición de la miel está influenciada por la fuente floral, el clima, las condiciones ambientales y las habilidades del apicultor. Por lo tanto, en todas las regiones del mundo, la composición de las mieles es diferente (Bhandari y col., 1999). Básicamente la miel es una mezcla compleja de hidratos de carbono y otras sustancias menores, tales como ácidos orgánicos, aminoácidos, proteínas, minerales, vitaminas, y lípidos (White, 1975).

**Tabla 1.4.** Variabilidad en la composición de la miel (Bhandari y col., 1999).

<b>Ingredientes</b>	<b>% base húmeda *</b>
Glucosa	22 – 41
Fructosa	27 – 44
Sacarosa	0,25 -8
Maltosa	3 – 16
<b>Otros azúcares</b>	0,13 – 8,5
Humedad	13 – 23
pH	3,42 – 6,1
Ácidos Totales (como glucónico)	0,2 – 1,2
Ceniza	0,02 – 1,0

\*(Kg/Kg de muestra) x 100

#### **Humedad.**

La humedad de la mayoría de las mieles oscila entre un 16 al 18% (base húmeda). Por encima de estos valores la miel puede fermentarse debido a la presencia de levaduras osmofílicas. Después de la extracción de la miel de la colmena, su contenido de humedad puede cambiar dependiendo de las condiciones de almacenamiento (Ulloa y col., 2010).

#### **Azúcares**

Los carbohidratos constituyen el principal componente de la miel, tiene alrededor de 83 grados Brix (o alrededor del 83% de azúcar). La mayoría de los hidratos de carbono

en la miel son monosacáridos siendo la fructosa el glúcido mayoritario seguido de la glucosa (Ball, 2007).

En un tercer lugar muy alejado esta la sacarosa; otros disacáridos presentes en la miel, aunque en cantidades muy pequeñas, son maltosa, isomaltosa, nigerosa, turanosa y maltulosa.

### **Los ácidos y el pH**

La miel es ácida (pH promedio de 3,9), sin embargo el alto contenido de azúcar tiende a enmascarar la acidez en el sabor. El ácido glucónico, que es el ácido predominante en la miel, es producido por la glucosa oxidasa, enzima que produce la abeja y que oxida la glucosa. Otros ácidos que han sido identificados en la miel incluyen ácido acético, butírico, cítrico, fórmico, láctico, maleico, málico, oxálico, y ácidos succínico (Graham, 1992).

### **Proteínas y aminoácidos.**

La miel contiene aproximadamente 0.5% de proteínas, principalmente como enzimas y aminoácidos. Las enzimas son añadidas principalmente por las abejas (aunque algunas pocas proceden de las plantas) a fin de lograr el proceso de maduración del néctar a miel. La enzima más importante es la invertasa que convierte la sacarosa en fructosa y glucosa. Otras enzimas presentes son la glucosa oxidasa, responsable en gran parte de la propiedad antibacterianas ; la catalasa, responsable de convertir el peróxido de hidrógeno a oxígeno y agua y la diastasa que se usa indicador de aplicación de calor a la miel (Ulloa y col., 2010).

### **Minerales**

El contenido de minerales en una miel está influenciado por el origen botánico, las condiciones del suelo, el clima y las distintas técnicas de extracción de la miel que pueden incorporarlos por una inadecuada manipulación (Baldi Coronel, 2010). En la tabla 1.5 se muestra la composición de minerales de mieles claras y oscuras. Los elementos traza que se encuentran en la miel incluyen cromo, litio, níquel, plomo, estaño y zinc.

**Tabla 1.5.** Contenido mineral de mieles (Crane, 1985).

<b>Mineral</b>	<b>Promedio en miel clara (ppm)</b>	<b>Promedio en miel oscura (ppm)</b>
Potasio	205	1,676
Cloro	52	113
Azufre	58	100
Sodio	18	76
Calcio	49	51
Fósforo	35	47
Magnesio	19	35
Silicio (Como SiO <sub>2</sub> )	9	14

## Vitaminas

La miel contiene pequeñas pero detectables cantidades de vitaminas (tabla 1.6). Sin embargo, no se la considera una buena fuente de estas (Graham, 1992).

**Tabla 1.6.** Contenido vitamínico de la miel (Graham, 1992).

<b>Vitaminas</b>	<b>Concentración (ppm)</b>
Riboflavina	0,63
Ácido pantoténico	0,96
Niacina	3,2
Tiamina	0,06
Piridoxina	3,2
Ácido ascórbico	22

### 1.2.3. Reología

La composición química de la miel afecta a varias de sus características físicas. Como una solución concentrada de azúcar, la miel tiene un alto índice de refracción aproximadamente 1.49 y una viscosidad de aproximadamente 120 poise a temperatura ambiente, en comparación con 0.0089 poises para el agua. La gravedad específica de la miel es de aproximadamente 1.4 (Graham, 1992).

#### 1.2.4. Características organolépticas

##### El aroma y sabor

El aroma y el sabor de la miel se atribuyen a los azúcares, los ácidos y otros componentes volátiles (aldehídos y alcoholes). Se ha observado que muchos ésteres del ácido fenilacético tienen un sabor y aroma similar a la miel (Jacobs, 1995).

Los azúcares son los principales componentes del sabor. Generalmente la miel con un alto contenido de fructosa es más dulce que una miel con una alta concentración de glucosa.

##### Color

Una característica de la miel es su color, el cual depende de la temporada, la fuente de néctar, el tiempo entre la recolección del néctar y cosecha de miel, y detalles de la producción (el calentamiento es el que más impacta sobre el color). Se sugiere que el color de la miel depende de varios factores, entre ellos, a la presencia o ausencia de carotenoides y polifenoles. Otra posibilidad es una caramelización química de los disacáridos en la miel, catalizada por los ácidos presentes o por una reacción de Maillard entre los azúcares y aminoácidos. Cualquiera que sea la fuente del color, generalmente es cierto que entre más oscura es la miel, más intenso es el sabor (Baker y Baker, 1982; Graham, 1992).

#### 1.2.5. Usos y propiedades de la miel en la industria de alimentos

Su mayor utilización es como endulzante natural pues posee mayor poder edulcorante que el azúcar. Se hacen diversos tipos de caramelos de miel o con esta como ingrediente. Se usa en bebidas alcohólicas a base de miel como sidra, vino o cerveza de miel. También se produce vinagre de miel (INTI-Entre Ríos, 2011). Algunas de las aplicaciones en función de sus características o funciones de la miel se citan a continuación:

**Humectante:** la miel contribuye a humectar los alimentos, en especial, los preparados de confitería tales como las masas. Elimina la sequedad y la porosidad de estos preparados

y mejora la textura de los productos horneados, dando la impresión de una apariencia húmeda y brillante en su superficie.

**Gratinado:** en la preparación de carnes de aves principalmente, mediante el uso de la miel se logra un buen punto de gratinado lo que le brinda a la carne una excelente presentación y sabor.

**Sabor:** el ácido glucónico que contiene la miel realza el sabor de los preparados. La forma de saborizar que posee la miel es muy interesante para aplicarla a la elaboración de productos lácteos. Por ejemplo, el yogurt con miel ha tenido bastante éxito en otros países como España o Brasil. Se utiliza para saborizar dulces, mermeladas y caramelos.

**Antioxidante:** posee una importante actividad antioxidante debido a la presencia de polifenoles y flavonoides, permitiendo la conservación de distintos tipos de alimentos. Es muy útil en el caso de las frutas secas y frescas, pudiendo conservar la ensalada de fruta sin que ésta se oscurezca por la oxidación.

### 1.3. HIDROCOLOIDES

Los hidrocoloides son polisacáridos de alto peso molecular o proteínas que presentan tamaños entre 10 y 1000 Å y se disuelven o dispersan en agua causando un aumento de la viscosidad (Glicksman, 1982). Pueden obtenerse a partir de diversas fuentes: semillas, algas, exudados de plantas, bacterias, animales, etc. En la tabla 1.7 se muestra su clasificación de acuerdo a su origen.

Los hidrocoloides son ampliamente utilizados en una variedad de sectores industriales como espesantes y gelificantes de soluciones acuosas, estabilizantes de espumas, emulsiones y dispersiones, inhibidores de formación de hielo y cristalización de azúcar y la liberación controlada de sabores, etc. La industria alimentaria, en particular, ha visto un gran incremento en el uso de estos materiales en los últimos años. A pesar de que a menudo sólo están presentes en concentraciones menores al 1% pueden tener una influencia significativa en las propiedades de textura y organolépticas de los productos alimenticios (Phillips y Williams, 2009).

**Tabla 1.7.** Clasificación de los hidrocoloides de acuerdo a la fuente (BeMiller, 2001).

Origen	Ejemplos	
	Exudados	Goma arábica, goma tragacanto, goma karaya, goma Gatti
Plantas superiores	Estructurales	Almidón, pectinas, celulosa
	De reserva (semillas, tubérculos)	Goma guar, goma garrofin, goma tara, goma del tamarindo, konjac manano
Extractos de algas	Algas rojas	Agar – agar, carragenanos
	Algas marrones	Alginatos
Microbiano	Goma xántica, goma curdlan, dextrano, goma galieno, celulosa.	
Animal	Gelatina, caseinato, quitosano, proteínas del suero	

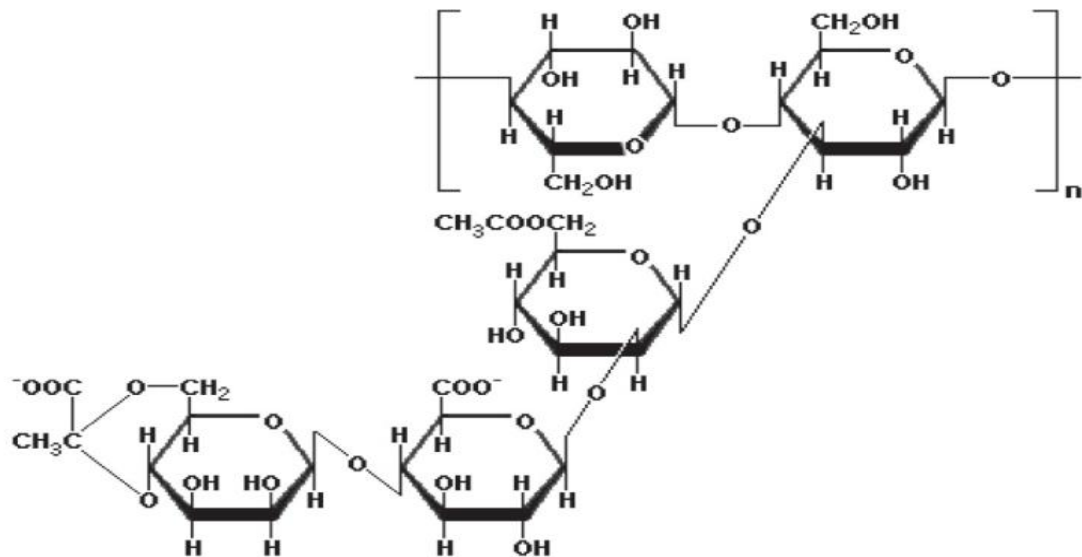
Hidrocoloides como el xantano, carragenina, pectina, almidón y gelatina se utilizan generalmente en aplicaciones de alimentos debido a sus propiedades funcionales (Walker, 1984). Las gomas son ampliamente utilizadas en una gama muy diversa de alimentos. En particular, se utilizan para ofrecer resistencia a los procesos físicos no deseados tales como la cristalización, la sedimentación gravitacional y desagregación mecánica, que de otro modo podría ocurrir durante la distribución y almacenamiento. La adición de gomas a un producto alimenticio muy a menudo cambia el carácter percibido de alimento más allá del reconocimiento. Estos cambios pueden ser de vital importancia en el logro de la aceptación o no del consumidor (Houska y col., 1998; Morley, 1984; Osman, 1975; Walker, 1984).

### 1.3.1 Goma xántica

La goma xántica es un polisacárido exocelular producido por la bacteria *Xanthomonas campestris* (Sandford y Baird, 1983). La estructura del polímero está conformada de unidades glucosas unidas por enlaces  $\beta$  1→4 y cada dos unidades de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal, se une en la posición O-3 un trisacárido con



aproximadamente la mitad de ellos teniendo un ácido pirúvico unido al acetal cíclico en posición 4-6 (figura 1.6) (BeMiller y Whistler, 1996).



**Figura 1.6.** Estructura química de la goma xántica (Narres y Shailaja, 2010).

La goma xántica es de un color blanquecino en polvo, soluble en agua fría y sus soluciones exhiben un flujo altamente pseudoplástico (Khan y col., 2007). En el rango de pH comprendido entre 1 y 13 la viscosidad de una solución de goma xántica permanece prácticamente constante pero disminuye al aumentar la temperatura. La alta viscosidad de las soluciones de goma de xántica a bajas velocidades de deformación explica su capacidad para proporcionar estabilidad a largo plazo de los sistemas coloidales. La reducción en la viscosidad en respuesta a la cizalladura creciente es importante para las propiedades de vertido de las suspensiones y emulsiones, y a la eficacia de la goma xántica como coadyuvante de elaboración (Sworn, 2000). La tabla 1.8 enumera algunos usos actuales de la goma de xántica en alimentos.

**Tabla 1.8.** Aplicaciones principales de la goma xantica en alimentos (García-Ochoa y col., 2000)

Aplicación	Concentración (%p/p)	Funcionalidad
Aderezos para ensaladas	0,1 - 0,5	Estabilizador de emulsión; agente de suspensión, agente dispersante.
Mezclas secas	0,05 - 0,2	Facilita la dispersión en agua fría o caliente
Jarabes, coberturas, condimentos, salsas	0,05 - 0,2	Espesante; estabilidad al calor y la viscosidad.
Bebidas (frutas y leche en polvo sin grasa)	0,05 - 0,2	Estabilizador.
Productos lácteos	0,5 - 0,2	Estabilizador; control de la viscosidad de la mezcla.
Productos horneados	0,1-,0,4	Estabilizador; facilita el bombeo
Comidas congeladas	0,05 - 0,2	Mejora la estabilidad de congelación-descongelación

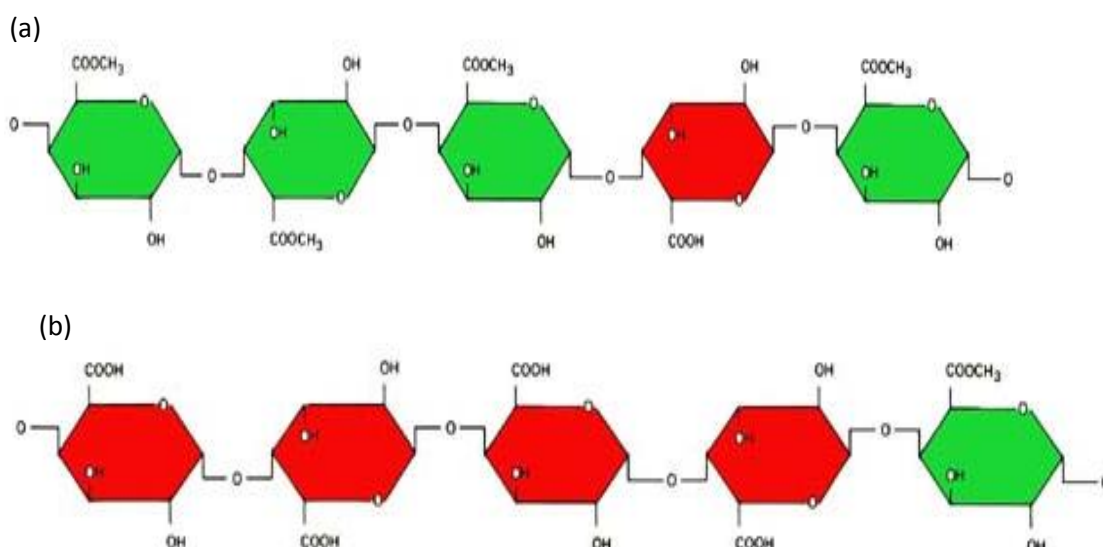
### 1.3.2 Pectina

Las pectinas son polisacáridos que están presentes en la pared celular y en los tejidos intracelulares de las frutas y hortalizas, se usan como agentes gelificantes y espesantes en los productos alimenticios. Son solubles en agua caliente y al enfriarse tienen la capacidad de formar geles (Charley, 1982). Las principales fuentes de pectinas industriales son el orujo de manzana y la cáscara de frutas cítricas como naranja, limón, lima y pomelo (Garti y Leser, 2001). Químicamente están compuestas de cadenas de ácido galacturónico intercaladas cada 40 residuos con unidades de ramnosa ramificadas con arabinosa, xilosa y galactosa (Charley, 1982). Algunos de los grupos carboxilo a lo largo de la cadena de ácido galacturónico están esterificados con metanol.

Según el grado de esterificación, las pectinas se clasifican como pectinas de alto metoxilo o bajo metoxilo. Los dos grupos tienen propiedades diferentes y gelifican bajo condiciones diferentes (Charley, 1982).

Las pectinas de alto metoxilo tienen una elevada proporción (normalmente 50-58%) de grupos carboxilos esterificados (figura 1.7a) y se pueden hacer gelificar con la

adición de azúcar y ácido. La pectina de bajo metoxilo tiene sólo 29-40% de los grupos carboxilo esterificados (figura 1.7b). Por tanto, la mayoría están disponibles para formar enlaces cruzados con iones divalentes como calcio. Si se forman suficientes enlaces cruzados, se puede obtener una red tridimensional que atrapa líquido, formando un gel (Charley, 1982).



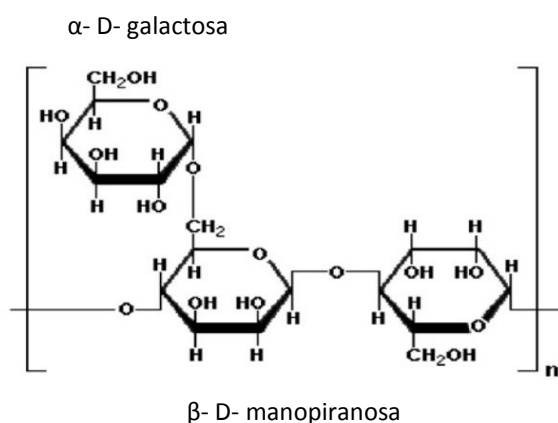
**Figura 1.7.** Estructura química de la pectina. (a) alto metoxilo y (b) bajo metoxilo.

En la industria alimentaria, la pectina se usa en mermeladas, jaleas, conservas, confiterías, alimentos congelados, y más recientemente en alimentos bajos en calorías como grasa y/o sustituto de azúcar. Otras aplicaciones de las pectina incluyen el uso en películas comestibles, sustituto de papel, espumas, plastificantes, etc. Las pectinas son susceptibles a la degradación térmica durante el procesamiento, estando influenciado este proceso por la naturaleza de los iones y sales presentes en el sistema (Thakur y col., 1997).

Su uso está permitido en todos los países del mundo. El Comité Mixto FAO / OMS sobre aditivos alimentarios recomienda pectina como aditivo seguro sin límite en la ingesta diaria admisible, excepto según lo dictado por las buenas prácticas de manufactura (Thakur y col., 1997).

### 1.3.3 Goma guar

La goma guar deriva de las semillas de la planta *Cyamopsis tetragonoloba*, un miembro de la familia de las leguminosas (Mudgil y col., 2014; Prem y col., 2005). Es un polisacárido compuesto esencialmente por galactosa y manosa, pero con diferentes proporciones de estos dos azúcares (Kays y col., 2006) (figura 1.8). Se compone básicamente de una cadena lineal de unidades de  $\beta$ -D-piranosido unidas entre sí por enlaces glicosídicos ( $\alpha 1 \rightarrow 4$ ), enlazada con una unidad  $\alpha$ -D- galactopiranosido ( $\alpha 1 \rightarrow 6$ ) como cadena lateral (Chudzikowski, 1971).



**Figura 1.8.** Estructura química de la goma guar (Narres y Shailaja, 2010).

La característica más significativa de la goma de guar es su capacidad de hidratarse rápidamente en agua fría para dar soluciones altamente viscosas. La goma guar forma una dispersión coloidal viscosa cuando está completamente hidratada, es un sistema reológico tixotrópico. Como al igual que las otras gomas, la viscosidad de la goma de guar es dependiente de tiempo, temperatura, concentración, pH, fuerza iónica y también del tipo de agitación. Una dispersión acuosa de 1% de goma guar de buena calidad puede mostrar un valor de viscosidad de 10.000 cP (Parija y col., 2001).

Las soluciones de goma guar son estables en un amplio intervalo de pH de aproximadamente 1,0 a 10,5. Esto es debido a su comportamiento no iónico y no cargado.

Por otra parte, en una solución de azúcar-goma guar, el azúcar compite con la molécula de goma guar por el agua disponible en la solución, retrasando la hidratación del hidrocoloide causando una disminución en la viscosidad.

En la industria alimentaria, la goma guar se usa como un aditivo alimentario en varios productos alimenticios para la estabilización de alimentos y como fuente de fibra (Morris, 2010). Algunas de las aplicaciones alimentarias más comunes de la goma guar se muestran en la tabla 1.9.

**Tabla 1.9.** Aplicación de la goma guar en alimentos (Mudgil y col., 2014).

<b>Alimento</b>	<b>Dosis</b>	<b>Función</b>	<b>Referencia</b>
Chapati	0.75%	Suavidad y/o blandura	Ghodke 2009
Pan	0.5%	Suavidad, volumen del pan	Keskin y col. 2007; Ribotta y col. 2001
Productos fritos	0,5 – 1,0%	reducción de la absorción de aceite	Sakhale y col. 2011
Yogur	2,0%	Mejorador de textura	Brennan y Tudorica 2008
Pastel	0,15%	sustituto de grasa, firmeza	Zambrano y col. 2004
Salchicha	0,13 – 0,32%	Suavidad	Andres y col. 2006
Pasta	1,5%	Mejorador de textura	Raina y col. 2005
Helado	0,5%	crisales de hielo más pequeños	Sutton y Wilcox 1998
Alimentos horneados	1,0%	mejorador de la masa	Kohajdova y Karovicova 2008
Salsa de tomate	0,5 – 1,0%	Mejorador consistencia, reducción de la pérdida de suero.	Gujral y col. 2002; Koocheki y col. 2009

#### **1.3.4 Almidón de maíz**

El almidón o fécula de maíz es un polisacárido que se obtiene de moler las diferentes variedades del maíz. Suele formar parte de los carbohidratos que se ingieren

de manera habitual a través de los alimentos (QuimiNet, 2011). Las propiedades físico-químicas y funcionales de este polisacárido están estrechamente relacionadas con su estructura. El almidón está formado por dos polímeros de glucosa: amilosa y amilopectina. La amilosa es una cadena de tipo lineal de glucosas con uniones  $\alpha$  1 $\rightarrow$ 4. La amilopectina es una cadena de lineal de glucosas con uniones  $\alpha$  1 $\rightarrow$ 4 y ramificaciones en  $\alpha$  1 $\rightarrow$ 6. Las ramificaciones que tiene la amilopectina conforman de entre un 5 y un 10 %. La amilosa y amilopectina constituyen el 98-99% del peso seco de los gránulos nativos, comprendiendo el resto pequeñas cantidades de lípidos, minerales y fósforo en la forma de fosfatos esterificados a la glucosa (Lindeboom y col., 2004).

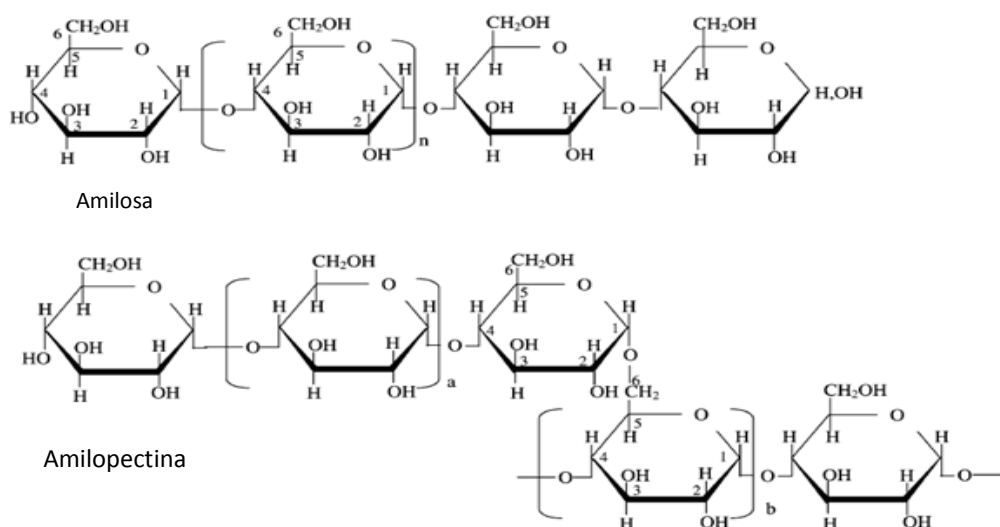


Figura 1.9. Estructura química del almidón (Lindeboom y col., 2004).

El almidón es uno de los hidrocoloides alimentarios más importantes y abundantes. Se utiliza no sólo como un ingrediente principal de los alimentos básicos como el pan y los fideos, sino también como espesante, agente estabilizador, gelificante en alimentos procesados y sustitutos de la grasa. Los polisacáridos nativos y modificados, presentan muchas propiedades funcionales para controlar las propiedades reológicas y texturales de los alimentos, para mejorar la retención de humedad, y para mantener la calidad global del producto durante el almacenamiento (Funami y col., 2005).

El almidón ha encontrado una amplia aplicación en la industria alimentaria. Almidón y mezclas de hidrocoloides se utilizan a menudo para modificar y controlar la textura de diversos alimentos (Yoshimura y col., 1998).

#### **1.4. DESHIDRATACIÓN DE ALIMENTOS**

El secado es probablemente uno de los más antiguos métodos de conservación de alimentos (Lewicki, 2006). El primer registro conocido de secado involucró la deshidratación de verduras en el siglo 18 (Van Arsdel y Copley, 1963). Es un proceso en el que se elimina el agua con el objetivo de detener o ralentizar el crecimiento de microorganismos de deterioro (hongos, levaduras, bacterias), así como la aparición de reacciones químicas (pardeamiento no enzimático, oxidación de lípidos) (Vega y col., 2001). Este tratamiento genera adicionalmente características y propiedades únicas que no pueden alcanzarse por otro tipo de proceso (Lewicki, 2006).

El proceso de secado es indispensable en muchos sectores de la industria alimentaria debido al mayor tiempo de conservación del producto, la reducción del costo de empaquetado, productos más livianos y ventajas ambientales (Lewicki, 2006). Hoy en día los sistemas de secado han evolucionado, desde la simple utilización de la energía solar a la tecnología actual, que incluye entre otros, secado con aire caliente como el secado en horno, secado en bandeja, secado en túnel, secado spray, así como otros métodos de secado como la liofilización, la deshidratación osmótica, extrusión, secado por fluidización y microondas (Vega y col., 2001).

Dentro de los sistemas de secado mencionados anteriormente, el secado convectivo con aire caliente es la operación más frecuente en la industria de alimentos (Kiranoudis y col., 1997). Este método de secado consiste en la remoción del agua mediante la aplicación de una corriente de aire a diferentes temperaturas y velocidades variables; sin embargo a pesar de ser el método de secado más utilizado, el secado por liofilización es el mejor método de eliminación del agua, con productos finales de alta calidad en comparación con otros métodos de secado de alimentos. La liofilización se basa en la deshidratación por sublimación de un producto congelado. Debido a la ausencia de agua líquida y las bajas temperaturas requeridas para el proceso, la mayor

parte de las reacciones de deterioro se detienen lo que da un producto final de excelente calidad. El proceso de liofilización no se utiliza ampliamente en la industria alimentaria debido a su alto coste de operación. Aunque las nuevas mejoras como la adsorción, fluidización y horno microondas se han investigado en la última década con el fin de reducir los costos (Genin y René, 1995; Irzyniec y col., 1995). Cabe resaltar que la selección de la mejor técnica de secado está determinado por el tipo de producto del cual se parte, su composición, y sus propiedades físicas (Vega y col., 2001); no obstante también juega un papel fundamental las propiedades del producto final que se busca desarrollar.

El consumo de alimentos deshidratados se ha incrementado notoriamente en los últimos años debido a la practicidad y disponibilidad continua que el empleo de los mismos proporciona (Fuselli y col., 2004). Dentro de los productos y/o alimentos deshidratados más consumidos en la Argentina podemos mencionar los frutos secos, las galletitas y los snacks. Siendo estos dos últimos sectores los que han mostrado un mayor incremento en el consumo interno y en la producción, según el último informe del instituto de investigaciones económicas sectoriales (Telam, 2013).

#### **1.4.1. Snack**

Por definición, un snack es un alimento que se consume fuera del horario de comida principal, por lo general en la calle y en un período corto de tiempo (Viviant, 2007). Son alimentos en porciones pequeñas, individuales, de fácil consumo, fácil manipulación, que no requieren preparación previa al consumo y que están destinados a satisfacer el hambre entre las comidas formales (Costell, 1988).





Los snacks se han convertido en una parte integral de los hábitos alimenticios de la mayoría de la población mundial. Básicamente, se preparan a partir de ingredientes naturales o componentes de acuerdo a formulaciones específicas con el fin de obtener productos con propiedades funcionales particulares (Thakur y Saxena, 2000). Dentro de este tipo de alimento se incluye una amplia gama de productos que pueden tomar muchas formas (Sajilata y Singhal, 2005). Las materias primas utilizadas principalmente en la elaboración de los snacks son algunos cereales y tubérculos, que en ocasiones son enriquecidas con algunas fuentes ricas en proteína, siendo el maíz, la papa y la soja los principales representantes de cada uno de los grupos mencionados (Moore, 1994).

A pesar de que los snacks son altamente populares, debido a su alto contenido de sal y grasa, los fabricantes han tenido que luchar durante un largo tiempo con la imagen de “alimentos chatarra”, aunque el término sea algo injusto, ya que es utilizado para identificar a aquellos productos con alto contenido de carbohidratos simples o azúcares refinados, ricos en grasas y con cantidades elevadas de sodio. Esta imagen ha cambiado con la introducción de nuevos sustitutos de grasas y algunas tecnologías como la extrusión (Wang, 1997). La cocción por extrusión es un proceso de corta duración a alta temperatura en la que se humedece y se expande el almidón y/o materiales alimenticios (Havck y Huber, 1989; Castells y col., 2005).

Por otro lado, La industria de los snacks es muy variable, debido en parte a los cambios en los estilos de vida de los consumidores (Pszczola, 2002). Esto debido principalmente al ritmo acelerado de vida, horarios de trabajo prolongados, sumado a una mayor presencia de la mujer en la vida laboral (Torres, 2009), que obliga a las personas a comer fuera de sus hogares y optar por productos envasados que puedan ser consumidos en cualquier momento del día.

Es por ello que constantemente se tiene que estar innovando en la producción de nuevos snacks, jugando un papel muy importante los ingredientes utilizados para su elaboración, proporcionando características nutricionales y sensoriales adecuadas para el mercado actual (Pszczola, 2002). Además, los alimentos tipo snack pueden ser rediseñados para ser nutritivos, conteniendo micronutrientes, fitoquímicos y vitaminas y antioxidantes, ingredientes que los hacen atractivos y más saludables para el consumidor.

En la última década se ha visto un crecimiento en el interés de los consumidores de los países desarrollados y las culturas occidentales sobre los alimentos "saludables". Propiedades de los alimentos que aportan ingredientes que contribuyen a la mejora de la salud (Armstrong y col., 2005). En la actualidad existe un sector de la población muy importante que busca en el consumo de snacks dulces encontrar algo más que un simple gusto, ahora se busca el bienestar y el cuidado de la salud. (Orosco, 2012).

Los snacks de proteína enriquecida están ganando en popularidad como alternativas más saludables. Numerosos intentos se han hecho para incorporar más proteínas en las formulaciones de los aperitivos, no sólo para mejorar su calidad nutricional, sino también para utilizar los subproductos ricos en proteínas de productos tales como mariscos, residuos de pescado y gallina, y lactosuero (Onwulata y col., 2001; Chavez-Jauregui y col., 2003; Lee y col., 2003; Rhee y col., 2004; Gilbert y Rakshit, 2005; Jaya Shankar y Bandyopadhyay, 2005). Entre estas fuentes de proteínas, se ha prestado más atención al lactosuero debido a su abundancia y beneficios nutricionales. La proteína del lactosuero es una fuente rica de aminoácidos de cadena ramificada y tiene un perfil de aminoácidos bien equilibrado. Se ha informado de que la proteína del lactosuero ofrece beneficios en el tratamiento de control de peso, la salud cardiovascular e incluso la prevención del cáncer (Bounous, 2000; Miller, 2000; Layman, 2003). La proteína del lactosuero concentrada también contiene cantidades significativas de calcio que puede ser una ventaja adicional cuando de fortificar los productos alimenticios se trata.

El consumo de snacks a nivel global alcanzó los 347.000 millones de dólares en el último año, lo que representa un incremento del 2%. En Europa el consumo se eleva a \$167.000 millones y en Norteamérica a \$124.000 millones y ambos mercados suman la mayor cantidad de ventas de snacks en todo el mundo. Las ventas anuales de snacks están creciendo más rápido en los países en vías de desarrollo: Asia Pacífico tiene un consumo de \$46.000 millones y Latinoamérica de \$30.000 millones, y ambos mercados incrementaron 4% y 9% respectivamente, mientras las ventas en Medio Oriente/África (\$7 mil millones) aumentaron 5% (el Federal, 2014).

En Europa los snacks más consumidos son los caramelos, alrededor del 30% del total. Los productos refrigerados se encuentran en el segundo lugar representando un 21% en el total de las ventas. En tercer lugar se encuentran los productos salados y por

último las galletas y los pasteles. Los asiáticos prefieren los snacks refrigerados, seguidos de galletas y pastelitos, dulces y productos salados. En Oriente Medio y África, las personas tienen una preferencia muy similar entre caramelos y productos salados, siendo los productos más consumidos en estas regiones. Estados Unidos prefiere las papas fritas y frutos secos. En este país, el 25% del gasto en snacks, es en productos salados. El 18% de los snacks son artículos refrigerados como yogurts, el 14% son frutas y verduras, y menos del 10% corresponde a galletas y pasteles (Vitónica, 2014).

En Latinoamérica aproximadamente un tercio de todas las ventas en snacks corresponde a galletas y pastelitos. El 27% de los snacks son caramelos el 23% son productos salados como papitas fritas y el 17% son productos refrigerados (Vitónica, 2014).

En la Argentina tradicionalmente, el mercado de snacks estaba centrado en los productos salados. Incluso hoy, con la diversificación de la oferta, las papas fritas aún representan el 49% del consumo total. Extrudados (chizitos), palitos y maníes complementan el segmento. Hoy en día se consideran como snacks dulces, pochoclos, pallet, alfajores y barritas de arroz y cereales. Es un universo cada vez más flexible y diverso (Elentrieros, 2015).

En el primer cuatrimestre de 2013, las exportaciones de golosinas, galletitas y snacks alcanzaron un valor de 102.6 millones de dólares. Del total exportado por el sector, 75.1 millones de dólares corresponden a ventas de golosinas, mientras que 22.9 millones de dólares son exportaciones de galletitas y 4.6 millones de dólares fueron por snacks, bajo el rubro papas fritas saladas o aromatizadas. Los principales destinos de las exportaciones de golosinas, galletitas y snacks en valores en el primer cuatrimestre de 2013 fueron Brasil (21.4%), Chile (15.7%), Uruguay (15.3%) y Paraguay (10.9%), indicó el informe del instituto de investigaciones económicas sectoriales (Telam, 2013).

La venta de snacks viene en ascenso hace varios años. A pesar de eso, las empresas del sector coinciden en que el mercado tiene mucho potencial y que la categoría está subdesarrollada. "El consumo per cápita en la Argentina es de 1 kg por año y está por debajo de otros países de la región (Uruguay: 1,6 kgs anuales; y Chile: 2,3 kgs)". (Elentrieros, 2015)

### 1.4.2 La cinética de secado

El conocimiento de La cinética de secado de los productos es muy importante para el diseño, simulación y optimización de los procesos de deshidratación (Banga, y Singh, 1994). La cinética se ve muy afectada por la temperatura del aire y la dimensión característica del material, mientras que todos los otros factores del proceso ejercen influencia prácticamente despreciable (Kiranoudis y col., 1997).

Los mecanismos de transferencia de masa en los alimentos son complejos. Con frecuencia, el modelado de las curvas de secado durante el período decreciente se lleva a cabo suponiendo que el mecanismo principal es de naturaleza difusional. Por lo tanto, el coeficiente de difusión estimado a partir de los resultados experimentales es un parámetro eficaz que incluye los efectos de las hipótesis conocidas junto con los fenómenos desconocidos (Simal y col., 1998). Modelos de tipo ley de Fick se utilizan comúnmente para representar la cinética de secado con aire en el período decreciente (Banga, y Singh, 1994).

El proceso de transferencia de masa se puede definir como una función de la ley de Fick de la ecuación de difusión (ecuación 1.1) (Roberts, 2008).

$$\frac{\partial W_l}{\partial t} = \nabla ( D_{eff} \nabla W_l) \quad \text{Ec. 1.1}$$

Donde  $D_{eff}$  es el coeficiente de difusión efectivo ( $m^2/s$ ), y  $W$  es el contenido de humedad expresado, kg de agua/ kg de materia seca.

Para aplicar la ecuación de la ley Fick, se tienen en cuenta las siguientes consideraciones:

- La fuerza impulsora de humedad durante el secado es un gradiente de concentración de líquido.
- Transferencia de calor despreciable.
- Material isotrópico.
- Tamaño constante.

Cuando el volumen sólido y el coeficiente de difusión se consideran constantes a través del proceso de secado (Senadeera y col., 2003), la solución de la ecuación 1.1 puede llevarse a cabo utilizando el método de separación de variables. En este caso, la solución en serie se obtiene suponiendo que las condiciones de contorno relacionadas con el equilibrio termodinámico y la simetría del sólido y la condición inicial de la humedad está distribuida uniformemente por todo el sólido. Esta solución en serie puede ser descrito para una placa infinita en la ecuación 1.2, siendo  $d$  el diámetro medio de los snacks (Crank, 1975).

$$WAD = \frac{Wm - We}{Wo - We} = \frac{8}{\pi^2} \exp\left(\frac{-\pi^2}{4} \frac{Def f}{d^2} t\right) \quad \text{Ec. 1.2}$$

Donde  $WAD$  representa el contenido de humedad adimensional y se define como la diferencia de la humedad de equilibrio ( $W_e$ ) con respecto a la humedad en un tiempo en segundo determinado ( $W_m$ ) en relación con la diferencia entre la humedad final ( $W_e$ ) y la humedad inicial del gel ( $W_o$ ) todas expresadas en kg de agua/kg materia seca.

Para el cálculo de la  $W_e$ , se utilizó una ecuación desarrollada para sistemas gelificados a base de pulpa de manzana (Leiva Días y col., 2009).

$$W_e = C_1 \exp(C_2 a_w^{C_3}) \quad \text{Ec. 1.3}$$

Donde las constantes  $C_1$ ,  $C_2$  y  $C_3$  equivalen a 0.0994, 3.584 y 3.307 respectivamente.

#### **1.4.2.1. Determinación de la funcionalidad del $D_{eff}$ con la temperatura.**

De acuerdo a diversos estudios realizados en el secado de alimentos se observó que el incremento de la temperatura conduce a un aumento del coeficiente de difusión efectivo (Gastón y col., 2002; Mabellini y col., 2010; Perea-Flores y col., 2012). Esta dependencia se describe por lo general empleando una ecuación del tipo Arrhenius con

el propósito de obtener la  $E_a$  a partir de los coeficientes de difusión determinados. Este valor de  $E_a$  podría considerarse como la barrera de energía que debe ser superada para permitir el movimiento difusivo de agua. Altos valores de energía de activación están asociados con materiales en los cuales el agua está asociada fuertemente a la estructura del alimento (Perea-Flores y col., 2012). La ecuación a emplear en este trabajo es la siguiente:

$$\ln D = \ln D_{\infty} - \frac{E_a}{R (T_c + 273,2)} \quad \text{Ec. 1.4}$$

Donde  $T_c$  es la temperatura del aire en °C;  $D_{\infty}$  es el factor pre-exponencial en m<sup>2</sup>/s;  $E_a$  la energía de activación, kJ/mol; y  $R$  la constante universal de los gases 8314 J/mol K.

Hasta el momento solo se han estudiado las propiedades estructurales y funcionales de los geles CPL-miel y geles CPL-hidrocoloides bajo distintas condiciones de pH. Se presenta la oportunidad de utilizar los geles de proteínas de lactosuero con miel e hidrocoloides para dar lugar a un producto deshidratado, innovador, de características similares a las de un snack y por sobre todo, atractivo para el consumidor.

Los objetivos del presente trabajo son:

### **OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar un snack a base de lactosuero, miel e hidrocoloides mediante gelificación y secado con aire caliente.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ❖ Caracterizar el concentrado de proteínas de lactosuero y la miel.
- ❖ Establecer las condiciones óptimas de secado de los geles.
- ❖ Modelado de la cinética de secado en aire caliente por medio de modelos basados en la solución analítica de la segunda Ley de Fick.
- ❖ Analizar la influencia de las diferentes condiciones de obtención de los snack con el agregado de diferentes hidrocoloides sobre la calidad final del producto.
- ❖ Evaluar las propiedades estructurales, funcionales y sensoriales del producto final.
- ❖ Analizar los cambios de textura del producto durante el almacenamiento a condiciones controladas.
- ❖ Incrementar el valor agregado de la miel y el lactosuero



*CAPITULO 2*  
*MATERIALES Y MÉTODOS.*



## **2.1. MATERIALES.**

### **2.1.1. Concentrado de proteínas de lactosuero**

El CPL fue gentilmente donado por Arla Foods Ingredients S.A. (Martínez, Buenos Aires, Argentina) y su composición es la siguiente: 77.71% (p/p) proteínas (N x 6.38), 5.74% (p/p) humedad, 2.77 % (p/p) cenizas, 3.83% (p/p) lípidos y 9.95% (p/p) lactosa (estimada por diferencia).

### **2.1.2. Miel**

La miel se cosechó en el año 2013 en la provincia de Buenos Aires y su composición es la siguiente: 39.3% fructosa, 33.7% glucosa, 2.1% sacarosa, 0.7% cenizas y 15.7% agua. Durante el período del trabajo experimental de tesis, la miel fue conservada en envases de plástico herméticos a -20°C. A partir de esta miel se prepararon soluciones al 50% (p/p), que fueron almacenadas en cámara a 10°C y utilizadas en el desarrollo de las formulaciones.

### **2.1.3. Almidón**

Se utilizó almidón de maíz (Maizena, Unilever, Argentina) que fue adquirido en comercios locales.

### **2.1.4. Pectina de alto metoxilo**

La pectina (GENU pectin type 105, rapid set) con un grado de esterificación del 70% fue adquirida en Gelfix S.A (Buenos Aires, Argentina).

### **2.1.5. Goma guar**

La goma guar fue adquirida en Lodra SRL (Buenos Aires, Argentina). Características fisicoquímicas: viscosidad y pH de una solución al 1% (25°C) es 3600mPaxs y 6.3 respectivamente, humedad 15%, cenizas 1.2%, galactomananos 75% (mínimo).

### **2.1.6. Goma xantica**

La goma xantica fue adquirida en Lodra SRL (Buenos Aires, Argentina). Características fisicoquímicas: viscosidad y pH de una solución al 1% (25°C) es 1500mPaxs y 6.9 respectivamente, humedad 11%, cenizas 13%.

El resto de los reactivos utilizados fueron de grado analítico

## 2.2. MÉTODOS

### 2.2.1. Preparación de muestras

Para la preparación de los snacks se siguió el siguiente esquema:

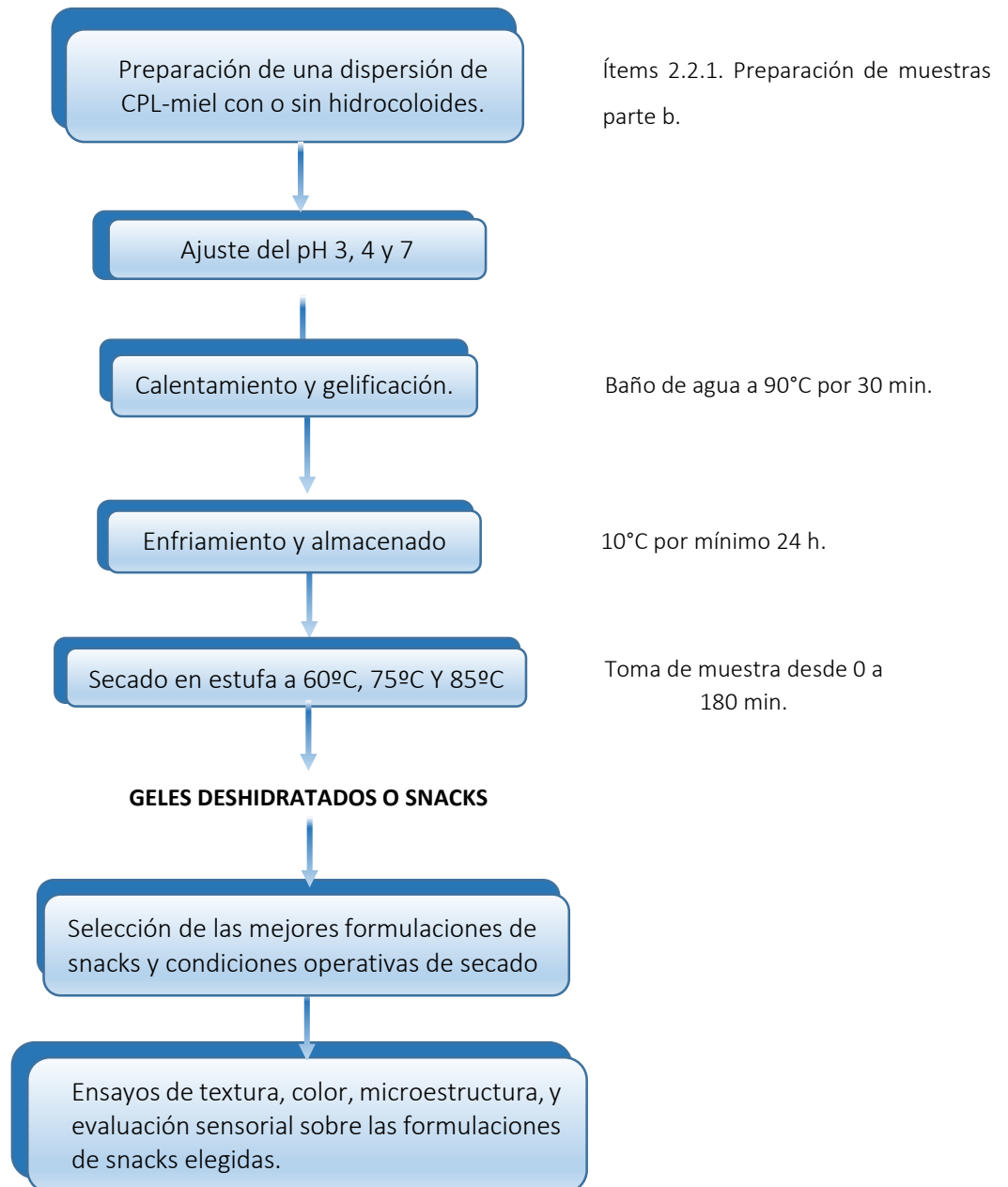
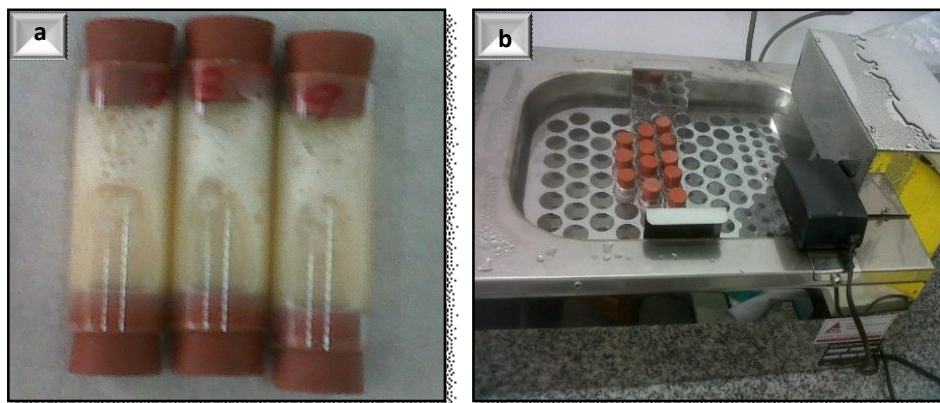


Figura 2.1. Diagrama de flujo de preparación de los snacks.

Para la preparación de las muestras se utilizaron las siguientes formulaciones:

- a) CPL-miel: 15% (p/p) de proteínas del suero con 0, 15 y 30% (p/p) de miel.
  
- b) CPL-miel-hidrocoloides
  - 15% (p/p) de proteínas del suero, miel 15 y 30 % (p/p) y almidón de maíz 5 y 10% (p/p).
  - 15% (p/p) de proteínas del suero, miel 15 y 30% (p/p) y 1 y 2% (p/p) de goma guar.
  - 15% (p/p) de proteínas del suero con, miel 15 y 30% (p/p) y 1 y 2% (p/p) de pectina de alto metoxilo.
  - 15% (p/p) de proteínas del suero con miel 15 y 30% (p/p) y 1 y 2% (p/p) de goma xantica.

Las dispersiones se llevaron a pH de 3, 4, y 7 con soluciones de HCl 1 y 5N o NaOH 1N utilizando un pH-metro Altronix ALPHA PW-40 / PY-41 (Altronix, New York, USA). Estas dispersiones se colocaron dentro de tubos de vidrio (1,6 cm de diámetro interno y 6 cm de altura) cerrados con tapones de goma tanto en su parte superior como inferior (figura 2.2.a). Luego se llevó a cabo la gelificación por calentamiento de los tubos en un baño de agua destilada DALVO (DALVO INSTRUMENTOS - OJALVO S.A, CABA, Argentina) a 90°C durante 30 minutos de acuerdo a la técnica descrita por (Yamul y col., 2013). Durante el calentamiento los tubos no se taparon completamente, esto se hizo con el fin de eliminar gases y no se ejerciera una sobrepresión obligando a que el tapón de la parte inferior del tubo se saliera y con ella la solución proteica. Al cabo de los 30 minutos los tubos con la muestra fueron retirados del baño y enfriados a temperatura ambiente, para luego guardarlos a 10°C durante al menos 24 horas antes de cada análisis. Previo a las determinaciones, los geles se dejaron a temperatura ambiente hasta lograr el equilibrio térmico.



**Figura 2.2.** (a) Tubos de vidrio con tapones de goma; (b) Baño de agua térmico.

### 2.2.2. Cinética de secado

Para realizar la cinética de secado se partió de las siguientes condiciones:

- (a) Temperaturas empleadas: 60°C, 75°C y 85°C.
- (b) Tiempos de secado: 0, 5, 10, 15, 20, 30, 60, 80, 100, 120, 140, 160 y 180 minutos.
- (c) pH de los geles: 3, 4 y 7.

Los ensayos por triplicado de la cinética se iniciaron con la formulación a pH 3, seguidos de pH 4 y por último los de pH 7. Los snacks obtenidos se almacenaron en recipientes herméticos y se dejaron en la cámara de refrigeración a temperatura de 10°C por 24 horas para luego ser analizados.

#### 2.2.2.1. Modelado matemático.

##### 2.2.2.1.1 Balance microscópico de materia con transporte difusivo.

Para este modelado se utilizó la ecuación de difusión descrita anteriormente en capítulo 1, ítem 1.4.2, página 40.

Para ajustar los datos experimentales y determinar los respectivos coeficientes de difusión del agua en los geles a cada temperatura, se utilizó el software estadístico Systat 5.02 (Systat software Inc., Evanston, Illinois, USA).

### 2.2.2.1.2. Determinación de la funcionalidad del $D_{eff}$ con la temperatura. $E_a$

Para la determinación de la energía de activación  $E_a$ , en los geles con 15% de CPL 15% y un contenido de 15 y 30% de miel se utilizó el ecuación del tipo Arrhenius descrita en capítulo 1, ítem 1.4.2.1, página 41.

### 2.2.3. Determinación de humedad

El contenido de humedad se determinó por duplicado, utilizando el método gravimétrico descrito por las AOCS (Ac 2-41, 130°C por 3horas). Para esta experiencia se utilizó una estufa de convección forzada SAN JOR (SAN JOR, San Andrés, Buenos Aires, Argentina) (velocidad de aire, 0.25m/s) y una balanza Ohaus Pionner (Ohaus, Parsippany, New Jersey, USA) para registrar los pesos de las muestras antes y después del secado. La dispersión acuosa gelificada adoptó la geometría del tubo de vidrio, en este caso correspondiente a un “cilindro”. Posteriormente, los geles se cortaron en discos con un espesor aproximado de 5 mm previo al tratamiento de secado.

El contenido de humedad se expresó en kg de agua/kg de materia seca, unidad habitualmente denominada “decimal base seca” o “dec., b.s.” calculándose de la siguiente manera:

$$\%Hbh = \frac{Pi - Pf}{Pi} * 100 \quad \text{Ec. 2.1}$$

$$Hbs = \frac{\% Hbh}{100 - \% Hbh} \quad \text{Ec. 2.2}$$

Donde;

$\% Hbh$ : Porcentaje de humedad en base humedad,

$\% Hbs$ : Porcentaje de humedad en base seca

$Pi$ : Peso inicial de la muestra, g.

$Pf$ : Peso final de la muestra, g.

### 2.2.4. Determinación de actividad de agua ( $a_w$ )

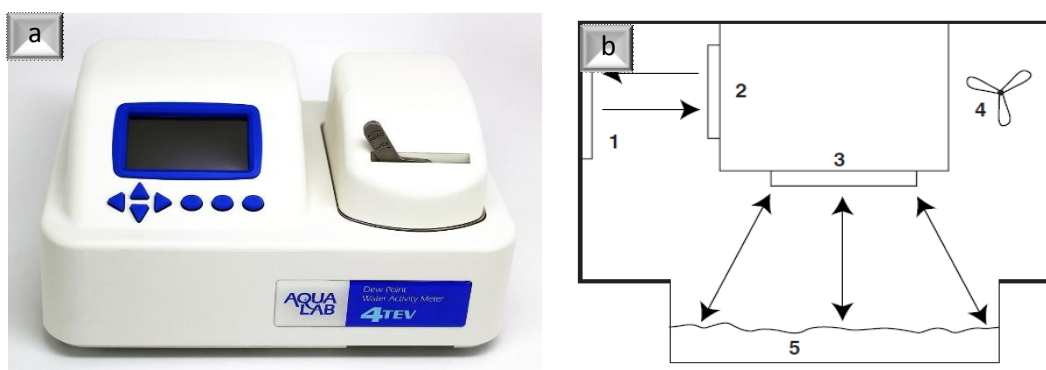
La actividad acuosa es una propiedad termodinámica definida como el cociente entre la presión de vapor del agua en una solución o alimento ( $p_v$ ) que depende del contenido de humedad y de la temperatura (Moreira y col., 2009) y la presión de saturación de vapor del agua pura a la misma temperatura ( $p_s$ ) (Rahman, 2009). Esta propiedad puede determinarse a partir de una atmósfera de aire en equilibrio que rodee la muestra en una pequeña cámara:

$$a_w = \frac{p_v}{p_s} = \frac{HRE (\%)}{100} \quad \text{Ec. 2.3}$$

Donde  $HRE$  es la humedad relativa de equilibrio (%) del aire.

Los snacks se almacenaron en recipientes herméticos y se dejaron a temperatura ambiente por un tiempo conveniente a fin de alcanzar una distribución homogénea del agua en el interior de los geles.

Para medir la  $a_w$  se utilizó un equipo AQUALAB serie 4TEV (Decagon Devices Inc., Washington, USA) (figura 2.3) a una temperatura de 25°C. Las muestras fueron trituradas con anterioridad para mejorar la determinación.



**Figura 2.3.** (a) Equipo AQUALAB Serie 4TEV empleado para las determinaciones de  $a_w$ , (b) modelo del funcionamiento interno del AQUALAB (1-espejo, 2-sensor óptico, 3-termómetro infrarrojo, 4-micro ventilador, 5-porta muestra cargado).

El equipo AQUALAB serie 4TEV emplea el método de determinación de punto de rocío. La muestra se equilibra con el aire presente en el espacio de cabeza de una cámara sellada que contiene un espejo, un sensor óptico, un ventilador y un termómetro infrarrojo (figura 2.3 b). El ventilador interno genera una circulación de aire que reduce el tiempo de equilibrio entre la muestra y el espacio de cabeza. El equilibrio se logra sin pérdida ni ganancia considerable de humedad para la muestra en virtud de que ésta es mucho mayor a la del aire y, sobre todo, que la del vapor contenido en él (Quintero y col., 2014).

En el equilibrio, la humedad relativa del aire en la cámara es la misma que la actividad acuosa de la muestra. Una celda termoeléctrica por efecto Peltier controla la temperatura del espejo. Un diodo emisor de luz ilumina directamente al espejo, siendo esta luz reflejada hacia el sensor óptico, que registra un cambio en la reflectividad cuando se produce condensación sobre el espejo. Al cabo de una sucesión de condensaciones y evaporaciones, un sensor de temperatura embutido en el espejo mide la temperatura de rocío. Adicionalmente un termómetro infrarrojo sin contacto mide la temperatura de la superficie de la muestra, que está en equilibrio con la temperatura de bulbo seco del aire del espacio de cabeza. Las dos temperaturas mencionadas se utilizan para calcular la humedad relativa del aire, que en equilibrio con la muestra se visualiza como actividad acuosa de ésta (Quintero y col., 2014). El rango de medición de  $a_w$  se encuentra entre 0.03 y 1, con una resolución de  $\pm 0.001$ . La medición normalmente se logra en 5 minutos. El equipo exhibe los datos de actividad acuosa y temperatura de equilibrio en un visor digital.

#### **2.2.5. Determinación del color de los snacks**

Se utilizó un colorímetro Chromameter CR 300 Konica-Minolta (Konica-Minolta, Osaka, Japón) que realiza la evaluación del color basándose en todo el espectro visible, permitiendo obtener el perfil cromático real del producto. Se determinaron los parámetros de Hunter  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  (Commission International de l'Eclairage).

El color se describe a través de la luminosidad  $L^*$  y la cromaticidad por los parámetros  $a^*$  y  $b^*$ . El parámetro  $L^*$  varía desde 100 para un blanco perfecto y 0 para el

negro. El parámetro  $a^*$  representa el color rojo cuando es positivo, y verde cuando es negativo y  $b^*$  representa el color amarillo cuando es positivo, y azul cuando es negativo. Las determinaciones se realizaron por quintuplicado.

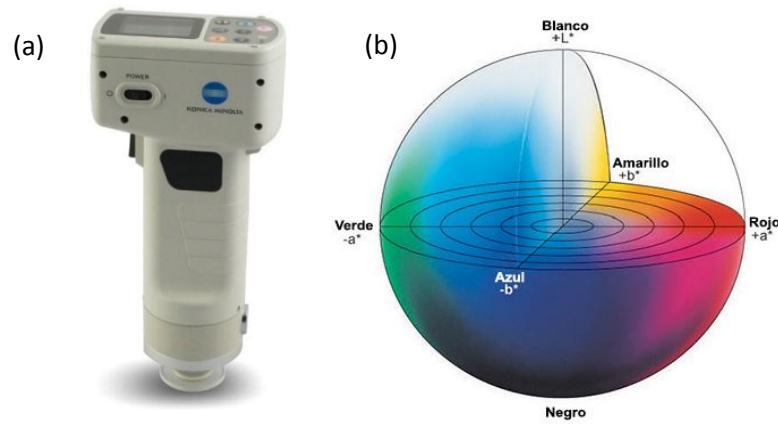


Figura 2.4. (a) Colorímetro; (b) Carta de color.

### 2.2.6. Estudio de la textura.

Se almacenaron muestras de snacks en envases herméticos por un periodo de 2 meses a temperatura ambiente y se realizó el análisis de textura a los días 0, 3, 7, 15, 30, 45 y 60.

Se utilizaron discos de diámetro entre 1,2 y 1,4 cm y espesor de entre 0.45 y 0,5 cm que se fracturaron con el ensayo de tres puntos. El mismo se llevó a cabo en un texturómetro TA.XT2i (Stable Micro Systems Ltd, Godalming, Surrey, Reino Unido) tal como se observa en la figura 2.5. Se utilizó un soporte que consta de dos placas metálicas paralelas, que se ajustaron a una distancia fija ( $L$ ) de 0,7 cm. La sonda utilizada posee una sección rectangular que desciende de modo de penetrar entre las dos placas paralelas del soporte. Los snacks se colocaron sobre el soporte de manera paralela a la sonda con el fin de que atraviese la mitad de este. La fractura del material comienza cuando al descender la sonda a velocidad constante ejerce una fuerza y genera un estrés local en el material.





Figura 2.5. Texturómetro TA.XT2i

Las condiciones utilizadas en el ensayo fueron:

- Medida de fuerza en compresión.
- Velocidad de pre-ensayo: 5mm/s.
- Velocidad de ensayo: 1mm/s.
- Velocidad de pos-ensayo: 5mm/s.
- Distancia: 3mm

Se determinó la fuerza ( $F$ ) necesaria para la ruptura de los snacks, y la deformación ( $Y$ ) o distancia recorrida por la sonda antes de romperlo (Baltsavias y col., 1997). Se midió el ancho ( $d$ ) y el espesor ( $b$ ) de los snacks utilizando un calibre Vernier. Con estos valores se calculó el estrés o esfuerzo de compresión ( $\sigma$ , Ecuación 2.4) y la tensión de deformación ( $\epsilon$ , Ecuación 2.5). También se determinó la tangente de la porción lineal del gráfico fuerza vs deformación, y se calculó el módulo de elasticidad en flexión o módulo de Young ( $E$ , Ecuación 2.6) (Piazza y Masi, 1997).

- Estrés de fractura o compresión (KN/m<sup>2</sup>),

$$\sigma = \frac{3FL}{2db^2} \quad \text{Ec. 2.4}$$

- Tensión de deformación o de fractura,

$$\varepsilon = \frac{6bY}{L^2} \quad \text{Ec. 2.5}$$

- Módulo de elasticidad en flexión (módulo de Young) (KN/m<sup>2</sup>),

$$E = \frac{L^3 s}{4db^3} \quad \text{Ec. 2.6}$$

Dónde:  $F$ ,  $s$ ,  $Y$ , se extraen de la curva  $F$  vs. tiempo a partir de la figura 2.6

$F$  es la fuerza máxima (N), relacionada con la dureza del producto.

$L$  es la distancia entre soportes (0.7 cm).

$Y$  es la deformación (mm).

$s$ : tangente de la porción lineal (N/cm).

$d$  y  $b$ : ancho y espesor de las galletitas, respectivamente (cm).

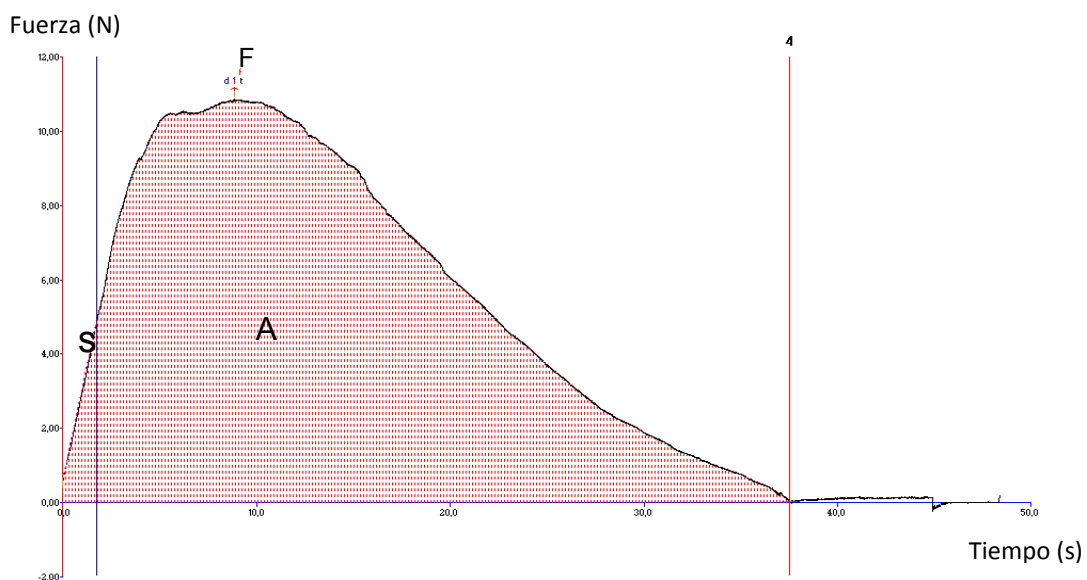


Figura 2.6. Ejemplo de gráfico y de los parámetros obtenidos durante el ensayo de tres puntos.

Para aplicar las ecuaciones anteriores, se asume que el material es homogéneo e isotrópico y tiene el mismo módulo de elasticidad en tensión y compresión (Baltasvias y col., 1997), que la celda de medida es recta y de sección uniforme, y que todas las deformaciones o presiones son perpendiculares al eje de la celda.

## 2.2.7. Microestructura de los snacks

### 2.2.7.1. Microscopía óptica

El microscopio óptico nos permite visualizar y estudiar aquellas estructuras cuyo tamaño se sitúa por debajo del nivel de resolución del ojo humano (figura 2.7), es decir por debajo de las 250  $\mu\text{m}$ . Se basa en la transmisión de luz visible y no visible (desde la ultravioleta a las radiaciones infrarrojas) a través de un sistema óptico de lentes y/o prismas y/o espejos. Entre los microscopios ópticos, el microscopio compuesto es el más utilizado ya que el denominado microscopio simple no es más que una lupa, formada por un soporte y una lente biconvexa, que produce pocos aumentos y escaso poder de resolución. Frente a ella, el microscopio compuesto permite aumentos del orden de 1.500 a 2.000 aumentos y tiene un poder de resolución de 0.2 $\mu\text{m}$ . (de Juan, 2011).



**Figura 2.7.** Microscopio óptico.

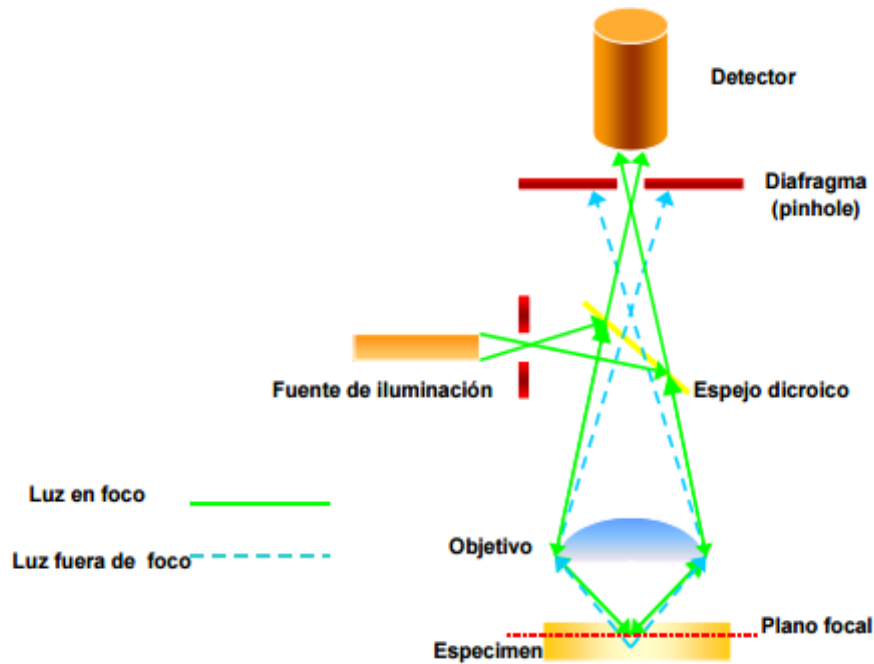
Las muestras fueron preparadas de la siguiente manera: luego de obtener los geles (y antes de su secado) con una pequeña porción de estos se realizó un extendido sobre un portaobjetos con la ayuda de una espátula, luego se secaron en estufa en las condiciones de secado definidas (85°C durante 100 min.). Una vez enfriados se cubrieron con un cubreobjetos y se observaron al microscopio óptico LEICA DM 2500 (Leica Microsystems, Baden- Württemberg, Alemania) a 10X. Se realizaron duplicados de las muestras para las observaciones.

#### **2.2.7.2 Microscopía láser confocal de barrido**

La microscopía láser confocal es una técnica que logra excelentes resultados en diversas ramas de la ciencia (medicina, biología, materiales, geología, etc.) Ofreciendo indudables ventajas frente a la microscopía óptica tradicional (imágenes de mayor nitidez y contraste, mayor resolución vertical y horizontal, etc.) y sobre todo, a la posibilidad de obtener "secciones ópticas" de la muestra, lo que permite su estudio tridimensional.

La preparación de la muestra no requiere mucho tiempo y cambia la estructura original de la muestra sólo mínimamente. De esta manera las estructuras que intervienen en los procesos cinéticos de materiales alimenticios expuestos a situaciones de estrés externos pueden ser visualizadas (Martínez, 2013).

El principio de la CSLM se basa en eliminar la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera de foco. Para ello se ilumina una pequeña zona de la muestra y se toma el haz luminoso que proviene del plano focal, eliminándose los haces procedentes de los planos inferiores y superiores (Boyde, 1988).



**Figura 2.8.** Esquema del fundamento de la microscopía confocal. La luz procedente de los puntos fuera del plano focal es eliminada por el diafragma o pinhole. (Fuente: Martínez, Servicio de Procesamiento de imágenes, Universidad de Oviedo, España).

Parte de la luz procedente de la fuente de iluminación atraviesa un primer diafragma, es reflejada mediante un espejo dicróico y se enfoca en un punto del espécimen mediante la lente de un objetivo. La señal emitida por el punto iluminado (fluorescencia o luz reflejada) vuelve por el mismo camino óptico, pasa a través del espejo dicróico y es enfocada en un detector, un segundo diafragma o pinhole es colocado delante del detector para eliminar las señales procedentes de la zona fuera de foco (figura 2.8).

El principio del funcionamiento del Microscopio Confocal se basa en la existencia de dos diafragmas (pinhole), uno entre la fuente de luz y el objetivo y el otro entre el objetivo y el detector. Ambos pinhole deben de estar perfectamente alineados de forma que el segundo de ellos únicamente deje llegar al detector la luz procedente del plano focal. La utilización de un láser como fuente de luz permite focalizar la iluminación en una región muy pequeña de la muestra y con una gran intensidad (Martínez, 2013).

Se empleó un microscopio confocal de barrido láser LEICA TCS SP5 (Leica Microsystems, Baden-Württemberg, Alemania). Se utilizó el láser de luz visible He/Ne a una potencia del 30%. Se utilizó el siguiente lente objetivo Leica: 63 × 1,4 de apertura numérica con un zoom de 1,7. Se utilizó una mezcla de rodamina B (0,001%) e isotiocianato de fluoresceína (0,01%) en agua destilada para el marcado no covalente. El FITC marca preferentemente al almidón y la Rodamina B se une preferentemente proteínas, pero la rodamina B también puede unirse al almidón (en menor grado), y también puede el FITC marcar proteínas (Silva y col., 2013). Los colorantes se añaden a las dispersiones acuosas (antes de la gelificación de la muestra) a fin de garantizar un acceso completo a toda la estructura de la muestra. Después de la gelificación, una muestra de gel se extendió sobre un portaobjetos se secó (85°C durante 100 min.), se dejó enfriar a temperatura ambiente y se cubrió con un cubreobjetos. Las muestras se mantuvieron en la oscuridad hasta el momento de la observación. Las longitudes de onda de excitación fueron 488 nm (FITC) y 568 nm (rodamina B), y las longitudes de onda de emisión fueron 518 nm (FITC) y 625 nm (rodamina B). Los archivos de las imágenes digitales fueron adquiridos en 1.024 × 1.024 píxeles de resolución y se analizaron con el software LAS AF LITE (Leica Microsystems, Baden-Württemberg, Alemania). Las imágenes reportadas fueron registradas a una profundidad de penetración de 15 micras.

### **2.2.8. Evaluación sensorial**

La medida de las características sensoriales de los productos alimenticios se realiza mediante un conjunto de técnicas, que son combinación de medidas procedimentales con tratamientos estadísticos de distinta complejidad, encaminadas a objetivar algo tan subjetivo como son las impresiones que provocan en nuestros sentidos los alimentos que consumimos. Los componentes de un olor, de un sabor, son tan complejos que se debe recurrir al concurso de personas entrenadas y calificadas para identificar descomponer o valorar las variedades de sabores y aromas que se presentan. Este tipo de apreciación permite adquirir información indispensable para evaluar la calidad de un producto.

El interés por la valoración sensorial de los alimentos ha experimentado un crecimiento notorio en las últimas décadas con la toma de conciencia por parte del sector alimentario, de que las características sensoriales son las que determinan, en último término, la aceptabilidad de un alimento por los consumidores (Arrabal y Ciappini, 2000).

Para la evaluación se seleccionaron las siguientes muestras:

- Snacks con 15% (p/p) de proteínas del suero, 30 (%p/p) de miel y 5% de almidón llevado a pH3.
- Snacks con 15% (p/p) de proteínas del suero, 30 (%p/p) de miel y 5% de almidón llevado a pH7.
- Snacks con 15% (p/p) de proteínas del suero con 30 (%p/p) de miel y 1% de Goma guar llevado a pH3.
- Snacks con 15% (p/p) de proteínas del suero con 30 (%p/p) de miel y 1% de goma guar llevado a pH7.

Se realizó un ensayo sensorial sobre un grupo de 34 panelistas no entrenados de ambos sexos, seleccionados al azar, con el objetivo de evaluar las opiniones y/o la aceptación del producto. Para esta prueba sensorial se valoraron condiciones de presentación general, como color, sabor, textura y aceptabilidad general, utilizando una escala hedónica de nueve puntos, para determinar el grado de aceptación o rechazo; siendo el valor más alto (9) de aceptación **me gusta mucho** y el menor valor (0) de rechazo **me disgusta mucho**. La Figura 2.9 representa un esquema de la presentación de la muestra junto a la planilla correspondiente entregada a cada evaluador. En el anexo número 1 se muestra la planilla empleada.

Cada muestra a degustar consistió en dos snacks por formulación, la que se presentó en recipientes descartables transparentes, de poca profundidad, codificadas con números de tres dígitos elegidos al azar. Las muestras se acompañaron con agua fresca, y se sirvieron a temperatura ambiente (20°C). Se recomendó a los panelistas beber agua entre muestras a efectos de eliminar cualquier tipo de sabor residual.

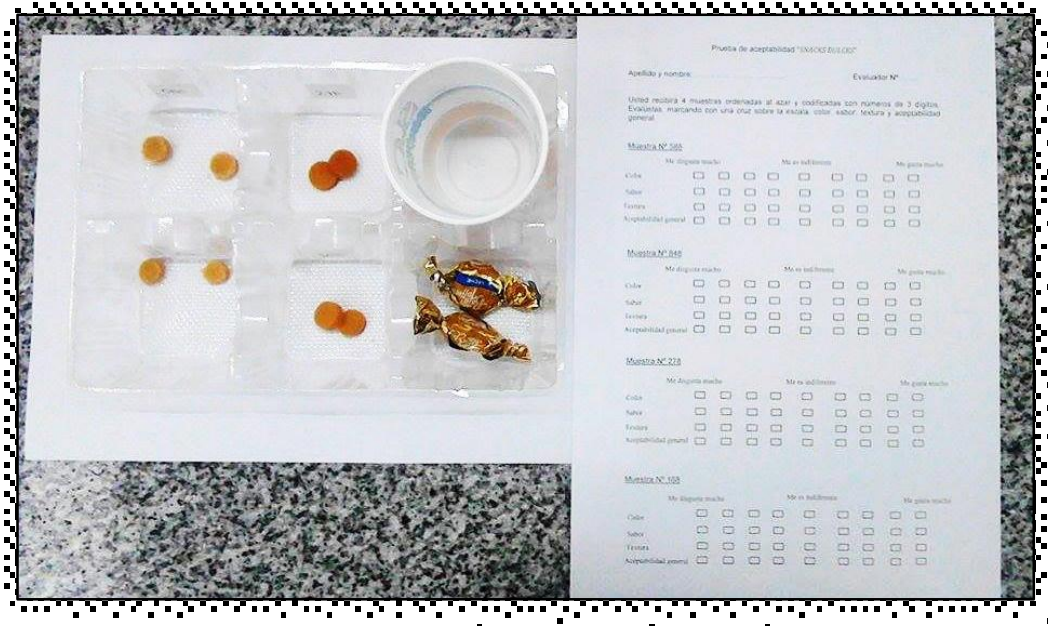


Figura 2.9. Presentación de las muestras y las planillas para la evaluación sensorial.

### 2.2.9. Análisis estadístico de los datos

Para el análisis estadístico de la información recolectada se utilizó el software InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina) versión 2008. Se realizó un ANAVA y se calculó las diferencias mínimas significativas para comparar las medias a un nivel de significación ( $\alpha$ ) del 95% usando el test de Fisher.

Los factores se analizaron comparando variabilidad entre composición y pH de los snacks.





***CAPITULO 3***  
***RESULTADOS Y DISCUSIÓN***

### 3.1. Determinación de humedad de los geles

En la tabla 3.1 se muestra los resultados de la humedad de los geles con 15% de proteína y 0%, 15% y 30% de miel a pH 3, 4 y 7.

**Tabla 3.1.** Valores de humedad de los geles CPL y miel a diferentes formulaciones y distintos pH

% de miel	Humedad ( <i>g de agua/g de materia seca</i> )		
	pH 3	pH 4	pH 7
0	5,07 <sup>a,A</sup>	4,45 <sup>b,A</sup>	4,52 <sup>c,A</sup>
15	2,82 <sup>a,B</sup>	2,28 <sup>b,B</sup>	2,42 <sup>c,B</sup>
30	2,07 <sup>a,C</sup>	1,38 <sup>b,C</sup>	1,51 <sup>c,C</sup>

<sup>a,b,c</sup> Medidas con diferentes superíndices dentro de un misma fila difieren significativamente (test de Fisher con un nivel de significancia de  $\alpha \leq 0,05$ ).

<sup>A,B,C</sup> Medidas con diferentes superíndices dentro de un misma columna difieren significativamente (test de Fisher con un nivel de significancia de  $\alpha \leq 0,05$ ).

Los geles con 0% de miel a los diferentes pHs presentaron un valor de humedad mucho mayor que aquellos con 15 y 30% de miel, lo que se explicaría teniendo en cuenta que los geles sin miel contenían en su formulación una mayor cantidad de agua.

Se encontraron diferencias significativas en los valores de humedad en las muestras con el mismo contenido de miel pero a diferentes pHs, observándose que a pH 4 presentaron el menor contenido de humedad. Esto se puede explicar teniendo en cuenta que el *pI* de las proteínas del lactosuero se encuentra alrededor de este valor. Una proteína usualmente tiene la menor solubilidad en el *pI*, es decir, presentan un aumento en las interacciones proteína-proteína porque las fuerzas electrostáticas de las moléculas son menores presentándose poca interacción entre el agua y las moléculas de proteína. Pelegri y Gaparetto, (2005) estudiaron el efecto del pH sobre la solubilidad de las proteínas del suero y encontraron que los valores de solubilidad eran mínimos a pH 4,5, que es el punto isoeléctrico de las proteínas del lactosuero. Otros estudios (Yamul, 2008; Lupano, 2000; Mulvihill y Donovan, 1987) encontraron resultados similares.

Las diferencias encontradas en los valores de la humedad de los geles a pH 3 comparados con los geles a pH 7 podrían ser explicadas por las siguientes hipótesis: la baja reactividad a pH ácido impide las reacciones de intercambio de disulfuro - sulfhidrilo, lo que resulta geles con baja elasticidad y alta solubilidad de la proteína. Por el contrario, a valores de pH neutros, las reacciones de intercambio de disulfuro - sulfhidrilo se ven favorecidas lo que lleva a la formación de geles más elásticos con una menor solubilidad proteica. (Shimada y Cheftel, 1988).

### **3.2. Determinación de la actividad de agua de los geles**

La actividad de agua es de gran importancia para la calidad y el almacenamiento de los alimentos (Pentoś y col., 2014). Es un factor importante en la prevención o limitación del crecimiento microbiano. La influencia de la actividad de agua en los microorganismos vegetativos y esporas es un tema complejo y por esta razón ha sido ampliamente estudiado (Chirife y col., 2006). Con el secado de los geles se logró que los productos desarrollados alcanzaran un valor de  $a_w$  de alrededor de 0,7. Este valor límite define el nivel por debajo del cual un microorganismo ya no puede reproducirse.

En la tabla 3.2 se presentan los resultados de la actividad de agua de las diferentes formulaciones de geles antes y después de ser secados a 130°C durante 3 horas.

Tabla 3.2. Valores de la  $a_w$  de los geles antes y después de ser secados.

% de miel	pH 3		pH 4		pH 7	
	$a_{w1}$	$a_{w2}$	$a_{w1}$	$a_{w2}$	$a_{w1}$	$a_{w2}$
0	0,988 <sup>a,A</sup>	0,402 <sup>a,A</sup>	0,995 <sup>a,A</sup>	0,5165 <sup>b,A</sup>	0,999 <sup>a,A</sup>	0,503 <sup>b,A</sup>
15	0,981 <sup>a,AB</sup>	0,447 <sup>a,A</sup>	0,985 <sup>a,A</sup>	0,443 <sup>a,B</sup>	0,985 <sup>a,B</sup>	0,503 <sup>b,A</sup>
30	0,959 <sup>a,B</sup>	0,514 <sup>a,B</sup>	0,958 <sup>a,B</sup>	0,5485 <sup>a,C</sup>	0,958 <sup>a,C</sup>	0,536 <sup>a,B</sup>

$a_{w1}$ : Actividad de agua determinada antes de secar los geles.

$a_{w2}$ : Actividad de agua de los geles secos.

<sup>a,b,c</sup> Medidas con diferentes superíndices dentro de un misma fila difieren significativamente (test de Fisher con un nivel de significancia de  $\alpha \leq 0,05$ ).

<sup>A,B,C</sup> Medidas con diferentes superíndices dentro de un misma columna difieren significativamente (test de Fisher con un nivel de significancia de  $\alpha \leq 0,05$ ).

Analizando los resultados anteriores con respecto a la actividad de agua medida antes del secado de los geles ( $a_{w1}$ ), se puede decir que estadísticamente no se encontraron diferencias significativas cuando se comparó cada formulación de gel CPL-miel a los diferentes pHs. Tampoco hubo diferencias estadísticas significativas en los valores de la  $a_{w1}$  al comparar las diferentes formulaciones a un mismo pH y distintas concentraciones de miel. Al parecer el pH y el contenido de miel no influyeron sobre la actividad de agua de los geles antes de ser secados. Por el contrario, los resultados de la actividad de agua de los geles después de secados ( $a_{w2}$ ) indican que a medida que aumenta el pH en las tres formulaciones la  $a_{w2}$  fue mayor. Aparentemente el aumento del pH favorece la retención de agua. Este comportamiento podría deberse al tipo de estructura de red que se forma en los geles según el pH. Probablemente como la estructura de los geles a pHs ácidos es más débil debido a que es estabilizada por enlaces no covalentes (Morr y Ha, 1993) la retención de agua durante el secado es más difícil en comparación con las estructuras formadas a pH neutro o alcalino. A pH 4 las interacciones proteína - proteína son mayores porque está cerca al  $pI$ . La estructura formada en estos geles es más compacta por este tipo de interacción, haciendo que la poca agua atrapada en esta red no logre ser evaporada fácilmente. El mismo efecto se observa a pH 7 donde las reacciones de intercambio disulfuro - sulfhidrilo producen geles más estables

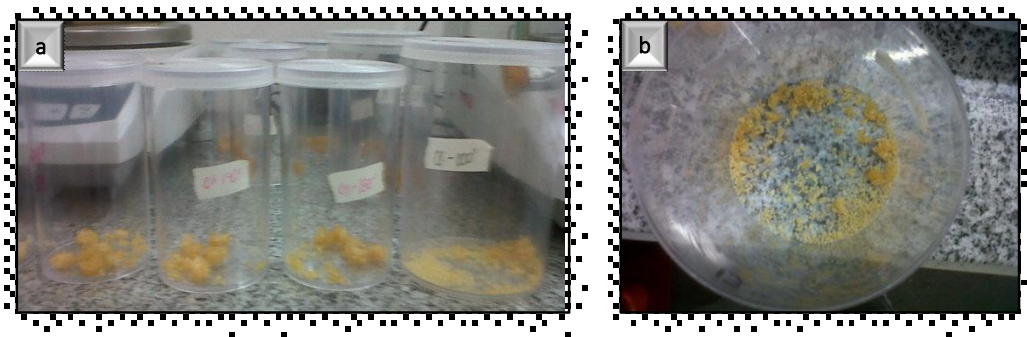
y elásticos formando una estructura organizada y cerrada, que al igual que a pH 4 no deja salir fácilmente el agua de la red para ser evaporada.

Con respecto a la influencia del porcentaje de miel sobre la  $a_{w2}$  a un mismo pH se encontró que existen diferencias significativas entre las muestras a 0%, 15% y 30% de miel, siendo más notorio este efecto en los geles con mayor contenido de miel. Esto es probablemente debido a la capacidad de la miel de formar enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua (Lupano, 2000 a,b; Lupano y González, 1999) lo que haría más difícil la evaporación de estas durante el secado. Conforti y Strait (1999) investigaron el efecto de la miel líquida como sustituto del azúcar en la elaboración de un panecillo bajo en grasa, encontrándose que la adición de miel tenía influencia en el aumento del contenido de la humedad y en la disminución de la actividad de agua de los panecillos horneados.

### 3.3. Secado de los geles CPL.

#### 3.3.1. Sin agregado de hidrocoloides.

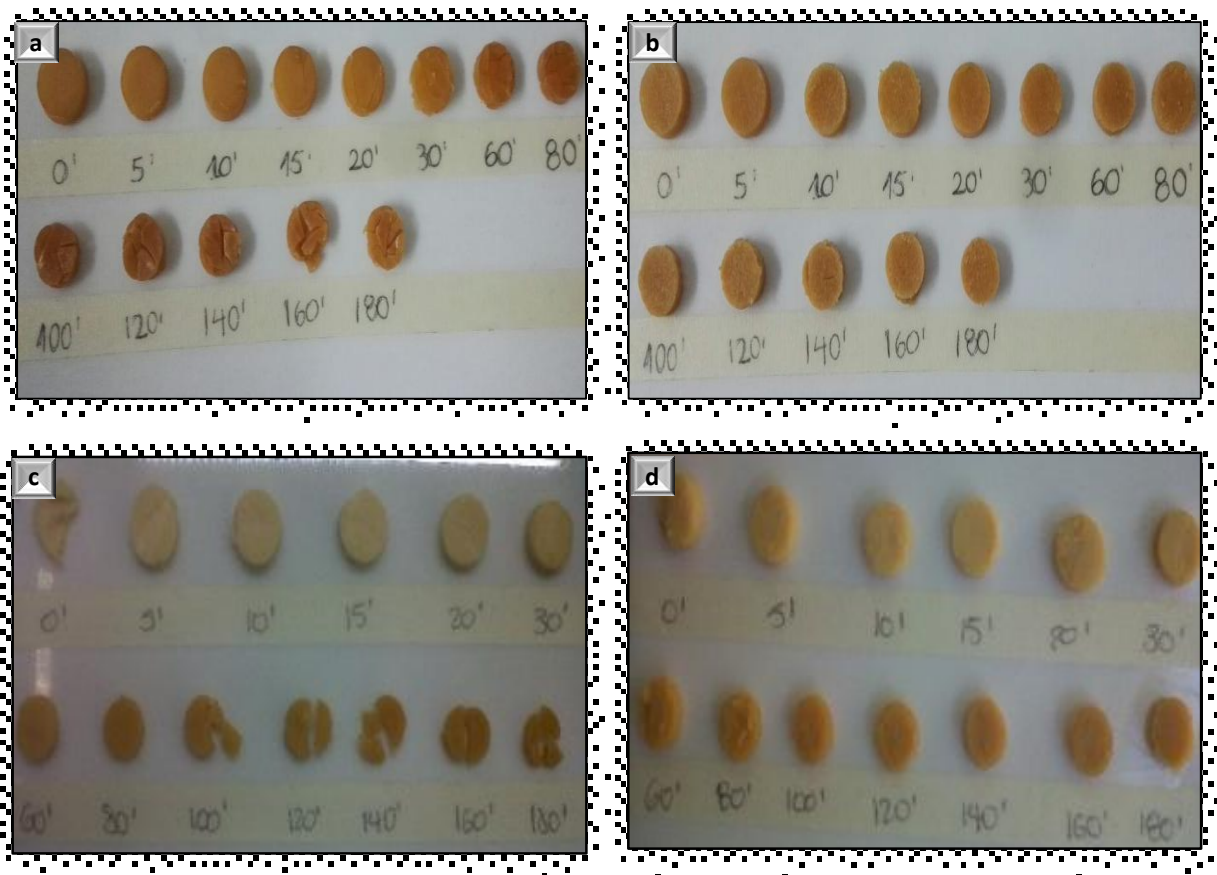
Para el secado de los geles CPL y miel se descartó la formulación con 15% proteína y 0% de miel a los tres pHs, debido a que estos presentaron fracturas en todos los tiempos y temperaturas de secado (figura 3.1). Lo que inhabilita seguir trabajando con esta formulación para los siguientes ensayos experimentales planteados en el plan de trabajo.



**Figura 3.1.** (a); (b). Geles quebrados. Resultado del secado a 60°C de los geles formulados con 15% (p/p) de proteínas y 0% (p/p) de miel.

### 3.3.1.1 Secado a 60°C

En la figura 3.2 se muestran los resultados de la cinética de secado de geles con 15% y 30% de miel a diferentes tiempos a una temperatura de secado de 60°C. A pH 3, los snacks con un contenido de 15% de miel mostraron fracturas en su estructura a partir del minuto 5, mientras que los que contenían 30% de miel se quebraron a partir del minuto 30. Para los snacks a pH 4 vemos que los que contienen 15% de miel se comenzaron a quebrar del minuto 80 en adelante y los formulados con un 30% de miel no presentaron agrietamiento durante la cinética. Sin embargo, en los snacks a pH 7 con un 30% de miel, se observó exudación (snacks brillantes y húmedos) a partir del minuto 80.

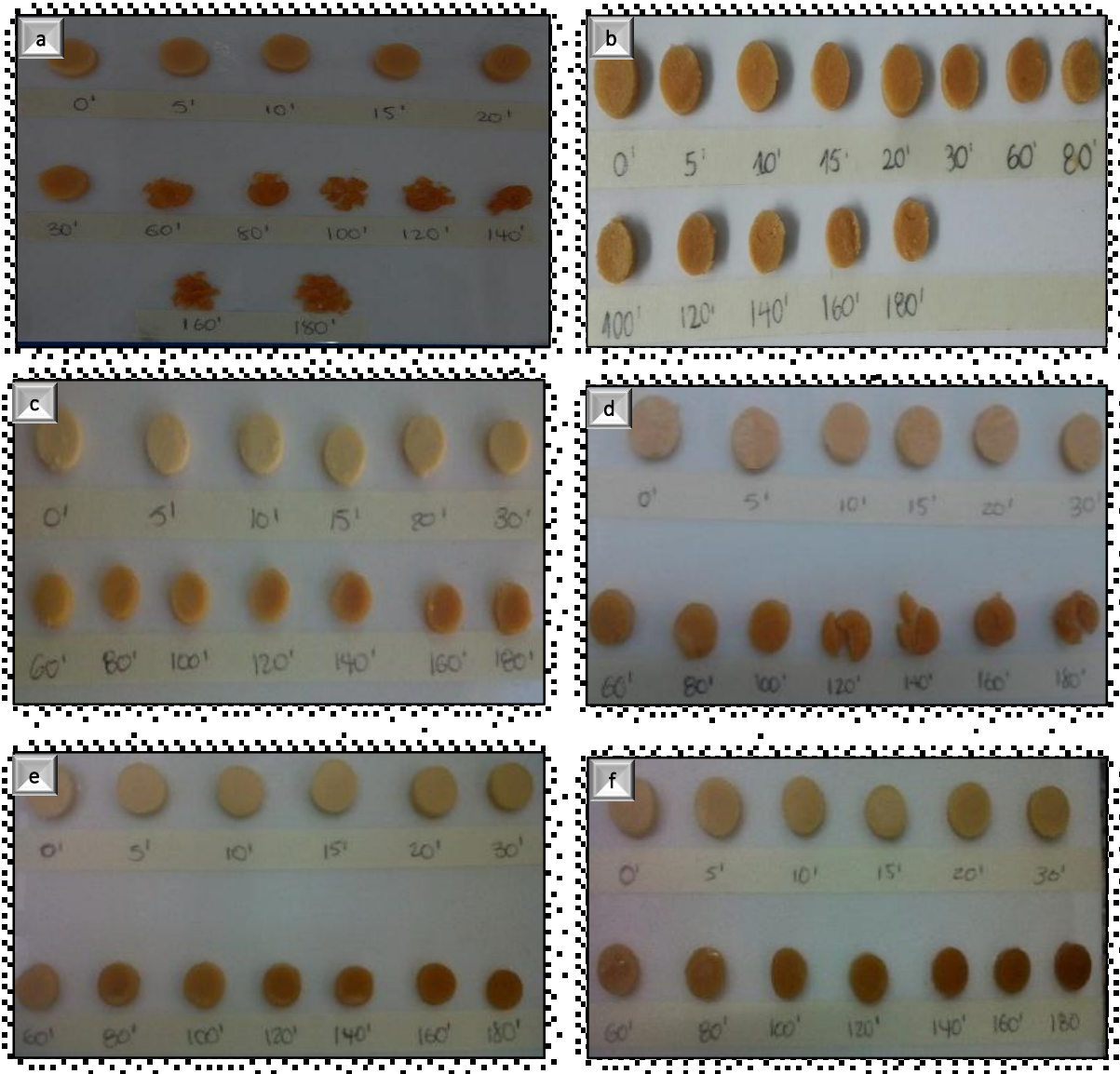




**Figura 3.2.** Cinética de secado a 60°C. Las figuras (a), (c) y (e) corresponden a snacks con 15% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7 respectivamente; y las figuras (b), (d) y (f) a snacks con 30% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7.

### 3.3.1.2 Secado a 75°C

En la figura 3.3 se muestran los resultados de la cinética de secado de geles con 15% y 30% de miel a diferentes tiempos a una temperatura de secado de 75°C. Durante el secado a diferentes tiempos se observó que los snacks con 15% y 30% de miel a pH 3 presentaron fracturas durante la cinética. A partir del minuto 30 para 15% de miel mientras que los snacks con 30% de miel a medida que aumentaba el tiempo de secado a 75°C estos fueron quebrándose. Para los snacks a pH 4 con un contenido de miel de un 15% no se observaron fracturas durante la cinética, en cambio los que contenían un 30% de miel a partir del minuto 120 se mostraron quebrados. A pH 7 no se presentaron agrietamientos en ninguno de las dos formulaciones de snacks. Sin embargo para los snacks con un 30% de miel a partir de los 80 minutos presentaron exudación.



**Figura 3.3.** Cinética de secado a 75°C. Las figuras (a), (c) y (e) corresponden a snacks con 15% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7 respectivamente; y las figuras (b), (d) y (f) a snacks con 30% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7.

### 3.3.1.3 Secado a 85°C

En la figura 3.4 se muestran los resultados de la cinética de secado de geles con 15% y 30% de miel a diferentes tiempos a una temperatura de secado de 85°C. En los snacks con 15% y 30% de miel a pH 3 se observa agrietamiento y pérdida de su forma a partir del minuto 10. Por el contrario, los snacks a pH 4 y 15% de miel no presentaron grietas ni fracturas



durante todo el tiempo de secado, mientras que los que contienen 30% de miel se deformaron a partir del minuto 60 en adelante. Al igual que a las temperaturas anteriores (60°C y 75°C) los snacks a pH 7 mantuvieron su forma cilíndrica intacta sin agrietamiento ni deformación; pero, a 30% de miel y entre el minuto 15 y 100 presentaron exudación.

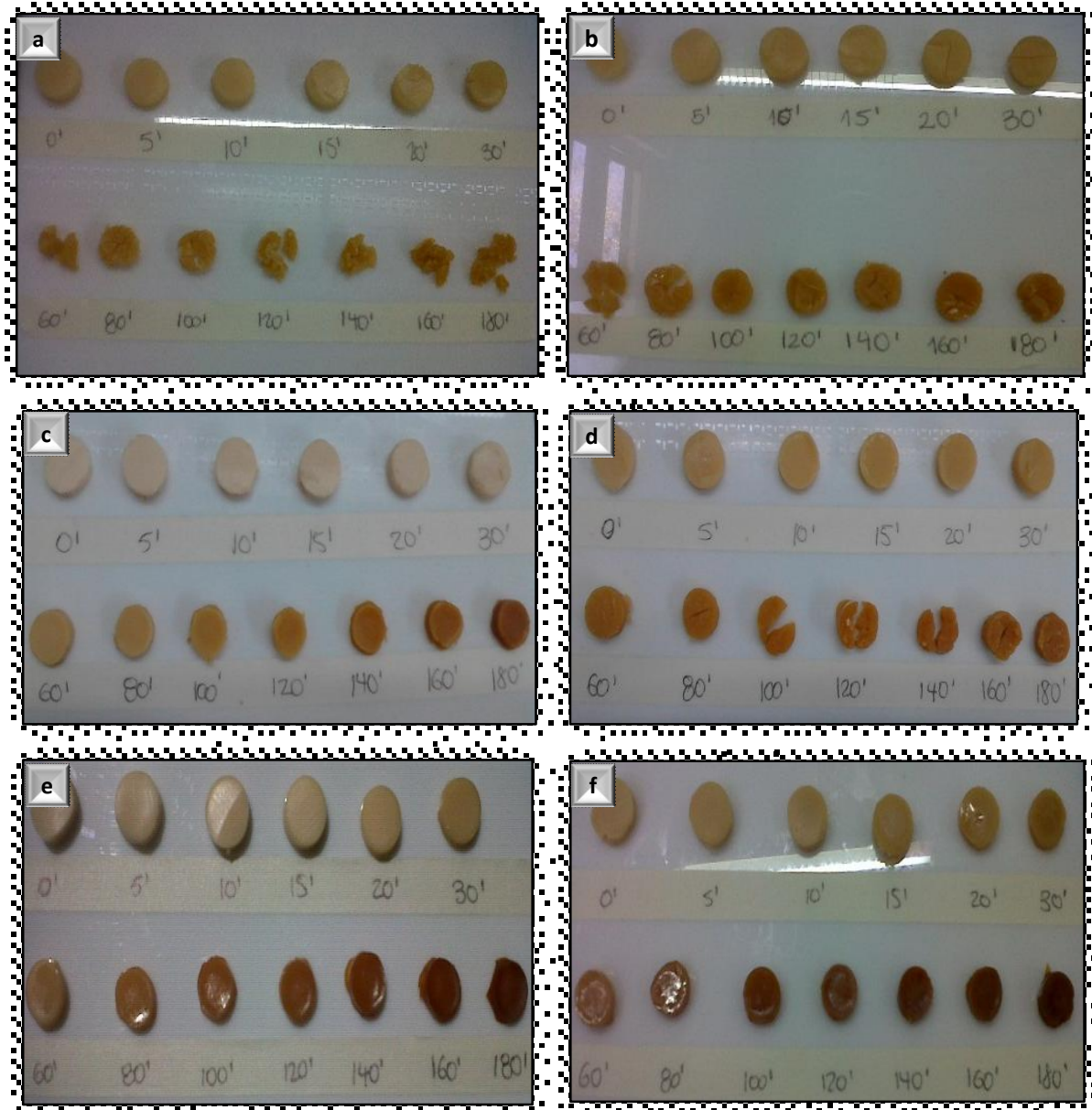


Figura 3.4. Cinética de secado a 85°C. Las figuras (a), (c) y (e) corresponden a snacks con 15% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7 respectivamente; y las figuras (b), (d) y (f) a snacks con 30% (p/p) de miel a pH 3, 4 y 7.

De los resultados observados en el secado de los snacks se puede decir que los de pH 3 se fracturaron en casi todo los tiempos y temperaturas de secado en comparación con los de pH 4 y 7, siendo estos últimos los que permanecieron enteros durante el secado bajo las distintas condiciones estudiadas. Esto puede deberse al efecto que tienen el pH en la gelificación de las proteínas. Según Hudson y col. (2000), Los geles formados por encima del  $pI$  son fuertes y elásticos, mientras que los formados por debajo del  $pI$  tienen una estructura débil y quebradiza.

Los geles de CPL son capaces de inmovilizar grandes cantidades de agua y otros ingredientes. El ajuste de condiciones físicas como la fuerza iónica, pH, y las condiciones de gelificación térmica determinan la formación de la red estructural, la retención de agua, y las propiedades reológicas de estos (Hudson y col., 2000).

Los geles ácidos se estabilizan por enlaces no covalentes, principalmente por puentes de hidrogeno (Morr y Ha, 1993) haciendo que la estructura de la red tridimensional que se forme durante la gelificación retengan mucho más el agua (Hudson y col., 2000); es decir, estas condiciones de pH dan como resultado unos geles más solubles que los geles preparados a un pH cercano al  $pI$  de las proteínas del lactosuero. Estos últimos suelen formar una red más compacta, hay un aumento en las interacciones proteína-proteína porque las fuerzas electrostáticas de las moléculas son menores presentándose poca interacción entre el agua y las moléculas de proteína (Pelegri y Gasparetto, 2005). En la gelificación a pH neutro ( $pH > 7$ ) se dan las reacciones de intercambio de disulfuro - sulfhidrilo logrando geles más estables y elásticos, (Morr y Ha, 1993). Esto puede explicar porque los geles a pH 3 presentaron mayor contenido de agua, y por ende a medida que aumentó la temperatura y tiempo de secado, el agua contenida en la red tridimensional del gel ácido se evaporó quedando una estructura hueca y quebradiza. Estos resultados se correlacionan con los valores hallados de  $a_w$  (ítems 3.2) donde precisamente los geles CPL y miel a pH 3 presentaron menor  $a_w$  después del secado.

Con respecto al contenido de miel se notó que, independientemente del pH y la temperatura de secado, los snacks con un 15% de miel se quebraron más fácilmente que los

formulados con 30% de miel. Según Lupano (2000 a,b); Lupano y González (1999); Yamul y Lupano (2003) la miel, al igual que otros compuestos como el almidón y el gluten, tienen la capacidad de formar puentes de hidrógeno con moléculas de agua, incrementando la capacidad de retención de agua de los geles de CPL. Por lo que los geles con 30% de miel retuvieron más agua que aquellos formulados con 15% de miel, lo que conllevó a que los primeros no se quebraran tanto durante la cinética de secado.

Por último se observó que durante el secado a medida que aumentaba los tiempos y las temperaturas de secado los snacks se fueron oscureciendo quedando al final del secado de color marrón. Esto es de esperarse debido a que la reacción de Maillard que se da entre la proteína y el azúcar de la miel se favorece con el aumento del tiempo y la temperatura del tratamiento (Garza y col., 1999). Sin embargo, durante el secado de los snacks a pH 7 fue más notorio este fenómeno. Este resultado podría explicarse teniendo en cuenta que a pH neutro se ven favorecidas las reacciones de Maillard o pardeamiento no enzimático (Yamul, 2008). Resultados similares encontraron Ames y col. (1998) en un sistema de almidón-glucosa-lisina extruido donde a medida que aumentaba el pH y la temperatura, las muestras se volvían más oscuras.

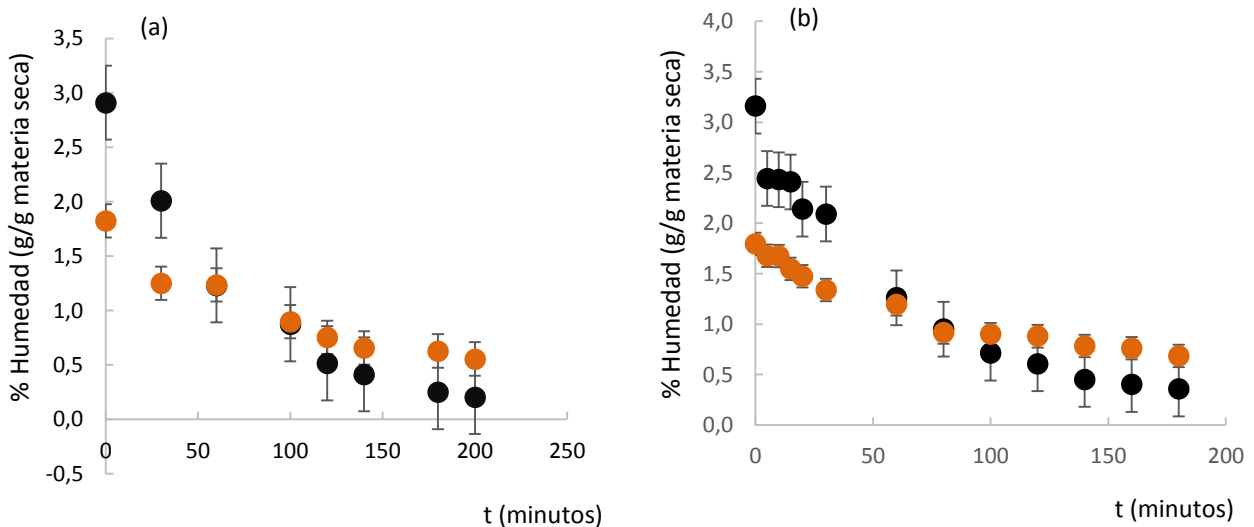
### **3.3.2. Curvas de secado experimental. Medida de la humedad de los geles CPL con 15% y 30% de miel, después de las diferentes condiciones de secado.**

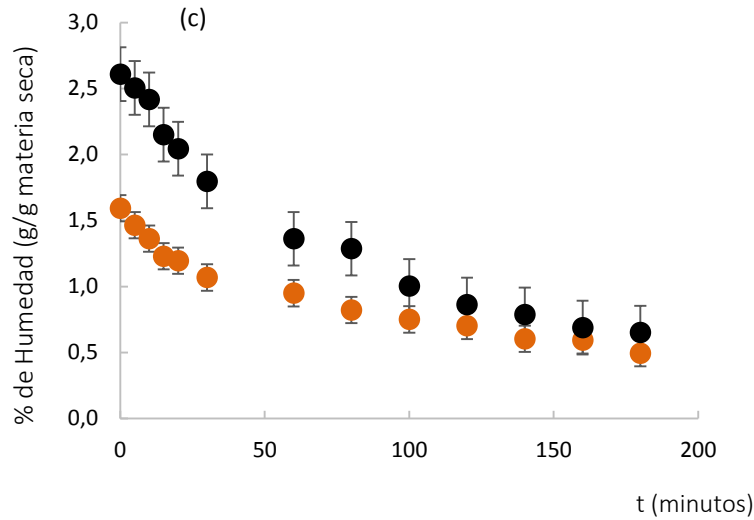
A continuación se muestran los gráficos del contenido de humedad en base seca de los snacks CPL- miel 15% y 30% a los pH 3, 4 y 7 en relación con los tiempos empleados (0, 5, 10, 15, 20, 30, 60, 100, 120, 140, 160 y 180 minutos) durante el secado a las temperaturas de 60°C, 75°C y 85°C. Los ensayos por duplicado que se realizaron en la determinación de humedad no presentaron diferencias estadísticas significativas.

## Secado a 60°C

Como se observa en la figura 3.5, durante la determinación de la humedad a 130°C durante 3 horas, los snacks CPL con diferentes porcentajes de miel que presentaron mayor contenido de agua fueron aquellos que tenían menor tiempo de secado a 60°C.

Cuando se comparan las gráficas se observa que a tiempo 0 los geles con un contenido de miel del 15% tienen un contenido de humedad mucho mayor que los geles de 30% de miel, siendo los de pH 7 los que presentan menor humedad a este tiempo; El hecho que un gel con un contenido de 15% de miel tengan mayor contenido de humedad con respecto a los de 30% miel se debe a que están formulados con una mayor cantidad de agua. Cuando se observa el comportamiento del contenido de humedad a los diferentes tiempos vemos que las gráficas de las muestras a pH 3 y 4 (figura 3.5 a-b), la humedad de estas se superponen aproximadamente entre los 50 y 100 minutos. A partir de este tiempo y hasta los 180 minutos, las muestras con un 15% de miel pierden humedad de forma más rápida que las de 30% de miel. Este comportamiento no se observa a pH 7 (figura 3.5 c) donde el contenido de humedad de las muestras con un contenido de miel del 15% se mantuvo durante toda la cinética de secado por encima de la humedad de las muestras con 30% de miel. También se observa que las muestras a pH 7 (15% y 30% miel) presentan una humedad similar a un tiempo de 160 minutos.

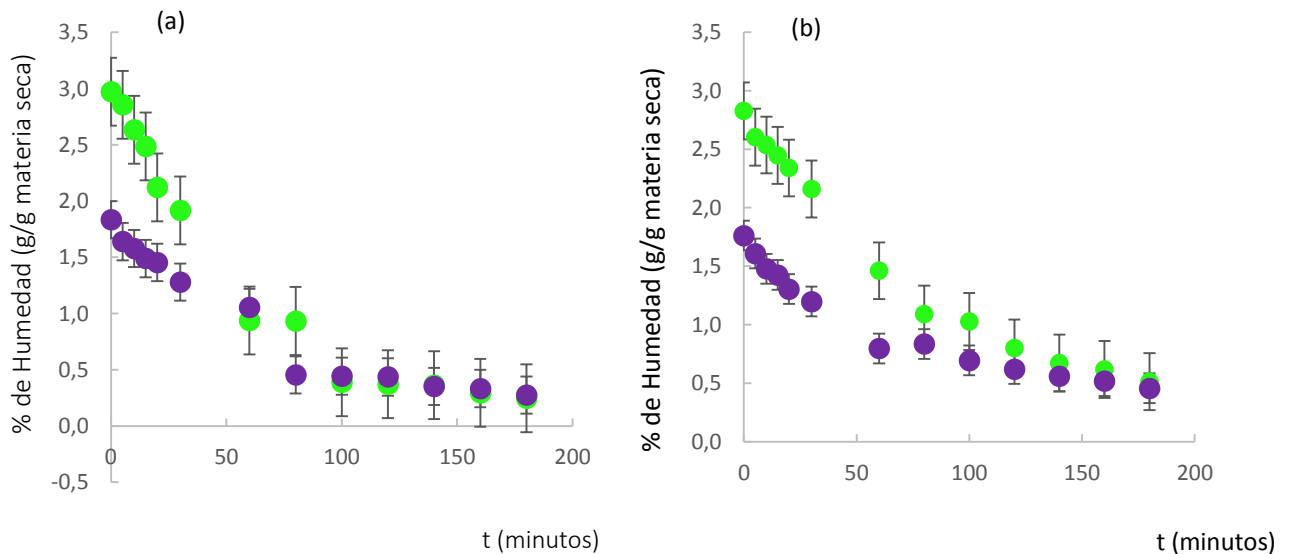


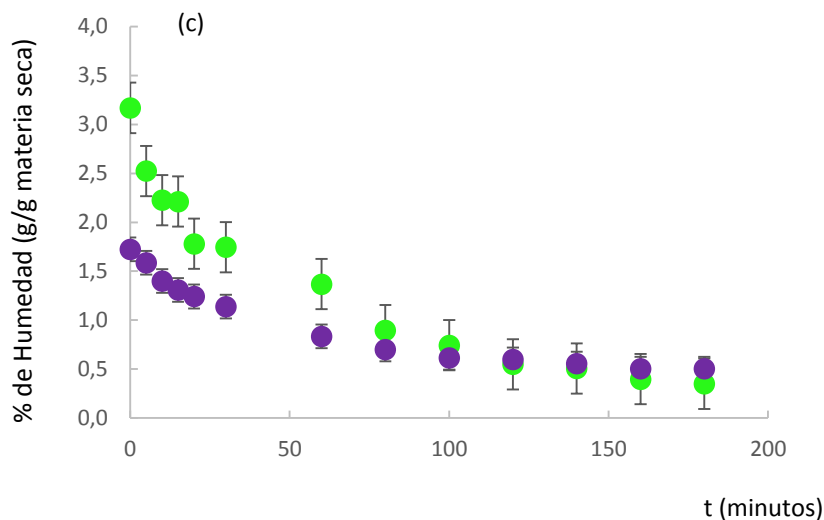


**Figura 3.5.** Contenido de humedad en función del tiempo de secado de los snacks CPL y miel: 15% (p/p) (●) y 30% (p/p): (●) llevados a pH: (a) 3, (b) 4 y (c) 7 a una temperatura de 60°C.

**Secado a 75°C**

Los resultados en la figura 3.6 de los snacks CPL con 15 y 30% de miel obtenidos a los tres pHs muestran tendencia a igualar los contenidos de humedad a medida que aumenta el tiempo de secado, a diferencia de la gráfica (c) donde los snacks con 30% de miel supera un poco el contenido de humedad de los snacks con un 15% de miel en los últimos minutos del ensayo de cinética.





**Figura 3.6.** Contenido de humedad en función del tiempo de secado de los snacks CPL y miel: 15% (p/p) (●) y 30% (p/p): (●) llevados a pH: (a) 3, (b) 4 y (c) 7 a una temperatura de 75°C.

### Secado a 85°C

Para la temperatura de 85°C al igual que a 60°C y 75°C a medida que aumentó el tiempo de secado el contenido de humedad disminuyó, logrando humedades similares tanto a 15% y 30% de miel, siendo más notorio para los snacks a pH 3 (figura 3.7a).

Es de esperarse que durante la determinación de la humedad aquellas muestras con diferentes porcentajes de miel (15% y 30%) a las diferentes temperaturas de secado (60°C, 75°C y 85°C) presentaran mayor porcentaje de agua que aquellas que tenían menor tiempo de secado ya que estuvieron poco tiempo o nada (para 0 minutos de secado) en contacto con aire caliente lo cual conllevó a que el agua retenida en la red del gel que se evaporara fuera muy pequeña en comparación con las que estuvieron por más tiempo expuestas al aire de la estufa.

En cuanto al contenido de miel, se observa en todas las gráficas anteriores que al aumentar el tiempo de secado las muestras con 15% de miel presentaron una pérdida de agua mucho más pronunciada que las de 30% de miel, esto puede deberse al efecto ligante que tiene la miel con el agua, haciendo que un snack con un mayor contenido de miel tenga

menos agua libre disponible para ser evaporada, esto hace que al aumentar el tiempo de secado la humedad de los snacks con un contenido de 15% y 30% de miel tiendan a igualarse.

Por último se muestra en las gráficas que al aumentar el tiempo de secado a las diferentes temperaturas la influencia del pH en la capacidad de retención de agua se ve disminuida, dado que el contenido de humedad con la que finalizaron los snacks es muy similar para los tres pHs evaluados.

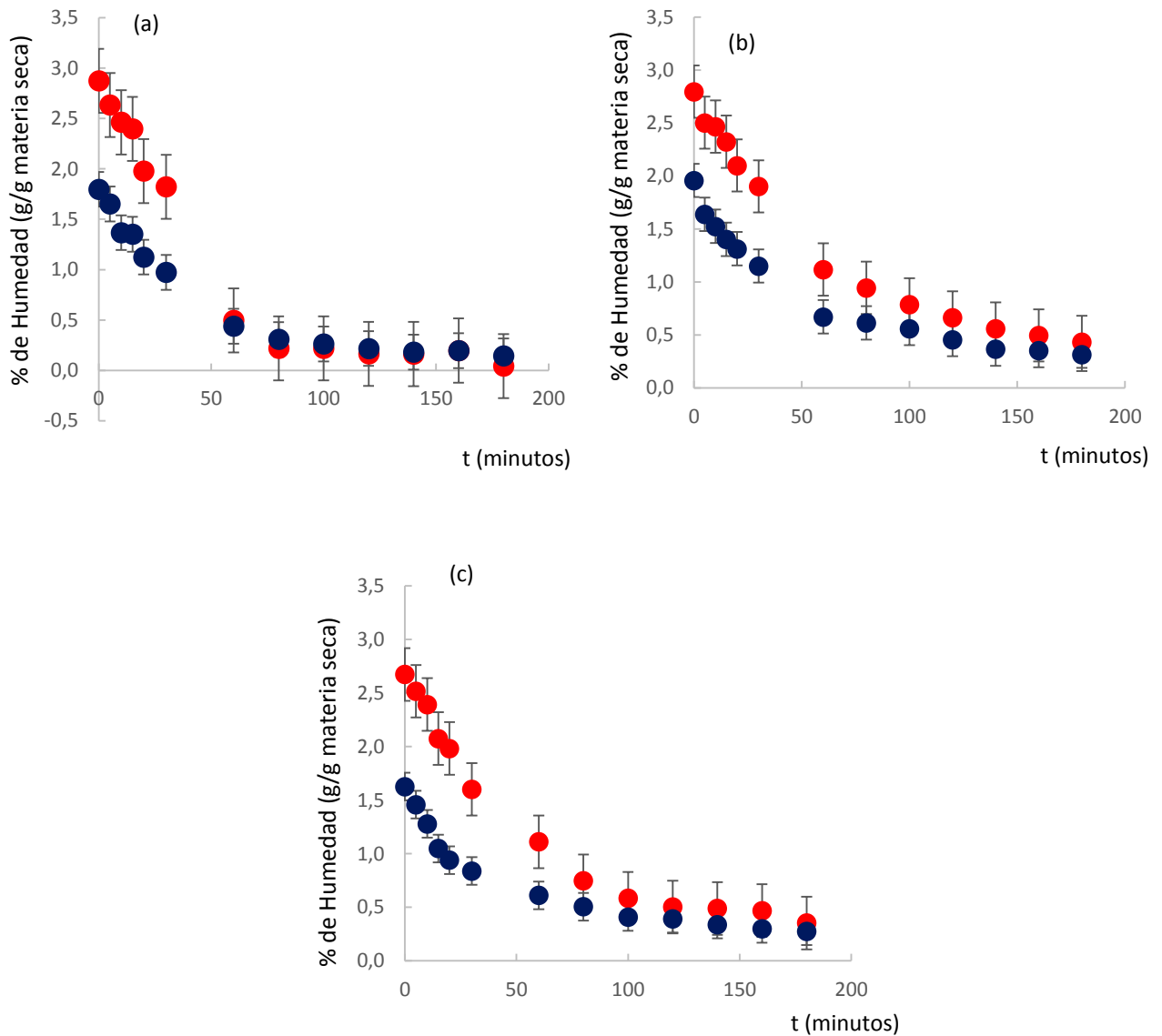


Figura 3.7. Contenido de humedad en función del tiempo de secado de los snacks CPL y miel: 15% (p/p) (●) y 30% (p/p): (●) llevados a pH: (a) 3, (b) 4 y (c) 7 a una temperatura de 85°C.

### 3.3.2.1 Modelado matemático de la cinética de deshidratación

A partir de los datos experimentales presentados anteriormente (ítem 3.3.1.3. Curvas de secado experimental) y utilizando la ecuación de difusión (Ec. 1.1) descrita en el capítulo 1 (pág. 43) se estimó el coeficiente de difusión efectivo ( $D_{eff}$ ) para cada condición. A continuación se muestra la tabla con los resultados.

**Tabla 3.3.** Coeficientes de difusión efectivos obtenidos a partir de la ecuación de Fick para geometría de placa plana para las diferentes formulaciones de los snacks CPL y miel a pH 3, 4 y 7. Se presentan junto con el coeficiente de determinación.

$D_{eff} (m^2/s)*x10^{-9}$					
MIEL	pH	60° C	75° C	85° C	R <sup>2</sup>
15%	3	2,205	2,562	2,896	0,947 - 0,964
	4	2,022	2,413	2,610	0,961 - 0,980
	7	2,193	2,446	2,931	0,965 - 0,983
30%	3	1,956	2,297	3,256	0,958 - 0,969
	4	2,082	2,391	2,960	0,970 - 0,983
	7	2,126	2,951	3,346	0,978 - 0,983

De acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 3.3 podemos realizar el siguiente análisis considerando en primer lugar ambos sistemas por separado en cuanto al contenido de miel. A 15% se puede observar a cada una de las temperaturas que el mayor valor del  $D_{eff}$  se presenta a pH 3, esto probablemente se relacione con una conformación estructural más débil estabilizada en su mayoría por enlaces no covalentes (Morr y Ha, 1993). Con respecto al pH 4, valor muy próximo al  $pI$  de las proteínas, la conformación que las mismas adoptan en estas condiciones (interacción electrostática proteína-proteína) dificultan la movilidad del agua durante el secado, conduciendo de esta manera a menores valores de  $D_{eff}$ . Weinbreck y col. (2004) estudiaron un sistema CPL y goma arábica cocervado y hallaron que un mínimo



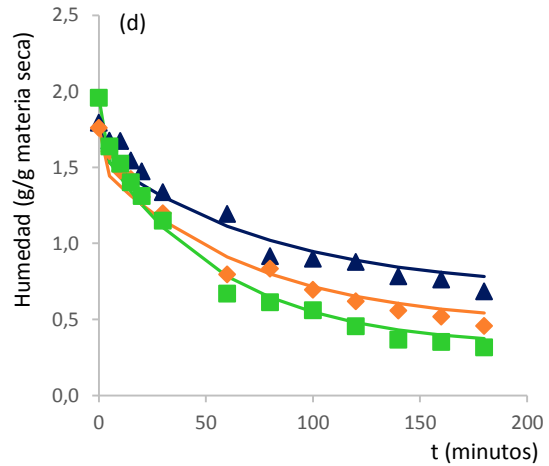
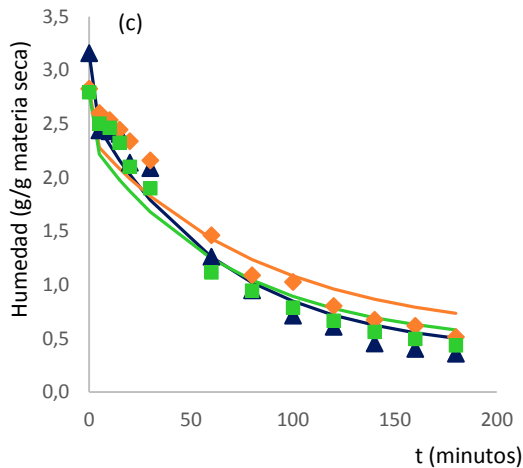
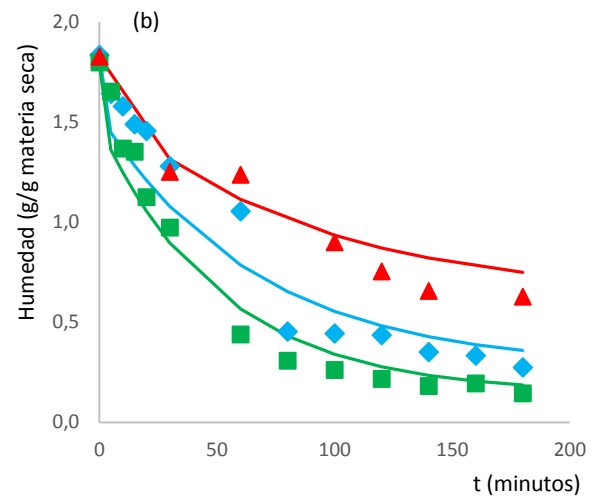
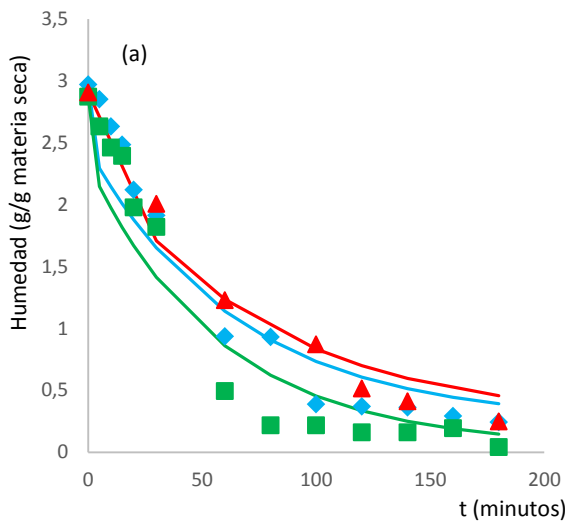
valor  $D_{eff}$  se encontró alrededor de pH 4,0 y 4,2 y que a ambos lados de este intervalo de pH, las moléculas difundían más rápido. Finalmente con respecto al pH 7, podríamos hablar de un estado intermedio, en cual la conformación del gel estabilizada por enlaces covalentes, da como resultado una estructura más organizada que a pH 3 pero no tan compacto como puede esperarse a pH 4, de esta manera se observan valores intermedios del  $D_{eff}$  en comparación con los estimados a los otros pHs.

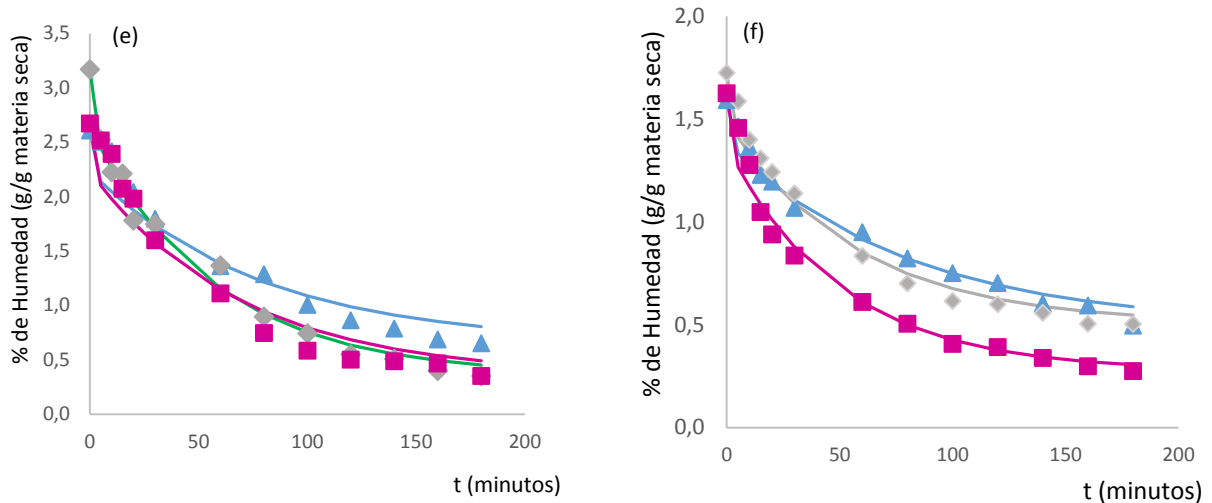
En relación al sistema que tiene 30% de miel se observa un comportamiento opuesto al explicado previamente para el sistema de 15%. Es decir, los mayores valores del  $D_{eff}$  hallados fueron para el pH 7 y los menores para el pH 3. Este fenómeno puede atribuirse al efecto que ejerce el contenido de miel en la matriz del snack. Si bien la estructura de la proteína está determinada por el valor del pH, la presencia de una mayor cantidad de miel en la formulación pudo influir en los resultados del  $D_{eff}$ . La miel empieza a competir con la proteína por el agua disponible en la matriz, haciendo que la difusión de esta sea más compleja (Lupano, 2000 a,b). Probablemente a valores de 15% de miel este efecto no era significativo.

Con respecto al efecto de la temperatura sobre el coeficiente de difusión, para ambos sistemas puede observarse que al aumentar la temperatura de secado de los snacks CPL y miel el valor del  $D_{eff}$  también lo hace. En diversos estudios realizados en el secado de alimentos se observó que el incremento de la temperatura conduce a un aumento del coeficiente de difusión efectivo (Gastón y col., 2002; Mabellini y col., 2010; Perea-Flores y col., 2012). De acuerdo a Götz y col. (2004) este incremento podría atribuirse a las diferentes configuraciones moleculares entre el estado nativo y desnaturalizado de las proteínas, como así también la variación en la fracción hidratada. Como puede verse el ajuste fue satisfactorio, esto se observa con los valores del  $R^2$ .

A pesar que los valores de  $D_{eff}$  del agua en geles de proteína encontrados en la bibliografía fueron obtenidos en condiciones de temperaturas y tiempos diferentes a los utilizados en esta experiencia, los valores presentados se encuentran dentro del rango. La mayoría de los autores encontraron valores del  $D_{eff}$  del agua en geles de proteína en un rango

de  $1 \times 10^{-9} - 5 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  (Colsenet y col., 2006 a,b; Croguennoc y col., 2001; Métais y col., 2006; Osés y col., 2009; Yun, 1990). Los autores anteriores trabajaron en un rango de temperaturas parecidas a las usadas en este trabajo, pero los tiempos de secado fueron inferiores. La figura 3.8 presenta los valores de la humedad adimensional ( $Wad$ ) experimentales de secado de los geles CPL y miel y aquellos predichos empleando los coeficientes de difusión presentados en la tabla 3.3.

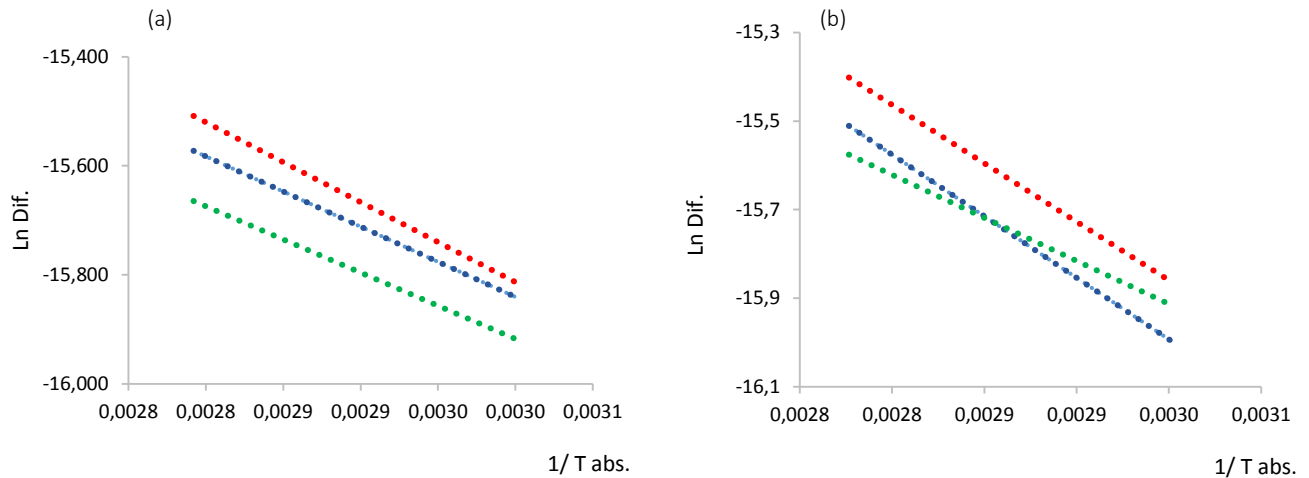




**Figura 3.8.** Humedad experimental y predicha por el modelo difusivo de la ley de Fick en función del tiempo para las distintas temperaturas. Valores predichos (Línea continua) y datos experimentales (símbolos:  $\Delta$ : 60°C;  $\diamond$ : 75°C;  $\square$ : 85°C) para las siguientes condiciones. pH 3: (a) snack con 15% (p/p) de miel (b) snack con 30% (p/p) de miel; pH 4: (c) snack con 15% (p/p) de miel (d) snack con 30% (p/p) de miel; pH 7: (e) snack con 15% (p/p) de miel (f) snack con 30% (p/p) de miel.

Tal como se estimó con los valores del  $R^2$  presentados en la tabla 3.3, las curvas de los datos predichos se aproximan de manera satisfactorias a los datos experimentales de la humedad (en b.s.) de los snacks CPL y miel llevados a los diferentes pHs.

Utilizando los valores de difusión obtenidos a cada temperatura y pH se calculó el valor de la energía de activación “ $E_a$ ” mediante una relación tipo Arrhenius (Ec. 1,3.), descrita en el capítulo 1 (Pag. 41). En la figura 3.9 se muestran los resultados obtenidos.



**Figura 3.9.** Correlación tipo Arrhenius para la funcionalidad del coeficiente de difusión efectivo de agua en los snacks CPL y miel con la temperatura: (a) Geles CPL – 15% (p/p) de miel; (b) Geles CPL- 30% (p/p) miel. Las líneas de tendencia de color rojo, azul y verde corresponde a los geles llevados a pHs 7, 3 y 4 respectivamente.

A continuación la tabla 3.4 muestra los resultados obtenidos mediante esta metodología.

**Tabla.3.4.** Valores de la  $E_a$  de las formulaciones de los snacks CPL y miel.

	pH	$E_a$ (kJ/mol)	$D^\infty$ (m/s)	$R^2$
15%	3	10,72	6,300E-06	0,99
	4	10,14	4,730E-06	0,99
	7	12,19	1,100E-05	0,85
30%	3	19,28	1,187E-04	0,88
	4	13,49	1,592E-05	0,93
	7	18,31	9,562E-05	0,98

Como puede verse el ajuste fue satisfactorio, esto se observa con los valores del  $R^2$ .

Si bien, el valor de la energía de activación puede relacionarse con la barrera de energía a superar para movilizar el agua dentro de la matriz (Perea-Flores y col., 2012). En este caso, al ser una matriz predominantemente compuesta por proteínas puede

relacionarse la  $E_a$  con la velocidad de reacción de la cinética de desnaturalización de la proteína, esta se ve disminuida con el aumento de la temperatura. La temperatura influye en la agregación o cambios en la conformación de las moléculas de proteína que tiene lugar durante la desnaturalización, a mayores temperaturas la desnaturalización se da más rápido y menor es la  $E_a$  requerida. Esta discusión también es válida para el caso de los snacks CPL y miel llevado a pH 4, donde a este pH por estar próximo al  $pI$  se encuentra el mayor porcentaje de proteína agregada y por ende se da el mínimo valor de  $E_a$  en comparación con los otros pHs ensayados (Baier y McClements, 2001).

Sin embargo a pesar que no encontrarse referencias bibliográficas de trabajos en condiciones similares a este, el valor calculado estuvo en el rango de los valores de  $E_a$  reportados por otros autores. (Baier y McClements, 2001; Dannenberg y Kessler, 1988; Dierckx y Huyghebaert, 2002; Katsuta y Kinsella, 1990). No obstante, pese a lo mencionado anteriormente en el presente trabajo, se encontró que la presencia de miel influye de algún modo sobre el aumento de  $E_a$  donde se observan mayores valores de  $E_a$  en el sistema con un contenido mayor de miel. Este efecto podría estar asociado a lo discutido previamente para los valores obtenidos para los  $Deff$ .

### **3.3.3. Agregado de aditivos. Hidrocoloides**

El secado a 60, 75 y 85°C de los geles de CPL con 15% y 30% de miel y con agregado de hidrocoloides a pH 3, 4 y 7 se llevó a cabo solo en los tiempos en que las muestras presentaron fractura y exudado en el secado especificado en el ítem 3.3.1.

Básicamente lo que se buscó con el agregado de hidrocoloides fue de mejorar la apariencia y textura logrando un snack entero (sin fracturas) y sin exudación en la superficie (los hidrocoloides utilizados se especifican en el capítulo 2 en el ítem 2.1). Según Ravindra y col. (2004), cuando dos polímeros diferentes se mezclan interactúan entre sí, ya sea en combinación (juntos) o separadamente de forma asociativa, este efecto se denomina sinérgico o puede tener efectos segregativos (antagonistas). Un efecto sinérgico en geles

mixtos puede ocurrir cuando cualquiera de los dos componentes son estructuralmente compatibles entre sí o uno de los componentes actúa como relleno activo. Durante la preparación de los geles de CPL con 15% y 30% de miel y con el agregado de los diferentes porcentajes de hidrocoloides se presentaron las siguientes dificultades:

\*En la elaboración de los geles con un contenido del 10% de almidón llevados a los pH 3 y 4 se dificultó un poco, debido a que la solución CPL-miel-almidón era muy espesa haciendo un poco difícil el traspaso de la solución del vaso de precipitado al tubo de ensayo. Esto se debe a que la amilosa tiene un papel importante en la formación de complejos con proteínas por el aumento de la viscosidad de la mezcla (Li y col., 2007).

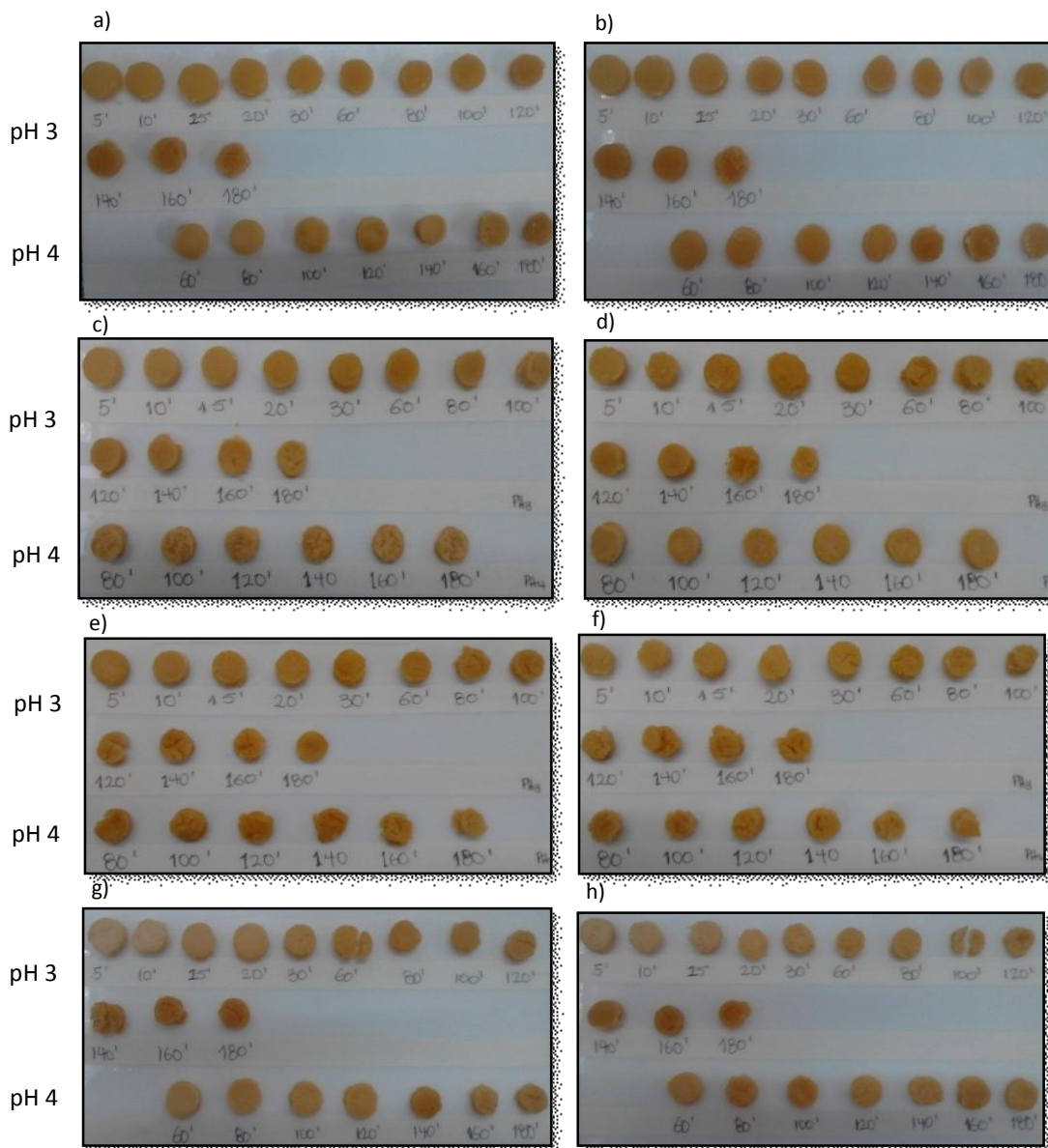
\*Los geles con 2% de goma guar, 1% y 2% de pectina y 1% y 2% de goma xantica a pH 3 y pH 4 no fueron geles autoportantes, se presentó problemas al ser cortados presentando un diámetro irregular.

### **3.3.3.1. Secado a 60°C**

Se llevó a cabo solo en muestras con 15% y 30% de miel y a pHs ácidos ya que a pH 7, como se mencionó anteriormente, no presentaron en ningún tiempo fracturas ni exudación durante el secado sin agregado de hidrocoloides. Para los geles a pH 3 se inició el secado a partir del minuto 5, mientras que para los de pH 4 se partió desde el minuto 80.

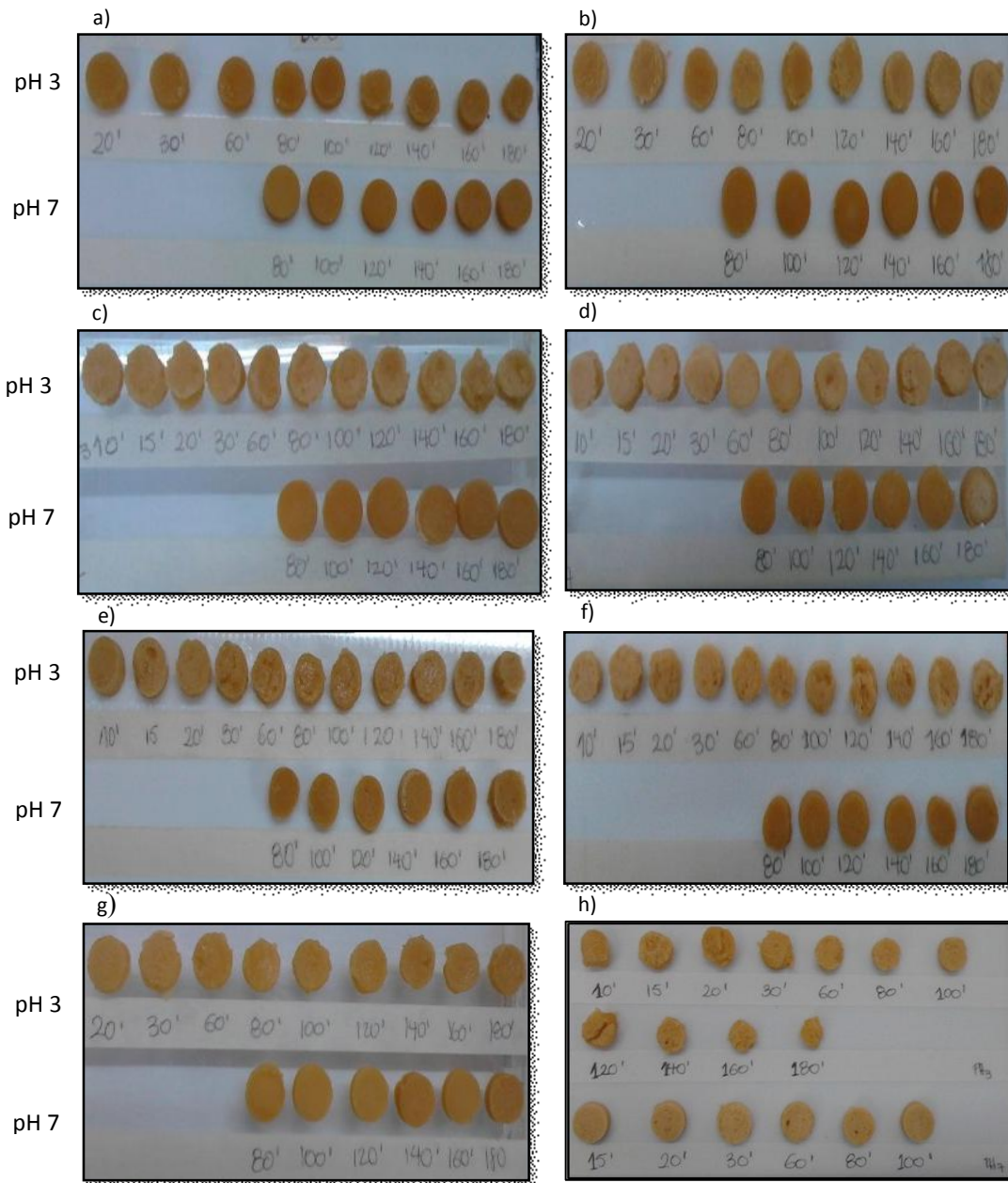
En la figura 3.10 se muestran los resultados obtenidos luego del secado de los geles CPL -15% de miel- hidrocoloides a pH 3 y 4. Los snacks conteniendo tanto almidón 5% y 10% (figura 3.10 a,b) como goma guar 1% y 2% (figura 3.10 c,d) no presentaron fracturas durante el secado. Sin embargo, los snacks a pH 4 con 1% de goma guar mostraron durante el secado un color blanco en la superficie que los hizo poco atractivos. En el caso de los snacks con pectina a 1% y 2% (figura 3.10 e,f), a pesar de no haber presentado fracturas, se observó formación de grietas a todos los tiempos de secado. Los snacks con 1% de goma xantica a pH 3 presentaron fracturas en tiempos, como por ejemplo a 60 y 140 minutos y agrietamiento a varios tiempos de secado como se observa en la figura 3.10 h. Los snacks con 1% de goma

xantica a pH 4 no presentaron fracturas, solo agrietamiento en los últimos tiempos de secado. Por último los snacks formulados con 2% de goma xantica a pH 3 se fracturaron a partir del minuto 100, mientras que los de pH 4 presentaron grietas en los últimos tiempos de secado (160 y 180 minutos) (figura 3.10 g).



**Figura 3.10.** Secado a 60°C de los geles con 15% de miel y agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) de almidón de maíz; (b) 10% (p/p) de almidón de maíz; (c) 1% (p/p) goma guar; (d) 2% (p/p) goma guar; (e) 1% (p/p) pectina; (f) 2% (p/p) pectina; (g) 1% (p/p) goma xantica; (h) 2% (p/p) goma xantica.

En la figura 3.11 se muestran los resultados obtenidos luego del secado de los geles CPL - 30% de miel- hidrocoloides a pH 3 y 7.



**Figura 3.11.** Secado a 60°C de geles con 30% de miel y agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) de almidón de maíz; (b) 10% (p/p) de almidón de maíz; (c) 1% (p/p) goma guar; (d) 2% (p/p) goma guar; (e) 1% (p/p) pectina; (f) 2% (p/p) pectina; (g) 1% (p/p) goma xantica; (h) 2% (p/p) goma xantica.

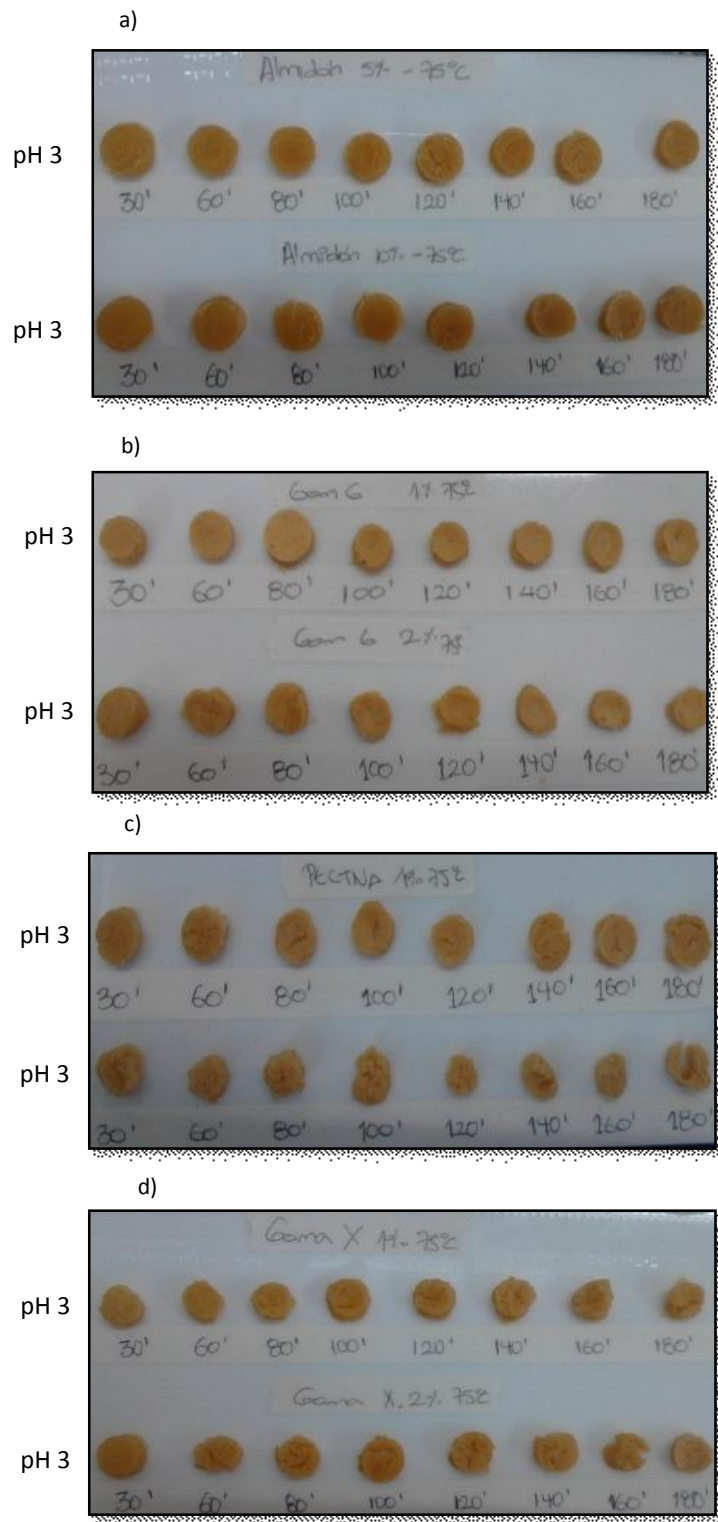


Los snacks con un contenido de 5% y 10% de almidón (figura 3.11a y b) mostraron una geometría cilíndrica uniforme sin fracturas ni exudación. El agregado de 1% y 2% de goma guar (figura 3.11 c y d) evitó que se fracturara y exudaran durante el secado, sin embargo pH 3 para ambas formulaciones (1% y 2% de goma guar) presentaron un diámetro de forma irregular ya que durante su preparación se hizo muy difícil el corte en forma cilíndrica. Los resultados para el caso de los snacks con agregado de pectina y goma xantica fueron muy parecidos. A pH 3 al 1% del hidrocoloide (figura 3.11 e y, g) dieron como resultados geles uniformes y sin fracturas, pero al 2% (figura 3.11 f y h) a pH 3 para ambos hidrocoloides (pectina y goma xantica) presentaron grietas y diámetro no constante. Para todas las formulaciones de snacks CPL- miel 30% e hidrocoloides utilizados en el secado a un pH 7 se eliminó el defecto de exudación que se había presentado durante el secado sin hidrocoloides.

### **3.3.3.2. Secado a 75°C**

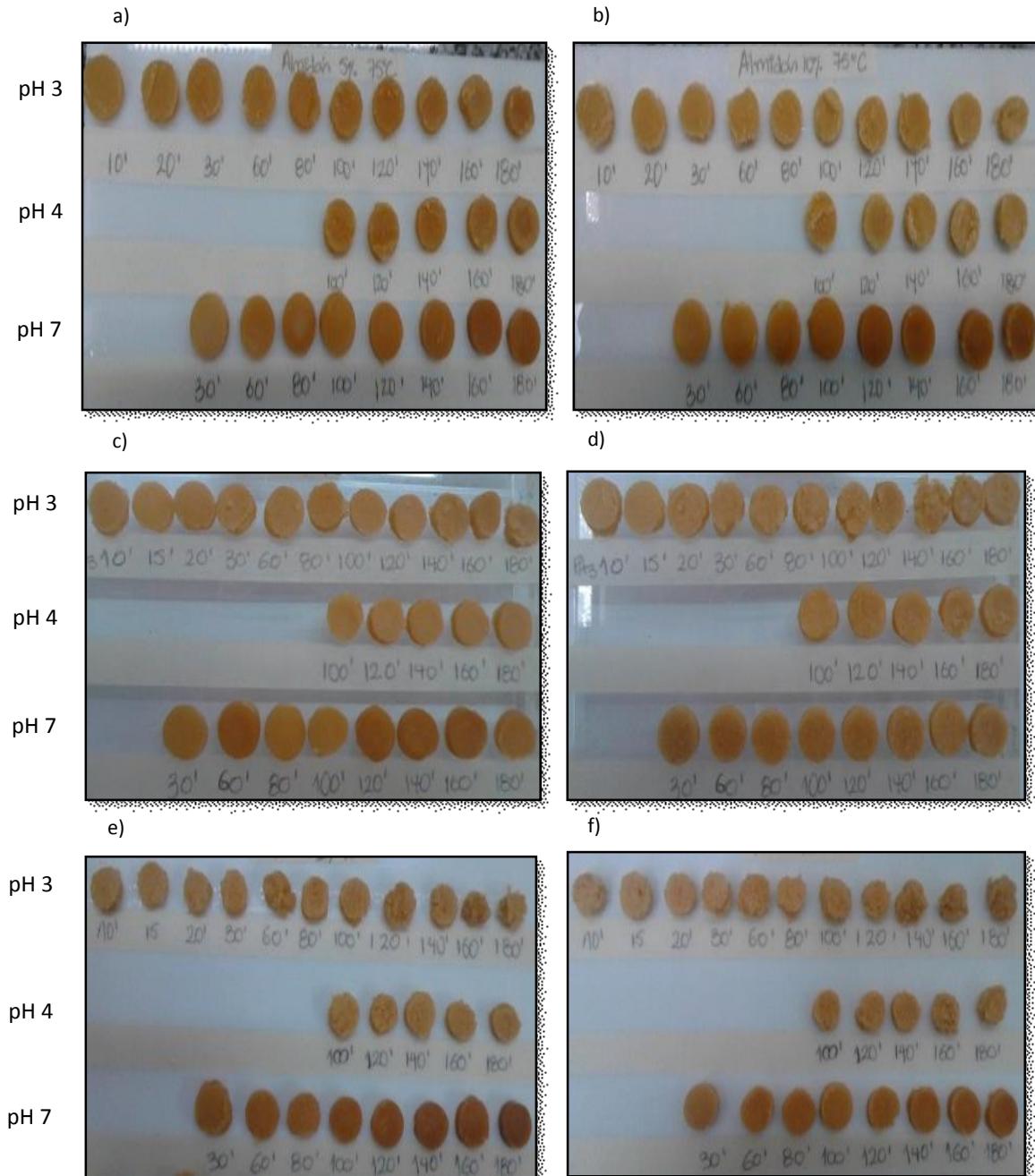
Los snacks con un contenido de miel de 15% a pH 4 y pH 7 no presentaron en el secado sin hidrocoloides ningún tipo de fractura ni tampoco exudación por lo que el secado con hidrocoloides se realizó en geles de pH 3 con 15% miel y se inició a partir del minuto 30. En el secado con hidrocoloides de los geles con 30% de miel se tuvieron en cuenta todos los pH, ya que a pH 3 y pH 4 presentaron fracturas y a pH 7 exudación en el secado sin hidrocoloides. Para los geles a pH 3 la cinética de secado se inicia a partir del minuto 10, a pH 4 al minuto 100 y a pH 7 en el minuto 30 hasta el minuto 100 para eliminar exudación.

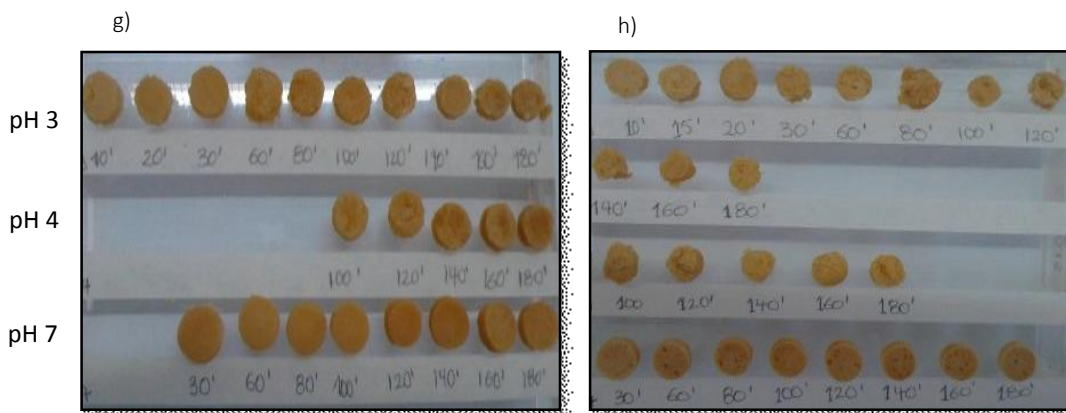
En la figura 3.12 se muestran los resultados obtenidos luego del secado de los geles CPL -15% de miel- hidrocoloides a pH 3. Los snacks a pH 3 formulados con 5% y 10% de almidón (figura 3.12a) y 1% y 2% de goma guar (figura 3.12b) no se fracturaron en ninguno de los tiempos evaluados en el secado; sin embargo, los snacks a pH 3 que contenían 1% y 2% de pectina (figura 3.12c) y 1% y 2% de goma xantica dieron como resultado en el secado snacks demasiados porosos y con grietas, de diámetro irregular.



**Figura 3.12.** Cinética de secado a 75°C de geles con 15% (p/p) de miel y agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) y 10% (p/p) de almidón de maíz; (b) 1% y 2% (p/p) goma guar; (c) 1% (p/p) y 2% (p/p) pectina; (d) 1% y 2% (p/p) goma xantica.

En la figura 3.13 se muestran los resultados obtenidos luego del secado de los geles CPL -30% de miel-hidrocoloides a pH 3, 4 y 7.





**Figura 3.13.** Secado a 75°C de geles con 30% de miel y agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) de almidón de maíz; (b) 10% (p/p) de almidón de maíz; (c) 1% (p/p) goma guar; (d) 2% (p/p) goma guar; (e) 1% (p/p) pectina; (f) 2% (p/p) pectina; (g) 1% (p/p) goma xántica; (h) 2% (p/p) goma xántica.

Los resultados obtenidos en los snacks con 5% y 10% de almidón (figura 3.13 a y b), 1% de goma guar (figura 3.13 c) y 1% de goma xántica (figura 3.13 g) fueron muy similares para los tres pH evaluados. Se observa que los snacks a pH 3 y pH 4 fueron uniformes de diámetro, no formaron grietas ni fracturas. Para el caso de los snacks a pH 7 no presentaron exudación.

Los resultados de secado para los snacks con un porcentaje de 1% y 2% de pectina (figura 3.13 e y f), 2% de goma guar (figura 3.13 d) y 2% de goma xántica (figura 3.13 h) a pH 3 y 4 no fueron muy buenos, el efecto a esta temperatura causó que los snacks se fracturaran a tal punto que si se le aplicara algún tipo de presión estos se quebrarían por completo, en cambio los snacks a pH 7 para las formulaciones con pectina, 2% de goma guar y 2% de goma xántica se comporta de igual manera que los resultados obtenidos a pH 7 para los demás hidrocoloides utilizados.

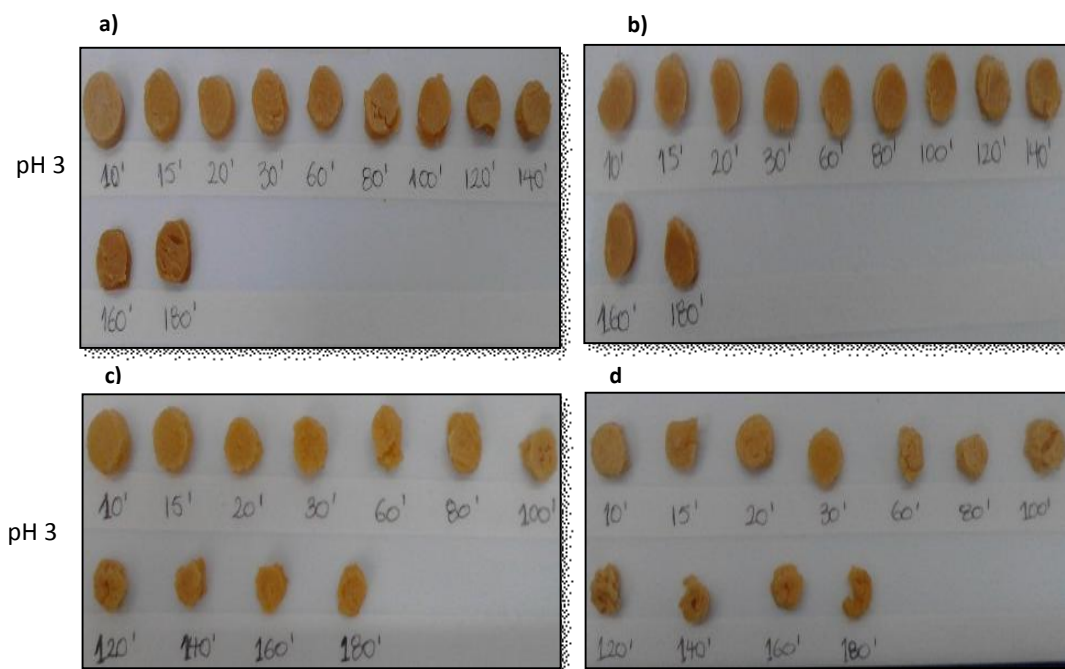
### 3.3.3.3. Secado a 85°C

Los snacks de pH 4 y 7 con 15% de miel y sin el agregado de hidrocoloides luego del secado no presentaron fracturas ni exudación (figura 3.4) por lo que solo se secaron los geles con 15% de miel a pH3. La cinética de secado se inició a partir del minuto 10.

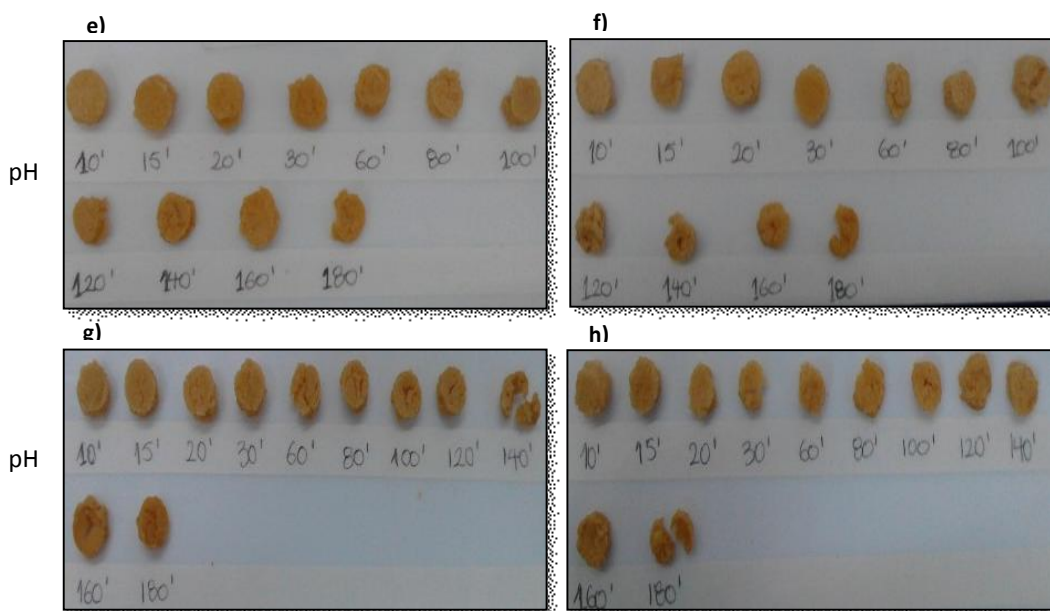
Para los geles con un 30% de miel se realizó la cinética de secado a partir de los minutos 10 y 60 para los snacks a pH 3 y pH 4 respectivamente, con el fin de evitar la fractura de los snacks, y para pH 7 se partió del minuto 15 hasta el minuto 100 para eliminar exudación.

En la figura 3.14 se muestran los resultados obtenidos luego del secado de los geles CPL - 15% de miel- hidrocoloides a pH 3.

Los snacks con almidón al 5% y 10% (figura 3.14 a y b) y 1 y 2% (figura 3.14 c y d) de goma guar no presentaron fracturas a ningún tiempo; sin embargo los snacks con agregado de goma guar no tuvieron una forma cilíndrica de diámetro parecido. Para los geles formulados con 1% y 2% de pectina y goma xantica (figura 3.14 e, f, g, h) dieron como resultado snacks huecos y fracturados. Al igual que los snacks con goma guar estos también presentaron diámetro irregular.



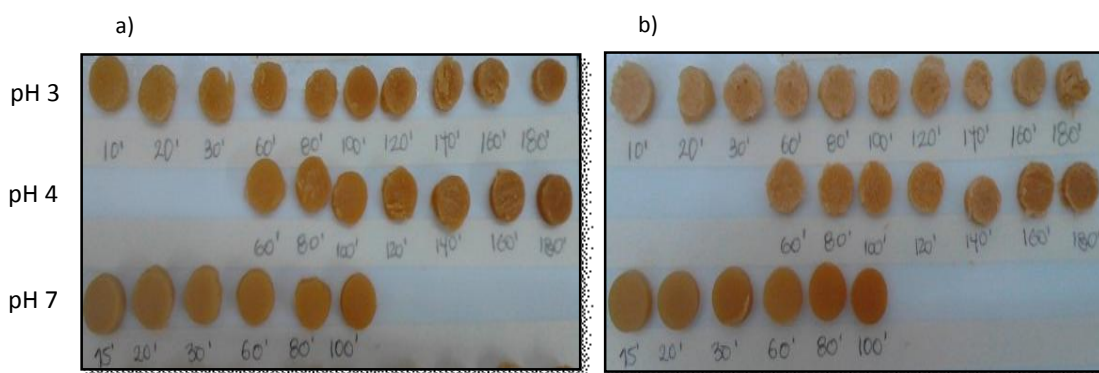


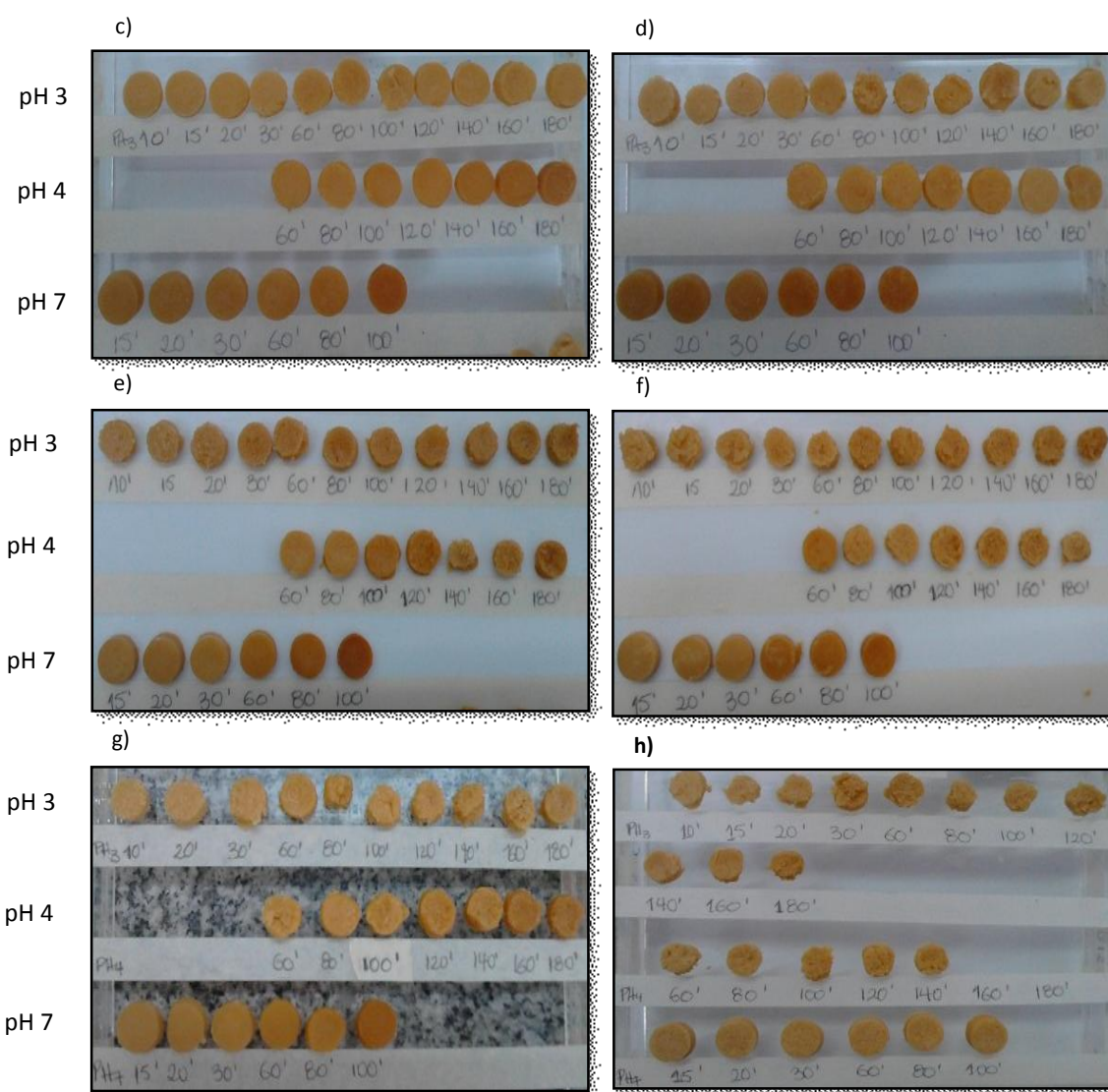


**Figura 3.14.** Secado a 85°C de geles con 15% de miel y con agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) de almidón de maíz; (b) 10% (p/p) de almidón de maíz; (c) 1% (p/p) goma guar; (d) 2% (p/p) goma guar; (e) 1% (p/p) pectina; (f) 2% (p/p) pectina; (g) 1% (p/p) goma xantica; (h) 2% (p/p) goma xantica.

En la figura 3.15 se muestran los resultados obtenidos luego del secado de los geles CPL - 30% de miel- hidrocoloides a pH 3, 4 y 7.

Los mejores resultados fueron para los snacks a pH 7 donde no se observó exudación. Para los snacks a pH 3 y pH 4 con 5% y 10% de almidón (figura 3.15a, b) y goma guar 1% y 2% (figura 3.15 c, d) no mostraron fracturas. Los snacks con contenido de 1% y 2% de pectina (figura 3.15 e, f) y 1% y 2% de goma xantica (figura 3.15 g, h) a pH 3 y pH 4 no mostraron los mejores resultados pues presentaron grietas y fracturas.





**Figura 3.15.** Secado a 85°C para los snacks CPL y 30% de miel con agregado de hidrocoloides: (a) 5% (p/p) de almidón de maíz; (b) 10% (p/p) de almidón de maíz; (c) 1% (p/p) goma guar; (d) 2% (p/p) goma guar; (e) 1% (p/p) pectina; (f) 2% (p/p) pectina; (g) 1% (p/p) goma xantica; (h) 2% (p/p) goma xantica.

En el análisis global de los resultados en el secado con el agregado de los diferentes hidrocoloides a las temperaturas 60°C, 75°C y 85°C y a los pH 3, 4 y 7 se observa que los mejores resultados obtenidos en apariencia fueron para los snacks a pH 7. Con la adición de las diferentes formulaciones de hidrocoloides desapareció el defecto de exudación manteniendo la estructura elástica, lisa y sin fracturas que mantuvo durante la cinética sin hidrocoloides. Para los snacks a pH 3 y pH 4 se consiguió evitar el agrietado y fracturas

presentado en la cinética sin hidrocoloides solo en las formulaciones que tenían un agregado de 5% y 10% de almidón o 1% de goma guar. Los demás porcentajes e hidrocoloides ensayados no mostraron muy buenos resultados, ya que algunos snacks durante su preparación presentaron dificultad para ser cortados en un cilindro con diámetro constante aproximado de 0,5 cm. Otros hidrocoloides, como por ejemplo la pectina (1% y 2%) no mostraron mejoras con respecto a los snacks sin hidrocoloides, siguieron fracturándose.

La interacción entre la proteína de suero y los diferentes porcentajes de hidrocoloides se puede atribuir a la densidad de carga de los polisacáridos, éste es un factor dominante en la formación de la microestructura (de Jong y Van de Velde, 2007). Una mezcla binaria de proteína e hidrocoloide en una solución acuosa puede exhibir una de las tres situaciones de equilibrio diferentes: (a) la miscibilidad, (b) la incompatibilidad termodinámica o (c) la coacervación compleja o formación de complejos. La incompatibilidad termodinámica implica la separación en dos fases acuosas distintas, una rica en proteínas y la otra rica en hidrocoloide. La coacervación compleja se produce principalmente por debajo del  $pI$  de la proteína como resultado de interacciones electrostáticas netas entre los polímeros que llevan cargas opuestas e implica la separación de dos fases distintas, una fase es rico en los dos biopolímeros y la otra fase se agota en ambos (Ercelebi y Ibanoglu, 2007).

Con relación a las soluciones en condiciones de incompatibilidad termodinámica como por ejemplo los geles CPL/goma xantica o CPL/pectina. La presencia de estos hidrocoloides (goma xantica y pectina) favorece la formación de micropartículas de proteínas, dándose una complejación. Este fenómeno que se da entre las proteínas y los polisacáridos aniónicos, tales como goma xantica, se produce por debajo de  $pI$  de la proteína, donde existe una compatibilidad completa en virtud de las cargas netas opuestas que llevan (Laneuville, 2000). Sin embargo, a pesar de que este sistema mixto es termodinámicamente inestable, la separación de fases no pudo ser observada en la escala de tiempo experimental, esto puede deberse a las barreras de energía cinética asociada con el movimiento restringido de moléculas a través de las redes de biopolímeros (Ercelebi y Ibanoglu, 2007).



Con respecto a la pectina, el pH afecta su interacción con las proteínas del CPL, definiendo la estructura del gel formado. La pectina se utiliza con carga negativa para una amplia gama de valores de pH. Turgeon y Beaulieu (2001) encontraron que la carga negativa total de la pectina aumentaba con el incremento del pH a valores más básicos. El *pI* de las proteínas del lactosuero es alrededor de 4.2. Por debajo de este pH, las proteínas tienen carga positiva y se observa la formación de complejos con la pectina. A pH 4, las interacciones de las proteínas con la pectina son más débiles debido a la poca carga que existe sobre la superficie de la proteína limitándose a las interacciones hidrofóbicas y de Van der Waals principalmente. Por encima del *pI* las repulsiones electrostáticas impiden las interacciones entre las macromoléculas, sin embargo, no observó separación de fases probablemente debido a que el porcentaje de pectina en la formulación es muy bajo. En ese caso, los polisacáridos se adsorben en las superficies de las proteínas. Un polisacárido puede adsorberse sobre más de una superficie de la proteína, uniendo de esta manera dos o más partículas de proteína (de Kruif y Tuinier, 2001). Sin embargo esta condición de incompatibilidad termodinámica pudo influir en las características finales de los snacks CPL, miel y pectina dando como resultado un producto fracturado.

La discusión anterior puede explicar porque los snacks CPL y miel 15% y 30% con 2% de goma guar, goma xantica y pectina al 1% y 2% llevados a pH 3 y pH 4 no formaron una buena estructura de red, haciendo difícil su manipulación, excepto en las muestras con 1% de goma guar. Esto último puede deberse a que la goma no interfirió lo suficiente en las interacciones proteína-proteína. La adición de un polisacárido puede evitar una agregación excesiva de proteínas, por reducción de las interacciones proteína-proteína, ya sea mediante el apantallamiento de grupos cargados o por la disminución de la tasa de colisiones entre las proteínas a través de un aumento de la viscosidad de la solución (Laneuville y col., 2000).

Por último, existiría comportamiento sinérgico entre las proteínas de suero y el almidón de maíz. El almidón es una macromolécula biológica importante en los alimentos. Diversos almidones se han añadido en geles de proteínas para reducir costes y mejorar la textura. El almidón ha sido reconocido como material de carga para aumentar la firmeza de los productos y para mejorar la resistencia de los geles. El efecto de refuerzo puede ser

debido a la hinchazón de los gránulos de almidón incrustados en el gel de proteína, que comprime la matriz, y que la matriz de proteína pierde humedad y se vuelve más firme (Li y Fan, 2007). Los resultados de las propiedades de textura y microestructura de los snacks CPL, 30% miel y 5% de almidón son discutidos ampliamente en los ítems 3.4. y 3.5 respectivamente.

Los snacks de pH 3 y 4 con 15% de miel presentan un sabor ácido y amargo en algunos casos. Para contrarrestar este inconveniente se opta por los snacks con 30% de miel, pues son más dulces, descartándose los geles con 15% de miel. A partir de esta decisión y después de observar los resultados de cada condición, solo se continuaron para los siguientes análisis de color, sensorial, estructural y textura las formulaciones siguientes:

- Snack CPL, 30% de miel y 5% de almidón a los pH 3, 4 y 7.
- Snack CPL, 30% de miel y 1% de goma guar a los pH 3, 4 y 7.

Para garantizar una actividad de agua “ $a_w$ ” alrededor de 0,7 en el producto final los geles fueron secados a una temperatura de 85°C a 100 minutos. Estas condiciones garantizan un menor tiempo de secado y mejores características organolépticas.

### **3.4. Propiedades reológicas: textura.**

La fractura es la separación de un material en dos o más piezas, bajo la acción de la tensión y se relaciona con la dureza de un material. Antes de la fractura, las curvas de fuerza vs tiempo (datos no mostrados) correspondiente a los snacks que contienen almidón de maíz o goma guar presentan un perfil dentado que podría atribuirse a las pequeñas fracturas del material. Estos resultados sugieren una estructura no homogénea de los snacks como se muestra en las observaciones al microscopio de la figura 3.17 (b, e, h, c, f, i). Baltsavias y Jurgens, (1997) también encontraron un efecto similar en las propiedades de fractura de galletas de manteca. Los resultados en la figura 3.16 (a, b, c) mostraron que el estrés de fractura de los snacks preparados con almidón de maíz fue mayor que en los preparadas con goma guar en todas las condiciones ensayadas. La gelatinización del almidón aumenta la

dureza de la matriz del producto (Manley, 2011) y sería responsable de este comportamiento. La tensión de fractura aumenta con el tiempo de almacenamiento a pH 3 (figura 3.16 a) hasta un máximo de dureza en el día 7 y luego se redujo a valores similares de día 0. Baier y col. (2007) también encontraron un patrón similar de endurecimiento en barras de proteína almacenadas, durante los primeros cuatro días de las barras se endurecieron para luego, de pasado este tiempo, ablandarse. Por otro lado, los snacks preparados a pH 4 o 7 (figura 3.16 b, c) tanto con goma guar o almidón de maíz mostraron un incremento de la tensión de fractura con el tiempo de almacenamiento. Por lo general, el endurecimiento de los alimentos es un fenómeno multifactorial que depende de la composición, los cambios físico-químicos de los componentes, las interacciones entre los componentes y las condiciones de almacenamiento. El endurecimiento podría explicarse teniendo en cuenta que durante el almacenamiento hay una migración de la humedad desde las proteínas hacia los grupos hidroxilo de los azúcares resultando en una asociación más fuerte entre proteínas (Loveday, 2009). Por otra parte, McMahon y col. (2009) indicó que las reacciones de Maillard estarían también involucradas en el endurecimiento. Los snacks preparados con almidón de maíz resultaron más duros que aquellos que contienen goma de guar, ya que, además de los factores mencionados anteriormente; la retrogradación del almidón aumentó la tensión de fractura del producto (figura 3.16 a, b, c).

El módulo de Young o módulo de elasticidad es la resistencia de un objeto a la deformación y es una medida de la rigidez del producto (Corradini y Peleg, 2008). Los resultados en la figura 3.16 (d, e, f) mostraron que a pH 7 los snacks resultaron más rígidos que los preparados a valores de pH ácido para ambas composiciones (almidón de maíz o goma de guar). Además, el tiempo de almacenamiento aumentó el módulo de Young, especialmente a pH neutro.

Aquellos productos que pueden ser reducidos a partículas pequeñas por la acción de una pequeña presión o fricción se clasifican como friables. La friabilidad se puede correlacionar con la tensión de fractura; es decir, cuanto menor sea la tensión de fractura más friable es el producto. La tensión de fractura de los snacks preparados con goma guar a pH 3 y 7 fue más alta que la de aquellos preparados con almidón de maíz, lo que sugiere que la goma de guar

hace que el producto sea menos friable con características gomosas. Mandala y Sotirakoglou, (2005) encontraron en panes adicionados con goma guar una corteza mucho más gomosa y atribuyeron este efecto a la capacidad de retención de agua del hidrocoloide lo que modificaría la plasticidad del producto. Por otro lado, se encontraron valores similares de tensión de fractura en snacks preparados a pH 4 a ambas composiciones ensayadas indicando similares propiedades texturales para ambos tipos de snacks. La tensión de fractura de los snacks ácidos aumentó con el tiempo de almacenamiento excepto en snacks a pH 3 con almidón de maíz en el que no se encontraron diferencias. Probablemente, durante el almacenamiento se produjo una absorción de humedad del medio ambiente lo que explicaría el aumento de la textura gomosa. Por otra parte, el tiempo de almacenamiento de muestras de pH 7 no modificó significativamente la tensión de fractura tanto para los snacks preparados con goma guar como para los preparados con almidón de maíz. Los resultados también mostraron que los snacks preparados a pH 4 y 7 con goma guar fueron más friables en la mayoría de los casos que los preparados a pH 3.

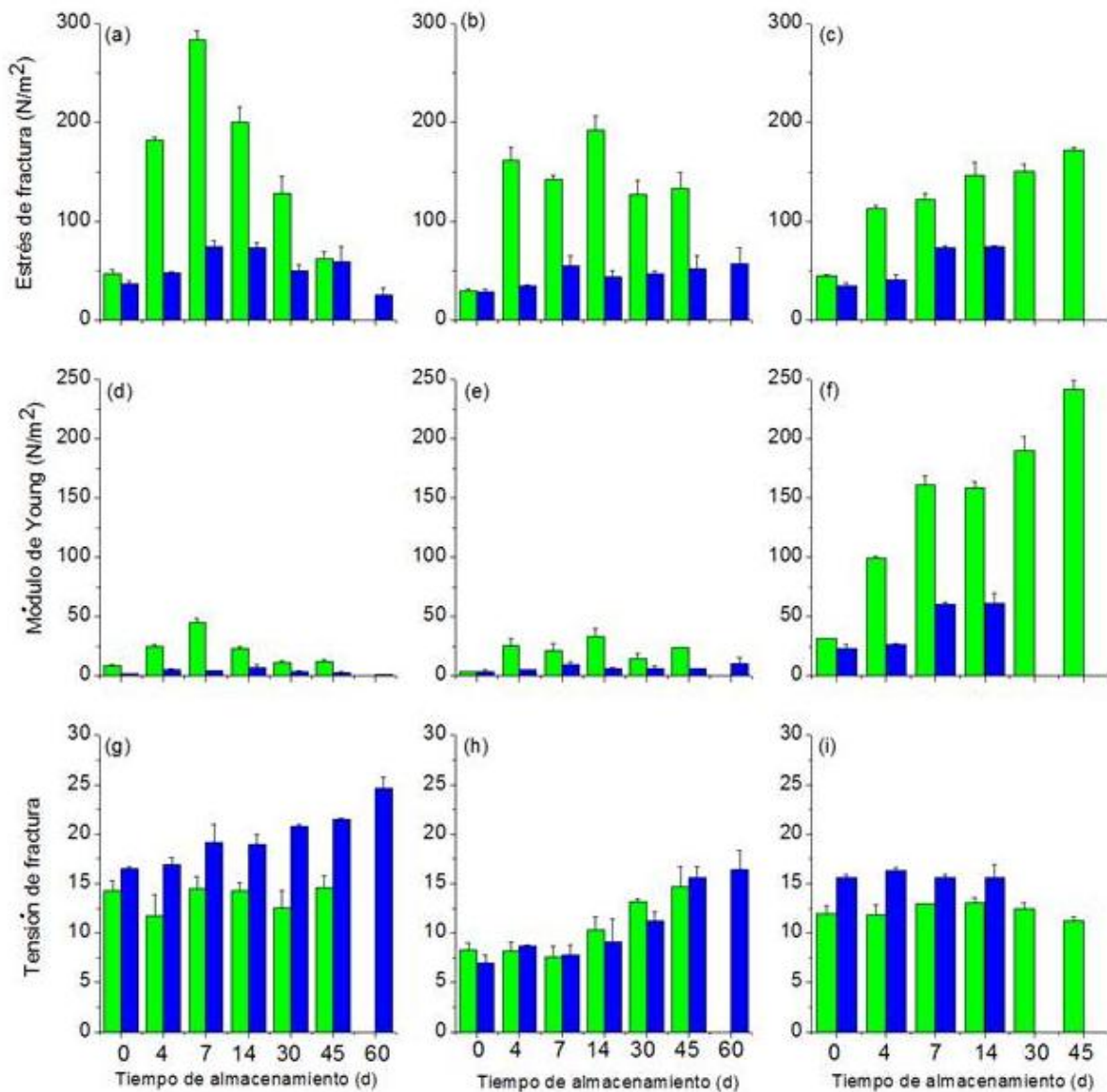
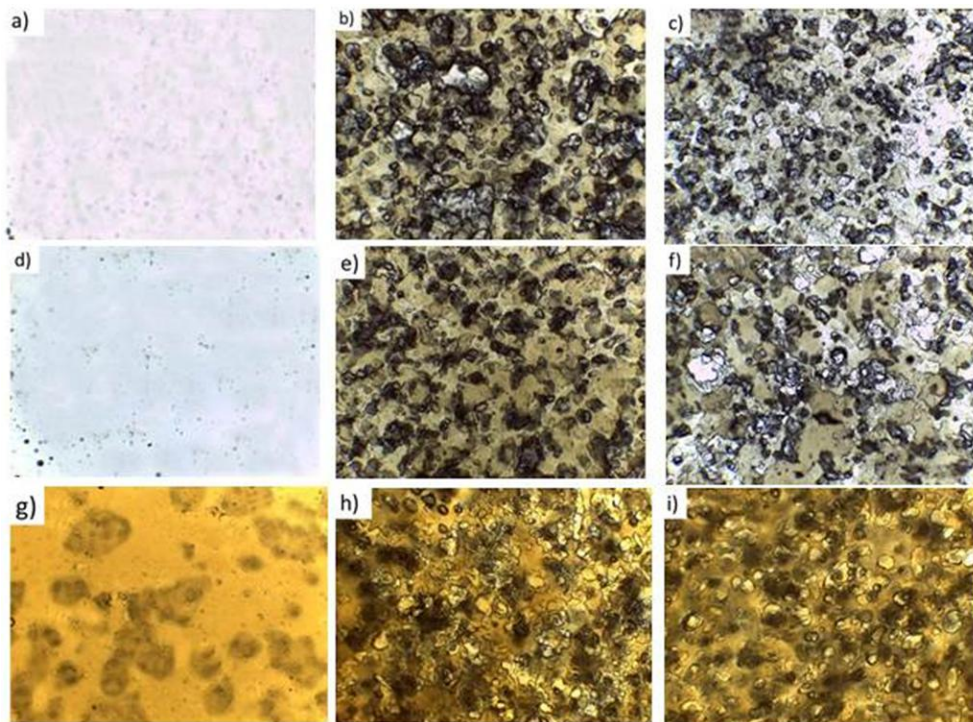


Figure 3.16. Propiedades de textura de los snacks preparados con almidón de maíz y goma guar a diferentes pH y tiempo de almacenamiento. pH de los snacks: (a, d, g) 3; (a, e, h) 4; (c, f, i) 7. Contenido de proteína: 15% (p/p). Contenido de miel: 30% (p/p). Los snacks de almidón de maíz en todos los pH ensayados y los snacks de goma guar a pH 7 mostraron crecimiento de moho antes de los 60 y 30 días de almacenamiento, respectivamente.

### 3.5. Microestructura de los snacks

#### 3.5.1. Microscopía óptica

La figura 3.17 muestra la microestructura de los snacks con y sin hidrocoloides a los 3 pHs ensayados. Las muestras sin hidrocoloides (figura 3.17 a, d, g) no presentan mayores diferencias excepto a pH 7 (figura 3.17 g) en la que se observaron áreas oscuras correspondientes a una estructura porosa. Por otro lado, la adición de almidón de maíz o goma de guar hizo que la microestructura se volviera más rugosa con poros distribuidos de manera no uniforme por toda la muestra. Probablemente durante el secado el vapor expande el material resultando una estructura porosa. Los gránulos de almidón no se observaron en las figuras 3.17 (b, e, h) probablemente debido a que perdieron su forma característica después de secar el gel. Los snacks preparados a pH 7 se observan de color marrón/pardo en comparación con los snacks preparados a pH ácido, lo que podría ser debido a las reacciones de Maillard que se ven favorecidas a pH neutro.



**Figure 3.17** Microestructura de los snacks observada a 10 x. pH: (a, b, c) 3; (d, e, f) 4; (g,h,i) 7. Composición: (a, d, g) sin hidrocoloides, (b, e, h) 5% (p/p) almidón de maíz, (c, f, i). 1% (p/p) goma guar. Contenido de proteína: 15% (p/p). Contenido de miel: 30% (p/p).

### 3.5.2. Microscopía láser confocal de barrido

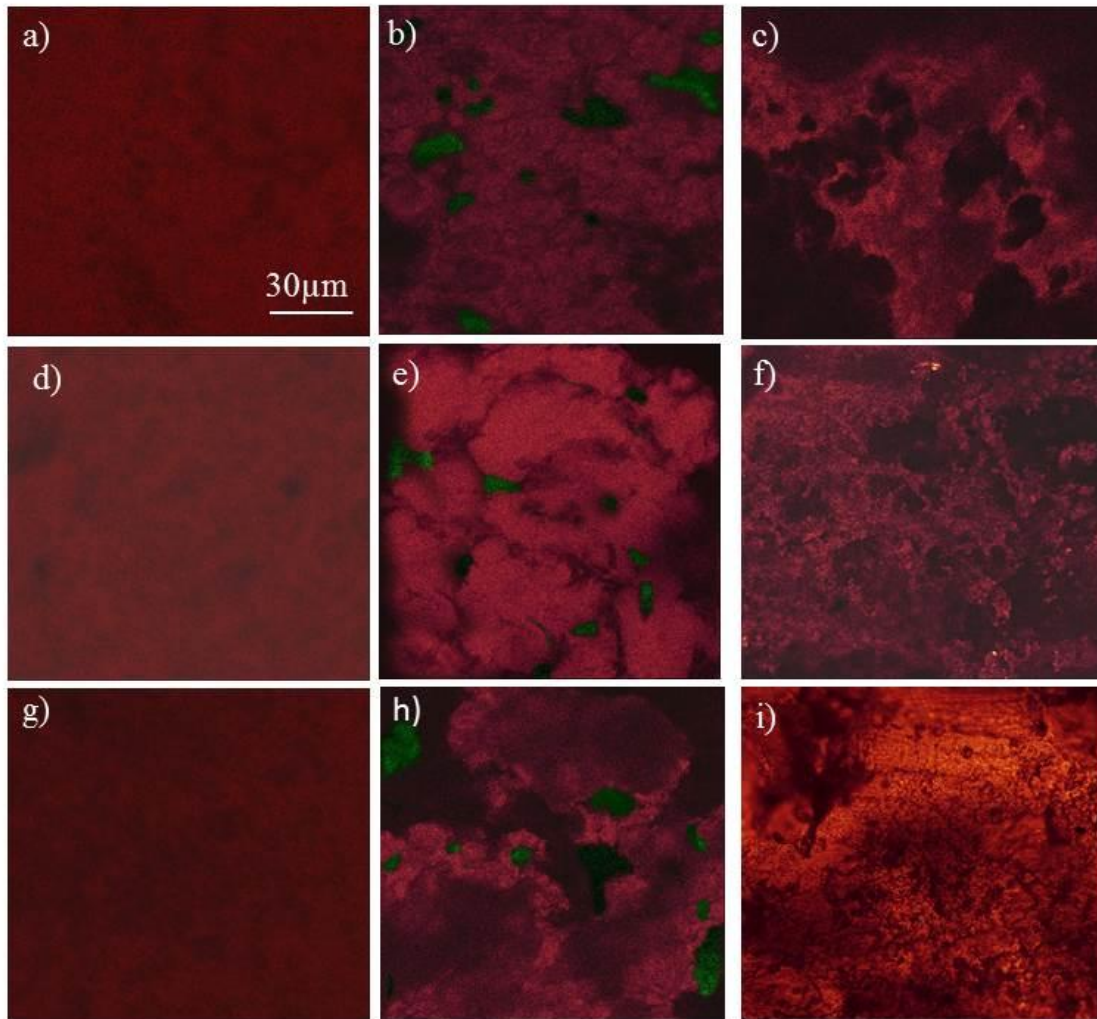
En la figura 3.18 se observa la microestructura de los snacks utilizando CSLM. La rodamina B se une de forma no covalente a las zonas hidrófobas de las proteínas, por lo tanto, las áreas de color rojo corresponden a la fluorescencia de este colorante, lo que indica la presencia de una red de proteína de suero.

La figura 3.18 (b, e, h) presenta un sistema de dos fases con límites bien definidos que indican la existencia de una fase continua de agregados de proteínas de lactosuero (fluorescencia roja) y una fase discontinua que corresponde a zonas de almidón gelatinizado (fluorescencia verde). A partir de estas imágenes no es posible distinguir los gránulos de almidón, ya que luego de la gelificación y el secado perdieron completamente su identidad. Cassiani y col. (2013) Obtuvieron resultados similares con el mismo sistema pero sin secar. El almidón parece rellenar los huecos en la red de proteínas de suero haciendo que la estructura sea más compacta, lo que explicaría la mayor tensión de fractura en muestras que contienen almidón de maíz (figura 3.16 a, b, c).

Con el agregado de polisacáridos de carga neutra como la goma guar (figura 3.18 c, f, i) se observa una microestructura de proteínas no homogénea y similar a las muestras con almidón. Sin embargo, no se observa fluorescencia de la goma guar probablemente debido a su baja concentración

La figura 3.18 (a, d, g) mostró una distribución uniforme de la fluorescencia en muestras que contienen sólo proteínas de lactosuero a todos los pH ensayados. Por el contrario, las muestras que contienen almidón de maíz (b, e, h) o goma guar (c, f, i) exhiben una estructura menos uniforme y más tortuosa a todos los pH ensayados.





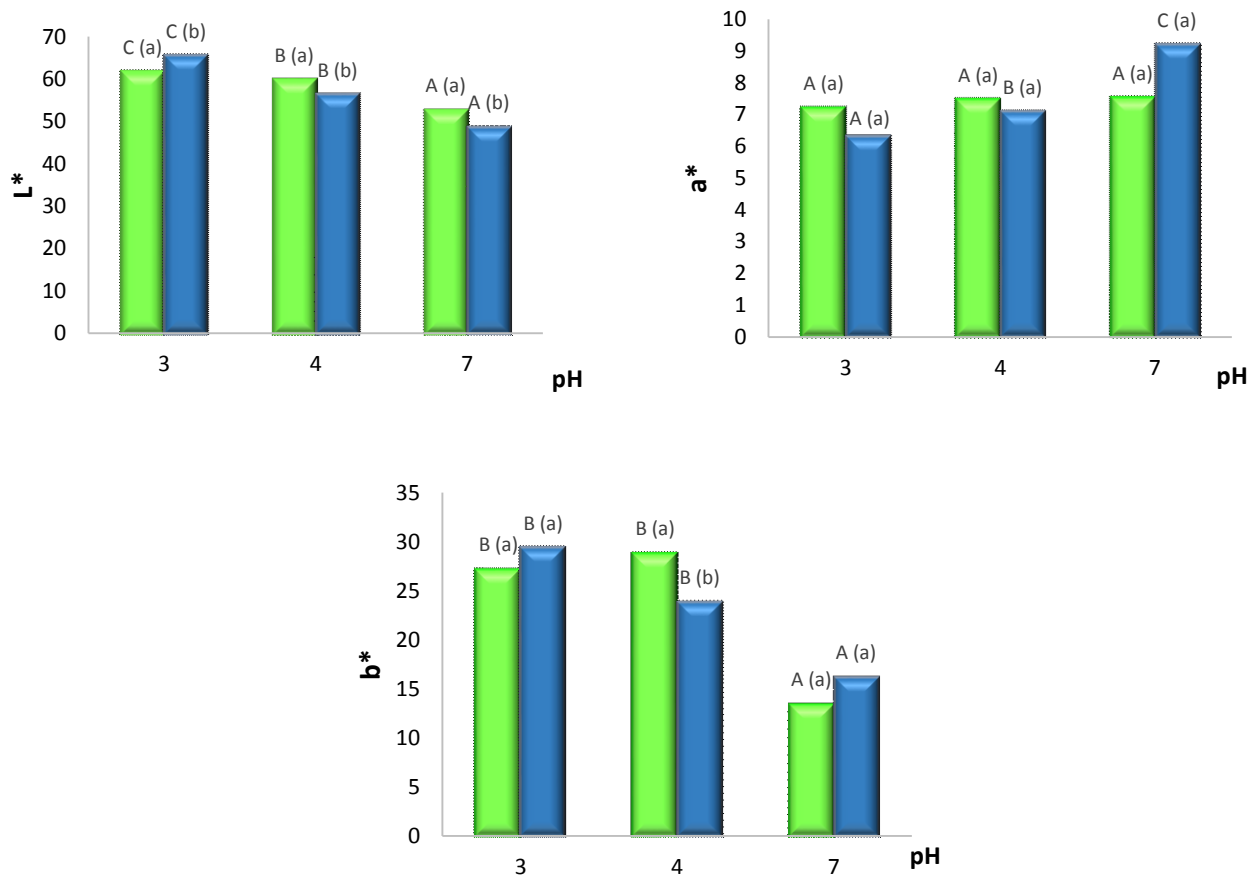
**Figure 3.18.** Microestructura de los snacks observada por microscopía confocal de barrido láser. Las muestras fueron teñidas con rodamina B y FITC. pH: (a, b, c) 3; (d, e, f) 4; (g, h, i) 7. Composición: (a, d, g) sin hidrocoloides, (b, e, h) 5% p/p almidón de maíz, (c, f, i) 1% (p/p) goma guar. El contenido de proteína: 15% (p/p). contenido de miel: 30% (p/p).

### 3.6. Determinación del color de los snacks

El color se puede definir como la sensación que experimenta el observador cuando la energía radiante del espectro visible (380 - 770nm) alcanza la retina del ojo. Las preferencias por el color de los alimentos, por ser éste un factor subjetivo, no son las mismas para cada persona, y varían según las regiones, países o edades (Pedreschi y col., 2005). El



color es un carácter sensorial que a menudo se pasa por alto y, que sin duda, influye en la percepción del sabor y el olor (Solymosi y col., 2015). Por eso el aspecto y color de la superficie de los alimentos es el primer parámetro de calidad evaluado por los consumidores y es crítica en la aceptación del producto, incluso antes de que entre en la boca.



**Figura 3.19.** Parámetros de Hunter: luminosidad (L\*) y cromaticidad (a\* y b\*) de los snacks de CPL y miel en función del pH: 3, 4 y 7, y la composición de hidrocoloides: 5% (p/p) almidón de maíz (barra color verde), 1% (p/p) de goma guar (barra color azul). Las letras distintas (mayúsculas: respecto del pH, minúsculas respecto de la composición) indican diferencias significativas en el test de Fisher con un nivel de significancia de  $\alpha \leq 0,05$ .

En la figura 3.19 se observa que la variación del pH tuvo una marcada influencia sobre el color de los snacks en las formulaciones de 5% almidón y 1% de goma guar. A medida que aumentó el pH de las muestras el valor de  $L^*$  disminuyó, indicando que se hicieron más oscuras. Esta disminución indica que la mayor parte de la luz que pasa a través de la muestra no es reflejada sino que es absorbida, transformándola en menos luminosa. Este resultado podría explicarse teniendo en cuenta que a pH 7 se ven favorecidas las reacciones de Maillard o pardeamiento no enzimático (Yamul, 2008). Resultados similares se obtuvieron al estudiar un sistema de almidón-glucosa-lisina extruido a diferentes valores de pH (Ames y col., 1998). Otros sistemas de azúcar- aminoácidos analizados a diferentes pH también mostraron un aumento en la tasa de pardeamiento (Rodríguez y col., 2011).

También se encontraron diferencias significativas cuando se analizó la variación de  $L^*$  en función de la composición de hidrocoloides a un determinado pH. En la figura 3.19 se observa que los snacks con goma guar fueron más oscuros que los que contienen almidón, excepto a pH 3 donde se observa el efecto contrario. Una explicación para este resultado podría ser que el almidón es un polisacárido no reductor que puede sufrir un cierto grado de hidrólisis cuando se le calienta, especialmente a pHs ácidos, aportando, de este modo, azúcares reductores. De esta manera, durante la gelificación térmica de una dispersión de CPL, miel y almidón a pH 3 se pueden producir azúcares reductores que favorecen las reacciones de pardeamiento no enzimático lo que explicaría el menor valor de  $L^*$  correspondiente a snacks con almidón a pH 3.

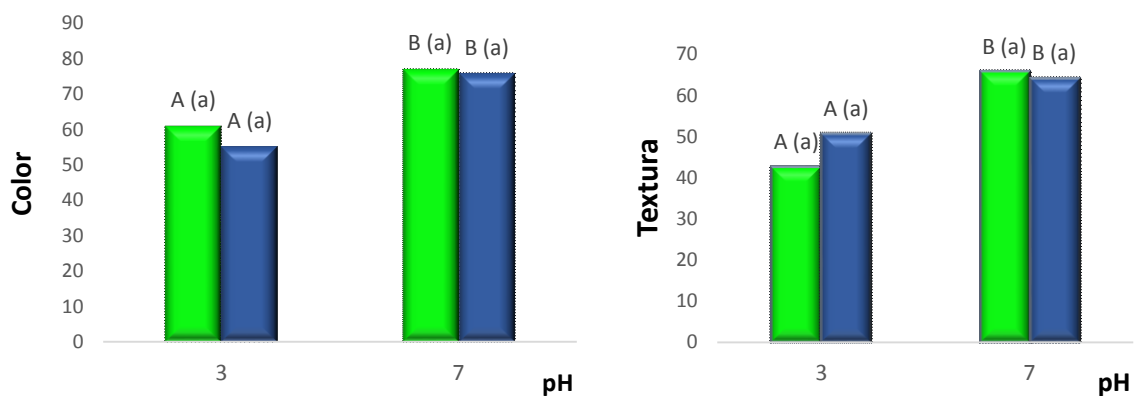
Los resultados con respecto a la cromaticidad  $a^*$ , indican que no existe diferencia significativa para los snacks con contenido de almidón a los tres pHs ensayados; Sin embargo, los snacks con goma guar mostraron un incremento significativo a medida que se incrementó el pH, obteniéndose los productos más rojos a pH neutro. También se observa que no existen diferencias significativas en los valores del parámetro  $a^*$  con la composición a todos los pHs ensayados.

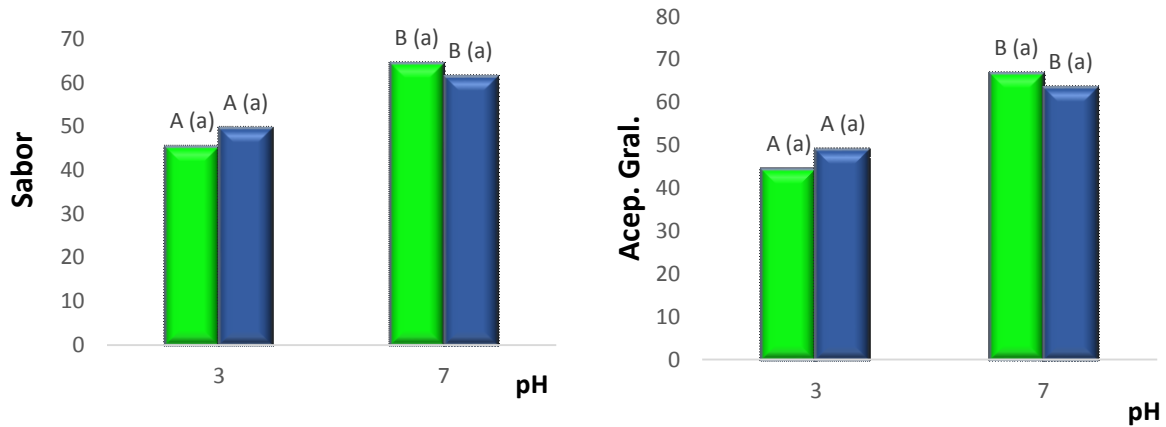
Por otro lado, en la figura anterior se observa que no existen diferencias significativas de la cromaticidad  $b^*$  en snacks preparados a pHs ácidos tanto para almidón como para

goma guar. Sin embargo, los snacks a pH 7 para ambas composiciones fueron menos amarillos que a pH 3 y 4; es decir, que el color generado por la reacción de Maillard enmascaró la tonalidad amarilla de las muestras generada por el contenido de miel. El pH afecta fuertemente la proporción de los aminoácidos en la forma no protonada, y por lo tanto la etapa de condensación inicial de la reacción de Maillard es promovida por el pH más alto, lo que conlleva al desarrollo del color (Ames y col., 1998). Finalmente, se observaron diferencias significativas con respecto a la composición solo en los snacks preparados a pH 4, siendo los que contienen almidón un poco más amarillos que los de goma guar.

### 3.7. Evaluación sensorial

El análisis sensorial evalúa las propiedades organolépticas de los productos; es decir, todo lo que se puede percibir por los sentidos y determinar su aceptación por el consumidor (Barda, 2011). Con el fin de no cansar y confundir al evaluador con demasiadas muestras se seleccionaron aquellos snacks de pH 3 y 7 por ser las más representativas con respecto a sus características sensoriales. En una pre-evaluación los snacks de pH 4 fueron descartados por ser sensorialmente similares a los de pH 3. Los resultados de los cuatro atributos sensoriales evaluados se muestran en la figura 3.20.





**Figura 3.20** .Resultados de la evaluación sensorial para los parámetros de color, textura, sabor y aceptabilidad general de los snacks CPL y 30% (p/p) miel con: 5% (p/p) almidón de maíz (barra color verde); 1% (p/p) de goma guar (barra color azul). Las letras distintas (mayúsculas: respecto del pH, minúsculas respecto de la composición) indican diferencias en un test de Fisher con un nivel de significancia de  $\alpha \leq 0,05$ .

Los resultados muestran que los panelistas se inclinaron por el color de los snacks a pH 7, tanto en las muestras formuladas con almidón como las que contenían goma guar. Como se discutió anteriormente en el ítem 3.6, a pH 7 se ve favorecida la reacción de Maillard, dando como resultado unos snacks de color pardo - marrón, muy parecido al color del dulce de leche. El color del dulce de leche juega un rol preponderante en la evaluación de la calidad comercial y aceptación por parte de los consumidores (Pedreschi y col., 2005).

Al comparar el color de las dos formulaciones (almidón y goma guar) de los snacks a un mismo pH, no se observaron diferencias significativas en éste atributo a todos los pHs ensayados.

El atributo textura también presentó una marcada diferencia en la preferencia de los snacks a pH 7 con respecto a los snacks a pH 3 para las formulaciones evaluadas. Esto puede deberse a que los snacks a este pH son más elásticos (debido a las reacciones de intercambio sulfhidrilo - disulfuro) haciendo que sea agradable al ser masticado.

Al igual que el color, los panelistas no encontraron diferencias significativas en la textura de los snacks para un mismo pH, esto quiere decir que la textura de los snacks con

almidón no es significativamente distinta a la textura de los snacks con goma guar. Pedreschi y col. (2005) encontraron que para el consumidor el color y la textura de los chips de papas eran más importantes que el sabor.

En el sabor se observó la misma tendencia que los dos parámetros anteriores, el mayor porcentaje de los panelistas prefirieron el sabor de los snacks a pH 7 por sobre los de pH 3 para ambas formulaciones, esto puede deberse a que el sabor ácido enmascara el sabor dulce y agradable de la miel. El sabor neutro de los snacks de pH 7 hace que el sabor dulce de la miel resalte. En términos generales los snacks que mostraron mayor aceptabilidad fueron los de pH 7 para ambas formulaciones (almidón y goma guar); sin embargo, no hubo una diferencia marcada a favor de una formulación u otra a un mismo pH.

# CONCLUSIONES



Las conclusiones más importantes de este trabajo de tesis fueron:

El contenido de humedad se ve afectado por el pH y el contenido de miel en los snacks de CPL, siendo los snacks formulados con 0% de miel y pH 3 los que presentaron el mayor contenido de humedad.

Los geles formados en condiciones ácidas son estabilizados por enlaces no covalentes, estableciendo una estructura débil y quebradiza, lo que favorece la evaporación del agua en los snacks con un pH 3 en comparación con los otros valores. Además, los valores de  $a_w$  obtenidos para los snacks ácidos fueron más bajos en comparación con el de pH 7.

Con respecto al modelado matemático, el ajuste de la ecuación placa plana a los datos experimentales fue satisfactoria. En relación al  $D_{eff}$ , se observó que los valores obtenidos se encontraron dentro del rango reportado por otros autores quienes estudiaron el secado de diferentes matrices gelificadas.

Las formulaciones de los snacks con los hidrocoloides pectina y goma xántica no permitieron mejorar la textura quebradiza y porosa observados en los snacks sin aditivos durante el secado.

Las reacciones de Maillard juegan un papel importante en la determinación del color de los snacks a pH 7. Además, los snacks que contenían goma guar eran más oscuros que los snacks que contenían almidón de maíz. El efecto de la composición (almidón de maíz o goma de guar) no fue significativa en el color rojo ( $a^*$ ) y la tonalidad amarilla ( $b^*$ ), a excepción de los snacks a pH 4.

El tiempo de almacenamiento afectó las características de textura del producto, principalmente el endurecimiento. Además, los snacks que contenían almidón de maíz resultaron más duros que las que contienen goma guar. El pH también tuvo un efecto sobre la textura, siendo los snacks a pH 7 más rígidos que los snacks ácidos. Por otra parte, la goma guar hace que el producto sea menos friable con características gomosas.

Las variaciones de las propiedades estructurales fueron confirmadas por la observación de la microestructura mediante microscopía óptica y confocal. Los resultados indicaron que la adición de almidón de maíz o goma guar hizo la estructura más resistente.

Se observó una buena aceptación sensorial especialmente en los snack a pH 7 y no se encontraron diferencias significativas en las propiedades sensoriales utilizando almidón de maíz o goma guar.

Los resultados demuestran que es posible generar un nuevo producto con propiedades funcionales únicas, que pueden abrir nuevas aplicaciones para la miel y suero de leche en formulaciones de alimentos.



# ANEXOS



**Prueba de aceptabilidad "SNACKS DULCES"**

Apellido y nombre:..... Evaluador N°:.....

Usted recibirá 4 muestras ordenadas al azar y codificadas con números de 3 dígitos. Evalúelas, marcando con una cruz sobre la escala, color, sabor, textura y aceptabilidad general.

**Muestra N° 586**

	Me disgusta mucho				Me es indiferente				Me gusta mucho	
Color	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sabor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Textura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aceptabilidad general	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Muestra N° 848**

	Me disgusta mucho				Me es indiferente				Me gusta mucho	
Color	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sabor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Textura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aceptabilidad general	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Muestra N° 278**

	Me disgusta mucho				Me es indiferente				Me gusta mucho	
Color	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sabor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Textura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aceptabilidad general	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Muestra N° 168**

	Me disgusta mucho				Me es indiferente				Me gusta mucho	
Color	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sabor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Textura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aceptabilidad general	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Figura 4.1. Planilla de evaluación prueba de aceptabilidad.

# REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



- Aguilera, J.M. (1995). Gelation of whey proteins: Chemical and rheological changes during phase transition in food. *Food technology*, 49(10), 83-89.
- Aider, M., de Halleux, D., Melnikova, I. (2009). Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(3), 334-341.
- Akhtar, M., Dickinson, E. (2007). Whey protein–maltodextrin conjugates as emulsifying agents: an alternative to gum arabic. *Food Hydrocolloids*, 21(4), 607-616.
- Allende. Argentina con tendencia hacia abajo en los últimos años. (Diciembre de 2015). El apicultor, p. 15.
- Ames, J. M., Bates, L., MacDougall, D. B., Taylor, P. C. (1998). Laboratory reaction cell to model Maillard color development in a starch-glucose-lysine system. *Journal of food science-Chicago*, 63, 991-996.
- Anandharamakrishnan, C., Rielly, C.D., Stapley, A.G.F. (2008). Loss of solubility of  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin during the spray drying of whey proteins. *LWT - Food Science and Technology*, 41(2), 270-277.
- AOCS Official Method Ac 2-41. Moisture and volatile matter. Reapproved 1997. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. AOCS Press, United State of America.
- Armstrong, G., Farley, H., Gray, J., Durkin, M. (2005), "Marketing health-enhancing foods: implications from the dairy sector", *Marketing Intelligence & Planning*. 23(7), 705-19.
- Arrabal, M.V., Ciappini, M.C. (2000). "Prueba de aceptabilidad de la miel." *Invenio* 3: 141-147.
- Baier, S.K., Guthrie, B. D., Elmore, D. L., Smith, S. A., Lendon, C. A., Muroski, A. R., Aimutis, W. (2007). Influence of extrusion on protein conformation and shelf-life extension of nutritional bars. Paper presented at the international symposium on the properties of water X, 2–7 September, Bangkok, Thailand.

- Baier, S., McClements, D. J. (2001). Impact of preferential interactions on thermal stability and gelation of bovine serum albumin in aqueous sucrose solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2600-2608.
- Baker, H.G., Baker, I. (1982). Chemical constituents of nectar in relation to pollination mechanisms and phylogeny. *Biochemical aspects of evolutionary biology*, 131-171.
- Baldi Coronel, B (2010). La miel. Una mirada científica.
- Ball, D.W. (2007). The Chemical Composition of Honey. *Journal of Chemical Education*, 84(10), 1643-1646.
- Baltsavias, A., Jurgens, A., Vliet, T.V. (1997). "Factors affecting fracture properties of short-dough biscuits." *Journal of Texture Studies* 28(2): 205-219.
- Banga, J.R., Singh, R.P. (1994). Optimization of air drying of foods. *Journal of Food Engineering*, 23(2), 189-211.
- Barbut, S., Foegeding, E.A. (1993). Ca<sup>2+</sup>-induced gelation of pre-heated whey protein isolate. *J. Food Sci.*, 58, 867- 871.
- Barda, N. (2011). Análisis sensorial de los alimentos. Disponible en [<http://www.biblioteca.org.ar/libros/210470.pdf>]
- BeMiller, J.N. (2001). Classification, structure, and chemistry of polysaccharides of foods. *food science and technology-new york-marcel dekker*, 603-612.
- BeMiller, J.N., Whistler, R.L. (1996). Carbohydrates. In: Fennema, O.R. (Ed.), *Food Chemistry*, third ed. Marcel Dekker, New York, 157 - 223.
- Beveridge, T., Jones, L., Tung, M.A. (1984). Progel and gel formation and reversibility of gelation of whey, soybean, and albumen protein gels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(2), 307-313.
- Bhandari, B., D'Arcy, B., Kelly, C. (1999). Rheology and crystallization kinetics of honey: Present status. *International Journal of Food Properties*, 2(3), 217-226.

- Blengino, C. (2014). Revista Alimentos Argentinos. Sector Apícola 2014, [http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/otros/apicola/informes/2014.pdf]
- Bounous, G. (2000). Whey protein concentrate and glutathione modulation in cancer treatment. *Anticancer Res.* 20, 4785–4792.
- Boyde, A. (1988). Confocal optical microscopy. *Microscopy and analysis*, Enero, pp 7-13.
- Brody, E.P. (2000). Biological activities of bovine glycomacropeptide. *British Journal of Nutrition*, 84, 39-46.
- Capitani, C., Perez O., Bertoldo Pacheco M., Pilosof, A. (2007). Influence of complexing carboxymethylcellulose on the thermostability and gelation of  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin. *Food Hydrocolloids*, 21, 1344-1354.
- Charley, H. (1982). *Food Science*: 2nd ed, Jhon Wiley and Sons , New York.
- Chavez-Jauregui, R.N., Cardoso-Santiago, R.A., Pinot, E., Silva, M.E.M., Areas, J.A.G. (2003). Acceptability of snacks produced by the extrusion of amaranth and blends of chickpea and bovine lung. *Int. J. Food Sci. Technol.* 38, 795–798.
- Chudzikowski, R.J. (1971). Guar gum and its applications. *J Soc Cosmet Chem*, 22, 43-60.
- Cassiani, D.M., Yamul, D.K., Conforti, P.A., Pérez, V.A., Lupano, C.E. (2013). Structure and functionality of whey protein concentrate based products with different water contents. *Food and Bioprocess Technology*, 6 (1), 217-227.
- Castells, M., Marin, S., Sanchis, V., Ramos, A.J. (2005). Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: a review. *Food Additives and Contamination*, 22, 150–157.
- Chirife, J., Zamora, M. C., Motto, A. (2006). The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of Food Engineering*, 72(3), 287-292.
- Clark, A.H. (1992). Gels and gelling. *Physical chemistry of foods*, 7, 263-305.

- Clark, A.H., Ross-Murphy, S.B. (1987). Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Adv. Polymer Sci.*, 83, 57-192.
- Código Alimentario Argentino. Capítulo 8: Alimentos lácteos. Artículo 582 (Res 879, 5.6.85).
- Código Alimentario Argentino. Capítulo 10: Alimentos azucarados. Artículo 782 - (Res 2256, 16.12.85).
- Conforti, F.D., Strait, M.J. (1999). The effects of liquid honey as a partial substitute for sugar on the physical and sensory qualities of a fat-reduced muffin. *Journal of Consumer Studies & Home Economics*, 23(4), 231-237.
- Costell, E. (1988). Expectativas del consumidor desde el punto de vista sensorial. *Alimentos* 13 (1):63-67.
- Crane, E., Walker, P. (1985). Important honeydew sources and their honeys. *Bee World*, 66(3), 105-112.
- Crank, J. (1975). *The Mathematics of Diffusion: 2d Ed.* Clarendon Press.
- Colsenet, R., Söderman, O., Mariette, F. (2006a). Effects of ionic strength and denaturation time on polyethyleneglycol self-diffusion in whey protein solutions and gels visualized by nuclear magnetic resonance. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(14), 5105-5112.
- Colsenet, R., Söderman, O., Mariette, F. (2006b). Pulsed field gradient NMR study of poly (ethylene glycol) diffusion in whey protein solutions and gels. *Macromolecules*, 39(3), 1053-1059.
- Croguennoc, P., Nicolai, T., Kuil, M. E., Hollander, J. G. (2001). Self-diffusion of native proteins and dextran in heat-set globular protein gels. *The Journal of Physical Chemistry B*, 105(24), 5782-5788.
- Corradini, M.G., Peleg, M. (2008). In: Solid food foams. In: Aguilera, J.M., Lillford, P.J. (Eds.), *Food Material Science: Principles and Practice*. Springer, New York.

- Dannenbergh, F., Kessler, H.G. (1988). Reaction kinetics of the denaturation of whey proteins in milk. *Journal of Food Science*, 53(1), 258-263.
- Darby, W.J., Ghalioungui, P., Grivetti, L. (1977). Food: the Gift of Osiris Academic Press. New York.
- de Jong, S., Van de Velde, F. (2007). Charge density of polysaccharide controls microstructure and large deformation properties of mixed gels. *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1172-1187.
- de Juan Herrero, J. (2011). Practica Nº1: fundamentos y manejo del microscopio óptico compuesto común. Departament de Biotecnologia, Universitat d'Alacant. 1-16.[<http://www.juanluismorales.es/wp-content/uploads/downloads/2011/10/Microscopio.pdf>].
- de Kruif, C.G., Tuinier, R. (2001). Polysaccharide protein interactions. *Food hydrocolloids*, 15(4), 555-563.
- de Wit, J.N., Klarenbeek, G. (1984). Effects of Various Heat Treatments on Structure and Solubility of Whey Proteins. *Journal of Dairy Science*, 67(11), 2701-2710.
- de Wit, J.N., Fox, P.F. (1989). Functional properties of whey proteins. *Developments in dairy chemistry. 4. Functional milk proteins.*, 285-321.
- Díaz, O., Pereira, C.D., Cobos, A. (2004). Functional properties of ovine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese manufacture by-products. *Food Hydrocolloids*, 18(4), 601-610.
- Dickinson, E., Miller, R.B.R., Pilonis, M.R. (2001). Mixed biopolymer gel systems of  $\beta$ -lactoglobulin and non-gelling gums. *Food Colloids-Fundamental of Formulation. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry*, 392-403.
- Dierckx, S., Huyghebaert, A. (2002). Effects of sucrose and sorbitol on the gel formation of a whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 16(5), 489-497.



- Doi, E. (1993). Gels and gelling of globular proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 4(1), 1-5.
- Donovan, M., Mulvihill, D.M. (1987a). Effects of chemical modification and sodium dodecyl sulphate binding on the thermostability of whey proteins. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 11, 77-85.
- Donovan, M., Mulvihill, D.M. (1987b). Thermal denaturation and aggregation of whey proteins. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 11, 87-100.
- Elentrerios. (2015). Snacks: Una firma entrerriana se abre paso en el mercado. <http://www.elentrerios.com/economia/snacks-una-firma-entrerriana-se-abre-paso-en-el-mercado.htm> [lunes 2 de noviembre de 2015].
- el federal. (2014). Latinoamérica come mal: creció el consumo de snacks. Disponible en <http://elfederal.com.ar/nota/revista/26199/latinoamerica-come-mal-crecio-el-consumo-de-snacks> [Consultado Mayo 01, 2016].
- Ercelebi, E.A., Ibanoglu, E. (2007). Influence of hydrocolloids on phase separation and emulsion properties of whey protein isolate. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 454-459.
- exportar.org.ar [[http://www.exportar.org.ar/comunicaciones\\_noticias\\_detalle.php?idn=556](http://www.exportar.org.ar/comunicaciones_noticias_detalle.php?idn=556)].
- FAOSTAT. 2014. Estadísticas. <http://faostat3.fao.org/home/index.html>. [19 de agosto de 2014].
- Ferry, J.D. (1948). Protein gels. *Advances in protein chemistry*, 4, 1-5.
- Flett, K. L., Corredig, M. (2009). Whey protein aggregate formation during heating in the presence of  $\kappa$ -carrageenan. *Food chemistry*, 115(4), 1479-1485.
- Foegeding, E., Luck, P. (2002). Whey protein products. *Encyclopedia of Foods Sciences and Nutrition*. Academic Press, New York, 1957-1960.

- Funami, T., Kataoka, Y., Omoto, T., Goto, Y., Asai, I., Nishinari, K. (2005). Food hydrocolloids control the gelatinization and retrogradation behavior of starch. 2a. Functions of guar gums with different molecular weights on the gelatinization behavior of corn starch. *Food Hydrocolloids*, 19(1), 15-24.
- Fuselli, S.R., Filsinger, B., Fritz, R., Yeannes, M.I. (2004). Estudio microbiológico de ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.) deshidratados. *Revista argentina de microbiología*, 36(3), 139-144.
- García-Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J.A., Gómez, E. (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, 18(7), 549-579.
- Garti, N., Leser, M. (2001). Emulsification properties of hydrocolloids. *Polymers for advanced Technologies*, 12(1-2), 123-135.
- Garza, S., Ibarz, A., Pagan, J., Giner, J. (1999). Non-enzymatic browning in peach puree during heating. *Food Research International*, 32, 335-343.
- Gastón, A.L., Abalone, R.M., Giner, S.A. (2002). Wheat drying kinetics. Diffusivities for sphere and ellipsoid by finite elements. *Journal of Food Engineering*, 52(4), 313-322.
- Genin, N., René, F. (1995). Analyse du Rôle de la transition vitreuse dans les procédés de conservation agroalimentaires. *Journal of Food Engineering*, 26, 391-408.
- Gilbert, O., Rakshit, S.K. (2005). Cassava starch snack formulation using functional shellfish by-products: Mechanical, sorption and geometric properties. *J. Sci. Food Agric.* 85, 1938–1946.
- Glicksman, M. (1982). *Chapter 15: Food applications of gums*. In D. R. Lineback, & G. E. Inglett (Eds.), *Food carbohydrates* (pp. 270–295). Westport, CT: AVI Publishing Co.
- Graham, J.M. (1992). *The hive and the honey bee*: Dadant & Sons.
- Guerrero, J.R., Ramirez, A.L., Puentes, W. (2011). Caracterización del suero de queso blanco del combinado lácteo Santiago. *Tecnología Química*, 31(3), 93-100.

- González C., Becerra, M., Cháfer, M., Albors, A., Carot, J.M., Chiralt, A. (2002). Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. *Trends in Food Science & Technology*, 13(9–10), 334-340.
- Götz, J., Zick, K., Hinrichs, R., & Weisser, H. (2004). Characterisation of carrageenan and whey protein gels using NMR PGSTE diffusion experiments. *European Food Research and Technology*, 218(4), 323-332.
- Havck, B.W., Huber, G.R. (1989). Single screw vs twin screw extrusion. *The American Association of Cereal Chemists*, 34, 930– 939.
- Hermansson, A.M. (1979). Aggregation and denaturation involved in gel formation-Chapter 5 *Functionality and protein structure* (pp. 81-103).
- Hillier, RM., Lyster, R.L.J., Cheeseman, G.C. (1980) Gelation of Reconstituted Whey Powders by Heat. *J. Sci. Food Agric.*, 31, 1152-1157.
- Houska, M., Valentova, H., Novotna, P., Strohalm, J., Sestak, J., Pokorny, J. (1998). Shear rates during oral and nonoral perception of viscosity of fluid foods. *Journal of texture studies*, 29(6), 603-615.
- Hudson, H.M., Daubert, C.R., Foegeding, E.A, (2000). Rheological and Physical Properties of Derivatized Whey Protein Isolate Powders. *J. Agric. Food Chem*, 48, 3112–3119.
- INFOCAMPO. (2013). <http://infocampo.com.ar/nota/campo/43821/para-el-inti-el-aprovechamiento-del-suero-ofrece-ahorros-ambientales> [02 de mayo de 2013]
- INTI-Entre Ríos, (2011). ¿Por qué consumir la miel? [[http://www.inti.gob.ar/entrierios/pdf/Porque\\_consumir\\_miel.pdf](http://www.inti.gob.ar/entrierios/pdf/Porque_consumir_miel.pdf)]
- Irzyniec, Z., Klimczak, J., Michalowski, S. (1995). Freeze – drying of the black currant juice. *Drying Technology*, 13 (1,2), 417-424.
- Jacobs, M.B. (1995). Am. Perf. Essent. *Oil Rev.*, 66, 46.

- Jaya Shankar, T., Bandyopadhyay, S. (2005). Process variable process variables during single-screw extrusion of fish and rice-flour blends. *J. Food Process. Preserv.* 29, 151–164.
- Jelen, P. (2003). Whey processing: utilization and products. *Encyclopedia of Dairy Sciences. Academic Press, London, UK. pp, 2739-2745.*
- Jong, S.K.J., Van de Velde, F. (2009). The mechanism behind microstructure formation in mixed whey protein-polysaccharide cold set gels. *Food Hydrocolloids*, 23, 755-764.
- Khan T., Park J.K., Kwon J.H. (2007). Functional biopolymers produced by biochemical technology considering applications in food engineering. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 24, 816-826.
- Kamath, G.G., Lanier, T.C., Foegeding, E.A., Hamann, D.D. (1992). Nondisulfide covalent cross-linking of myosin heavy chain in “setting” of alaska pollock and atlantic croaker surimi1. *Journal of Food Biochemistry*, 16(3), 151-172.
- Katsuta, K., Kinsella, J.E. (1990). Effects of temperature on viscoelastic properties and activation energies of whey protein gels. *Journal of Food Science*, 55(5), 1296-1302.
- Kays, S.E., Morris, J.B., Kim, Y. (2006). Total and soluble dietary fiber variation in cyamopsis tetragonoloba (L.) Taub.(guar) genotypes. *Journal of food quality*, 29(4), 383-391.
- Kazumoto, H., Tetsuo, S. (1988). Gel-forming characteristics of milk proteins. 2. roles of sulfhydryl groups and disulfide bonds. *J. Dairy Sci.*, 71, 1447-1454.
- Kella, N.K.D., Kinsella, J.E. (1988). Structural stability of  $\beta$ -lactoglobulin in the presence of kosmotropic salts A kinetic and thermodynamic study. *International Journal of Peptide and Protein Research*, 32(5), 396-405.
- Kinsella, J.E., Melachouris, N. (1976). Functional properties of proteins in foods: a survey. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 7(3), 219-280.
- Kiranoudis, C.T., Maroulis, Z.B., Tsami, E., Marinos, D. (1997). Drying kinetics of some fruits. *Drying Technology*, 15(5), 1399–1418.

- Kreczmann, B., Alonso, A., Liloia, M., Zamboni, E., Cerutti, R., Baroni, D., Poluján D. (2015). Procesamiento del lactosuero: elaboración de lactosa y aprovechamiento de proteínas, *Revista Tecnología Lactea Latinoamericana*. Vol.87, 44-49.
- Kuhn, P.R., Foegeding, E.A. (1991a). Factors influencing whey protein gel rheology: dialysis and calcium chelation. *Journal of food science*, 56(3), 789-791.
- Kuhn, P.R., Foegeding, E.A. (1991b). Mineral salt effects on whey protein gelation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(6), 1013-1016.
- Laneuville, S.I., Paquin, P., Turgeon, S.L. (2000). Effect of preparation conditions on the characteristics of whey protein—xanthan gum complexes. *Food Hydrocolloids*, 14(4), 305-314.
- Layman, D. (2003). A reduced ratio of dietary carbohydrate to protein improves body composition and blood lipid profile during weight loss in adult women. *J. Nutr.* 133, 252–256.
- Lechería Latina. (2014). <http://lecherialatina.com/noticias/colombia-el-suero-de-leche-un-desecho-convertido-en-mana-49058/> [06 de noviembre de 2014].
- Lee, S.O., Min, J.S., Kim, I.S., Lee, M. (2003). Physical evaluation of popped cereal snacks with spent hen meat. *Meat Sci.* 64, 383–390.
- Díaz, E. L., Giannuzzi, L., & Giner, S. A. (2009). Apple pectic gel produced by dehydration. *Food and Bioprocess Technology*, 2(2), 194-207.
- Lewicki, P.P. (2006). Design of hot air drying for better foods. *Trends in Food Science & Technology*, 17(4), 153-163.
- Li, J.Y., Yeh, A.I., Fan, K.L. (2007). Gelation characteristics and morphology of corn starch/soy protein concentrate composites during heating. *Journal of food engineering*, 78(4), 1240-1247.

- Lindeboom, N., Chang, P.R., Tyler, R.T. (2004). Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. *Starch-Starke*, 56(3), 89-99.
- Liu, X., Chung, Y.K., Yang, S.T., Yousef, A.E. (2005). Continuous nisin production in laboratory media and whey permeate by immobilized *Lactococcus lactis*. *Process Biochemistry*, 40(1), 13-24.
- Londoño, M. (2006). Aprovechamiento del suero ácido de queso doble crema para la elaboración de quesillo utilizando tres métodos de complementación de acidez con tres ácidos orgánicos. . *Perspectivas en Nutrición Humana, Escuela de Nutrición y Dietética-Universidad de Antioquia* 16, 11-20.
- Londoño, M., Sepúlveda, J., Hernández, A., Parra, J. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. *Revista Facultad Nacional Agronomía Medellín*, 61(1), 4409-4421.
- Loveday, S., Hindmarsh, J., Creamer, L., Singh, H. (2009). Physicochemical changes in a model protein bar during storage. *Food Research International*, 42, 798–806.
- Luhovyy, B.L., Akhavan, T., Anderson, G.H. (2007). Whey Proteins in the Regulation of Food Intake and Satiety. *Journal of the American College of Nutrition*, 26(6), 704S-712S.
- Lupano, C. (2000 a). Some aspects on gelling properties of whey proteins in acidic conditions. En *Research Advances in Agricultural and Food Chemistry, Vol. 1* (pp. 93-100). Kerala, India: Global Research Network.
- Lupano, C. (2000 b). Gelation of mixed systems whey protein concentrate-gluten in acidic conditions. *Food Research International*, 33, 691-696.
- Lupano, C., González, S. (1999). Gelation of whey protein concentrate-cassava starch in acidic conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 918-923.

- Mabellini, A., Vullioud, M.B., Márquez, C.A., Michelis, A.D. (2010). Kinetic drying experimental data and mathematical model for sweet cherries (*Prunus avium*). *Journal of food process engineering*, 33(6), 1115-1128.
- Mandala, I. G., Sotirakoglou, K. (2005). Effect of frozen storage and microwave reheating on some physical attributes of fresh bread containing hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 19, 709–719.
- Mangino, M.E. (1992a). Gelation of whey protein concentrates. *Food technology (USA)*, 1, 114-117.
- Mangino, M.E. (1992b). Properties of whey protein concentrates *Whey and lactose processing* (pp. 231-270): Springer.
- Manley, D. (2011). Classification of biscuits. In D. Manley (Ed.), *Manley's technology of biscuits, crackers and cookies* (pp. 271e278). Cambridge: Woodhead Publishing.
- Marshall, S.C. (1991). Casein macropeptide from whey: a new product opportunity. *CSIRO Food Research Quarterly*, 51(1y2).
- Martínez, A. (2013). "Microscopía confocal. Servicio de proceso de imágenes." Universidad de Oviedo.
- Martinez, S. (2009). Memorias del seminario de "Lactosuero el gran alimento. Beneficios en Nutrición y Tecnologías para su Utilizacion". *Centro Tecnológico Lácteo de Galicia*.
- Matsudomi, N., Oshita, T., Kobayashi, K. (1994). Synergistic interaction between S-lactoglobulin and bovine serum albumin in heat-induced gelation. *J. Dairy Sci.*, 77, 1487-1493.
- Matsudomi, N., Rector, D., Kinsella, J.E. (1991). Gelation of bovine serum albumin and  $\beta$ -lactoglobulin; effects of pH, salts and thiol reagents. *Food Chemistry*, 40(1), 55-69.
- McMahon, D., Adams, S., McManus, W. (2009). Hardening of High-Protein Nutrition Bars and Sugar/Polyol–Protein Phase Separation. *Journal of Food Science*, 74 (6), 312-321.

- McSwiney, M., Singh, H., Campanella, O. (1994). Thermal aggregation and gelation of bovine  $\beta$ -lactoglobulin. *Food Hydrocolloids*, 8(5), 441-453.
- McSwiney, M., Singh, H., Campanella, O., Creamer, L.K. (1994). Thermal gelation and denaturation of bovine  $\beta$ -lactoglobulins A and B. *Journal of Dairy Research*, 61(02), 221-232.
- Mesallam, A.S., El-Shaarawy, M.I. (1987). Quality attributes of honey in Saudi Arabia. *Food Chemistry*, 25(1), 1-11.
- Métais, A., Cambert, M., Riaublanc, A., & Mariette, F. (2006). Influence of fat globule membrane composition on water holding capacity and water mobility in casein rennet gel: A nuclear magnetic resonance self-diffusion and relaxation study. *International dairy journal*, 16(4), 344-353.
- Metsämuuronen, S., Nyström, M. (2009). Enrichment of  $\alpha$ -lactalbumin from diluted whey with polymeric ultrafiltration membranes. *Journal of Membrane Science*, 337(1-2), 248-256.
- Meza, B.E., Verdini, R.A., Rubiolo, A.C. (2009). Viscoelastic behaviour of heat-treated whey protein concentrate suspensions. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 661-666.
- Miller, G.D. (2000). Benefits of dairy product consumption on blood pressure in humans: A summary of the biomedical literature. *J. Am. Coll. Nutr.* 19, 147-164.
- Modler, H.W. (1985). Functional Properties of Nonfat Dairy Ingredients — A Review. Modification of Lactose and Products Containing Whey Proteins<sup>1,2</sup>. *Journal of Dairy Science*, 68(9), 2206-2214.
- Moore, G. (1994). Snack food extrusion. In *The technology of extrusion cooking* (pp. 110-143). Springer US.
- Moreira, R., Chenlo, F., Torres, M.D. (2009). Simplified algorithm for the prediction of water sorption isotherms of fruits, vegetables and legumes based upon chemical composition. *Journal of Food Engineering*, 94, 334-343.



- Morley, R.G. (1984). Utilisation of hydrocolloids in formulated foods. *Gums and Stabilisers for the food Industry*. Pergamon Press. Oxford, 2, 211-239.
- Morr, C.V., Ha, E.Y.W. (1993). Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), 431-476.
- Morris, E.R. (1990). Mixed polymer gels *Food gels* (pp. 291-359): Springer.
- Morris, J.B. (2010). Morphological and reproductive characterization of guar (Cyamopsis tetragonoloba) genetic resources regenerated in Georgia, USA. *Genetic resources and crop evolution*, 57(7), 985-993.
- Mudgil, D., Barak, S., Khatkar, B. (2014). Guar gum: processing, properties and food applications—A Review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(3), 409-418.
- Mulvihill, D., Donovan, M. (1987). Whey proteins and their thermal denaturation—a review. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 11(1), 43-75.
- Mulvihill, D.M., Kinsella, J.E. (1987). Gelation characteristics of whey proteins and P-lactoglobulin. *Food Technol.* 41(9), 102-111.
- Mulvihill, D.M., Kinsella, J.E. (1988). Gelation of  $\beta$ -Lactoglobulin: Effects of Sodium Chloride and Calcium Chloride on the Rheological and Structural Properties of Gels. *Journal of Food Science*, 53(1), 231-236.
- Muñi, A., Páez, G., Farias, J.F., Ferrer, J.R., Ramones, E. (2005). Eficiencia de un sistema de ultrafiltración/nanofiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración del lactosuero. *Revista Científica*, 15(4), 361–367.
- Narres L., Shailaja U. (2010). Mezcla de Estabilizantes y su Importancia en la Industria del Helado, *Revista mundo Lácteo y Cárnico*, 14-18.
- Nicorescu, I., Loisel, C., Riaublanc, A., Vial, C., Djelveh, G., Cuvelier, G., Legrand, J. (2009). Effect of dynamic heat treatment on the physical properties of whey protein foams. *Food Hydrocolloids*, 23(4), 1209-1219.

- Onwulata, C.I., Konstance, R.P., Smith, P.W., Holsinger, V.H. (2001). Co-extrusion of dietary fiber and milk proteins in expanded corn products. *LWT Food Sci Technol.* 34, 424–429.
- Orosco N. (2012). Memoirs Food Technology Summit y Expo Mexico. México.
- Osés, J., Fabregat-Vázquez, M., Pedroza-Islas, R., Tomás, S. A., Cruz-Orea, A., & Maté, J. I. (2009). Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum. *Journal of Food Engineering*, 92(1), 56-62.
- Osman, E.M. (1975). Interaction of starch with other components of food systems. *Food technology*, 29(4), 30-35.
- Panesar, P.S., Kennedy, J.F., Gandhi, D.N., Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, 105(1), 1-14.
- Parija, S., Misra, M., Mohanty, A.K. (2001). Studies of natural gum adhesive extracts: an overview. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 41(3), 175-197.
- Parra Huertas, R.A. (2009). "Lactosuero: importancia en la industria de alimentos." *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 62.1: 4967-4982.
- Paulsson, M. Dejmek, P. (1990). Thermal denaturation of whey proteins in mixtures with caseins studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Dairy Science*, 73(3), 590-600.
- Paulsson, M., Hegg, P.O., Castberg, H. (1986). Heat-Induced Gelation of Individual Whey Proteins A Dynamic Rheological Study. *Journal of Food Science*, 51(1), 87-90.
- Pedreschi, F., Moyano, P., Kaack, K., Granby, K. (2005). Color changes and acrylamide formation in fried potato slices. *Food Research International*, 38(1), 1-9.
- Pelegrine, D.H.G., Gasparetto, C.A. (2005). Whey proteins solubility as function of temperature and pH. *LWT-Food Science and Technology*, 38(1), 77-80.

- Pentoś, K., Łuczycka, D., Pruski, K. (2014). Investigation of the impact of water content and activity on electric properties of honey with the use of neural networks. *Agricultural Engineering*, 1(149), 165-173.
- Perea-Flores, M.J., Garibay-Febles, V., Chanona-Perez, J.J., Calderon-Dominguez, G., Mendez-Mendez, J.V., Palacios-González, E., Gutierrez-Lopez, G.F. (2012). Mathematical modelling of castor oil seeds (*Ricinus communis*) drying kinetics in fluidized bed at high temperatures. *Industrial Crops and Products*, 38, 64-71.
- Phillips, G.O., Williams, P.A. (2009). *Handbook of hydrocolloids*: Elsevier.
- Piazza, L., Masi, P. (1997). "Development of Crispness in Cookies During Baking in an Industrial Oven." *Cereal Chemistry Journal* 74(2): 135-140.
- Prem, D., Singh, S., Gupta, P., Singh, J., Kadyan, S. (2005). Callus induction and de novo regeneration from callus in Guar (*Cyamopsis tetragonoloba*). *Plant cell, tissue and organ culture*, 80(2), 209-214.
- Pszczola, D.E. (2002). Preview Update-50 Ingredient Hot Spots Highlighted-Ingredients. *Food Technology-Chicago*, 56(6), 32-55.
- Pouliot, Y., Wijers, M.C., Gauthier, S.F., Nadeau, L. (1999). Fractionation of whey protein hydrolysates using charged UF/NF membranes. *Journal of Membrane Science*, 158(1–2), 105-114.
- Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista chilena de nutrición*, 40(4), 397-403.
- QuimiNet. (2011). <http://www.quiminet.com/articulos/el-almidon-de-maiz-y-sus-usos-mas-comunes-2552671.htm>.
- Quintero Ruiz, N.A., Demarchi S.M., Giner S.A. (2014). "Effect of hot air, vacuum and infrared drying methods on quality of rose hip (*Rosa rubiginosa*) leathers." *International Journal of Food Science & Technology* 49(8): 1799-1804.

- Rahman, M.S. (2009). Food properties handbook. Ed. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, USA.
- Ravindra, P., Genovese, D.B., Foegeding, E.A., Rao, M. A. (2004). Rheology of heated mixed whey protein isolate/cross-linked waxy maize starch dispersions. *Food Hydrocolloids*, 18(5), 775-781.
- Rhee, K.S., Kim, E.S., Kim, B.K., Jung, B.M., Rhee, K.C. (2004). Extrusion of minced catfish with corn and defatted soy flours for snack foods. *J. Food Process. Preserv.* 28, 288–301.
- Rinaldoni, A.N., Tarazaga, C.C., Campderrós, M.E., Padilla, A.P. (2009). Assessing performance of skim milk ultrafiltration by using technical parameters. *Journal of Food Engineering*, 92(2), 226-232.
- Roberts, J.S., Kidd, D.R., Padilla-Zakour, O. (2008). Drying kinetics of grape seeds. *Journal of Food Engineering*, 89(4), 460-465.
- Rodríguez, A., Piagentini, A., Rozycki, S., Lema, P., Pauletti, M. S., Panizzolo, L. (2011). Evolución del desarrollo del color en sistema modelo de composición similar al dulce de leche. Influencia del tiempo de calentamiento y del pH. *Innotec*, (7),38-42.
- Rüegg, M., Moor, U., Blanc, B. (1977). A calorimetric study of the thermal denaturation of whey proteins in simulated milk ultrafiltrate. *Journal of Dairy Research*, 44(03), 509-520.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S. (2005). Specialty starches for snack foods. *Carbohydrate Polymers*, 59(2), 131-151.
- Sandford, P.A., Baird, J. (1983). The polysaccharides. *Prague: Academia Press*, 470-473.
- Schaller, A. (2009). Sueros de le lechería: Oportunidad para el agregado de valor. *Alimentos Argentinos*, 44, 20-24.
- Schmidt, R.H. (1981). Gelation and coagulation.131-147.

- Schmidt, R.H, Illingworth, BL, Ahmed, EM, y Richter, RL. (1978). The effect of dialysis on heat-induced gelation of whey protein concentrate. *Journal of food processing and preservation*, 2(2), 111-120.
- Schmidt, R.H, Illingworth, BL, Deng, JC, & Cornell, JA. (1979). Multiple regression and response surface analysis of the effects of calcium chloride and cysteine on heat-induced whey protein gelation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(3), 529-532.
- Senadeera, W., Bhandari, B.R., Young, G. Wijesinghe, B. (2003). Influence of shapes of selected vegetable materials on drying kinetics during fluidized bed drying. *Journal of Food Engineering*, 58(3), 277–283.
- Shimada, K., Cheftel, J.C. (1988). Texture characteristics, protein solubility, and sulfhydryl group/disulfide bond contents of heat-induced gels of whey protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(5), 1018-1025.
- Silva, E., Birkenhake, M., Scholten, E., Sagis, L.M.C., Van der Linden, E. (2013). Controlling rheology and structure of sweet potato starch noodles with high broccoli powder content by hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 30, 42-52.
- Silva, M.F., Fornari, R.C.G., Mazutti, M.A; de Oliveira, D., Padilha, F.F., Cichoski, A.J., Treichel, H. (2009). Production and characterization of xantham gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. *Journal of Food Engineering*, 90(1), 119-123.
- Simal, S., Rossello, C., Berna, A., Mulet, A. (1998). Drying of shrinking cylinder-shaped bodies. *Journal of Food Engineering*, 37(4), 423-435.
- Siso, M. G. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Bioresource Technology*, 57(1), 1-11.
- Smithers, G.W., Ballard, F.J., Copeland, A.D., De Silva, K.J., Dionysius, D.A., Francis, G.L., Regester, G.O. (1996). Symposium: advances in dairy foods processing and engineering. *J Dairy Sci* 79, 1454-1459.

- Solymosi, K., Latruffe, N., Morant-Manceau, A., Schoefs, B. (2015). Food colour additives of natural origin. *Colour Additives for Foods and Beverages*, 3–34.
- Spahn, G., Baeza, R., Pilosof A. (2006). Viscoelastic and textural characteristics of whey protein concentrate and  $\lambda$  carrageenan mixed systems. *Brazilian journal of food technology*, 3, 23-28.
- Spahn, G., Baeza, R., Santiago, L.G., Pilosof, A.M.R. (2008). Whey protein concentrate/ $\lambda$ -carrageenan systems: Effect of processing parameters on the dynamics of gelation and gel properties. *Food hydrocolloids*, 22(8), 1504-1512.
- Sworn, G.M. (2000). Xanthan gum capítulo 6. Handbook of hydrocolloids. Edited by G. O. Phillips and P. A. Williams. Published in North and South America by CRC Press LLC.
- Tang, Q., McCarthy, O.J., Munro, P.A. (1993). Oscillatory rheological study of the gelation mechanism of whey protein concentrate solutions: effects of physicochemical variables on gel formation. *Journal of dairy research*, 60(04), 543-555.
- Taylor, S.M., Gladden, L.F., Fryer, P.J. (1994). Changes in the gelation mechanism of whey protein concentrate with pH and temperature. *J. Dairy Res.* 61, 71–81.
- Tanimoto, S., Kinsella, J.E. (1988). Enzymatic modification of proteins: Effects of transglutaminase cross-linking on some physical properties of p-lactoglobulin. *J. Agric. Food Chem.* 36, 281-285.
- Telam. (2013). El consumo interno de galletitas y snacks aumentó, según un informe. Revista Télam. <http://www.telam.com.ar/notas/201306/22137-el-consumo-interno-de-galletitas-y-snacks-aumento-segun-un-informe.html> [21/06/2013]
- Thakur, S., Saxena, D.C. (2000). Formulation of Extruded Snack Food (Gum Based Cereal–Pulse Blend): Optimization of Ingredients Levels Using Response Surface Methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 33(5), 354-361.
- Thakur, B.R., Singh, R.K., Handa, A.K., Rao, M.A. (1997). Chemistry and uses of pectin — A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(1), 47-73.

- Tombs, MP. (1974). Gelation of globular proteins. *Faraday discussions of the Chemical Society*, 57, 158-164.
- Torres, E. (2009). "En el mundo de los snacks". *Revista Industria Alimenticia*.
- Traore, F., Meunier, J. (1992). Cross-linking activity of placental F XIIIa on whey proteins and caseins. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 399402.
- Turgeon, S.L., Beaulieu, M. (2001). Improvement and modification of whey protein gel texture using polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 15(4), 583-591.
- Ulloa, J.A., Mondragón Cortez, P.M., Rodríguez Rodríguez, R., Reséndiz Vázquez, J.A., Rosas Ulloa, P. (2010). La miel de Abeja y su importancia. *Fuente*, 2(4), 11-18.
- Van Arsdel, W.B., Copley, M.J. (1963). *Food Dehydration. Vol 1: Principles*: AVI Publishing Company.
- Vega, H., Góngora, M., Barbosa, G.V. (2001). Advances in dehydration of foods. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 271-289.
- Vitónica Mexico. (2014). Los snacks alrededor del mundo. Disponible en <http://www.vitonica.com.mx/alimentos/los-snacks-alrededor-del-mundo>. [Consultado Mayo 01, 2016].
- Viviant, V. (2007). "Snacks saludables, una novedosa tendencia", en *Revista La alimentación Latinoamericana*.
- Walker, B. (1984). Gums and stabilisers in food formulations. *Gums and stabilisers for the food industry*, 2, pp. 137–161.
- Walstra, P. (2001). *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*.
- Wang, S.W. (1997). Starches and starch derivatives in expanded snacks. *Cereal foods world*, 42(9), 743-745.
- Weinbreck, F., Rollema, H. S., Tromp, R. H., de Kruif, C. G. (2004). Diffusivity of whey protein and gum arabic in their coacervates. *Langmuir*, 20 (15), 6389-6395.

- White Jr, J.W. (1975). Physical characteristics of honey. *Honey: A Comprehensive Survey*. E. Crane, ed.
- Xiong, Y.L., Kinsella, J.E. (1990). Mechanism of urea-induced whey protein gelation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 38(10), 1887-1891.
- Yamul, D.K. (2008). *Propiedades de geles de concentrado de proteínas de lactosuero, miel y harina. Tesis de Doctorado de la Facultad de Ciencias Exactas*. Universidad Nacional de La Plata, Argentina. [<http://hdl.handle.net/10915/48974>]
- Yamul, D.K., Galmarini M.V., Lupano C.E., Zamora M.C. (2013). "Whey protein concentrate gels with different sucrose content: Instrumental texture measurements and sensory perception." *International Dairy Journal* 28(1): 24-31.
- Yamul, D.K., Lupano, C. (2003). Properties of Gels from Whey Protein Concentrate and Honey at Different pHs. *Food Research International*, 36, 25-33.
- Yoshimura, M., Takaya, T., Nishinari, K. (1998). Rheological studies on mixtures of corn starch and konjac-glucomannan. *Carbohydrate Polymers*, 35(1-2), 71-79.
- Yun, S., (1990). Water vapor diffusion and solubility in whey protein isolate-based edible films. Ms Thesis. University of California, USA.
- Ziegler, G.R., Foegeding, E.A. (1990). The gelation of proteins. *Advances in food and nutrition research*, 34, 203-298.