



C I D C A

Tesis Doctoral



INNOVACIONES PARA LA ELABORACIÓN DE PRODUCTOS LÁCTEOS AZUCARADOS SALUDABLES TIPO DULCE DE LECHE

Lic. Natalia Ranalli

Directora: Dra. Alicia N. Califano

Co-Directora: Dra. Silvina C. Andrés

*Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de
Alimentos. UNLP – CONICET.*

Año 2015

Universidad Nacional de La Plata

Facultad de Ciencias Exactas



A Pablo y Greta

Agradecimientos

Quisiera agradecer a muchas personas que han contribuido de diferente manera no solo a la conclusión de esta Tesis, sino a enriquecerme como persona y profesional durante todos estos años. Siempre estaré en deuda con todos ellos.

En primer lugar, quiero agradecer a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC) y la Universidad Nacional de La Plata por las becas que me otorgaron y me permitieron alcanzar esta instancia.

A la dirección del CIDCA, por permitirme trabajar en el instituto y a todo el personal que siempre tuvo buena predisposición para ayudarme.

A mis directoras, Dras. Alicia N. Califano y Silvina C. Andrés por brindarme su experiencia profesional, sus valiosas sugerencias aportadas, por ser mis referentes científicos y revisoras incansables. Este simbiótico dúo científico hizo que lograra metas que ni yo sabía que era capaz de alcanzarlas.

A mi grupo de trabajo: mi compañero, amigo y colega Lucas, por estos muchos años compartidos, por su disponibilidad absoluta para ayudarme, por ser un valioso crítico en lo que refiere a mi Tesis, por aguantarme siempre!; a Gabriel, por haberme enseñado muchas cosas en este desafío, por los enriquecedores debates sobre el dulce de leche, por ser una guía y un ejemplo a seguir como persona y profesional; a Virginia por el compañerismo y hermosos momentos compartidos; a Victoria por ser una gran compañera y consejera. Todos ellos fueron tan protagonistas de esta Tesis como yo misma.

A mis amigas del CIDCA y compañeros de box, quienes me han acompañado siempre, por su escucha y aliento en momentos difíciles y por esa mezcla hermosa de trabajo y “algo más” que me regalan a veces.

A mi grupo de cátedra, quienes me apoyaron siempre y facilitaron de una u otra forma la conclusión de esta Tesis y de quienes aprendí muchas cosas: Gabriel, Vicky, Laura, Mimí, Emanuel, Viviana.

A la cátedra de Agroindustrias de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la UNLP por permitirme usar sus instalaciones, especialmente al Dr. Ariel Vicente y la Prof. Elisa Miceli, quienes colaboraron desinteresadamente para llevar a cabo la elaboración de dulce a escala planta piloto.

A mi ex-compañero Juan Pablo Gorgojo, por brindarme acceso al microscopio y ayuda técnica.

A mi hermano Luciano por su ayuda técnica en programación MatLab.

A mi profesor de la facultad Dr. Claudio Voguet por ayudarme con una técnica de laboratorio.

A Claudio Picone, por las extensas horas de reómetro compartidas.

A mis amigas de la vida, porque cerca o lejos, saben cómo estar siempre en mi corazón y eso ayuda simplemente a vivir y lograr metas como ésta.

A toda mi familia, porque aún desde la distancia siempre recibí apoyo y cariño. Es inevitable hacer mención especial a mi mamá, quien supo siempre guiarme para lograr mis objetivos transmitiéndome paz en todos los momentos difíciles; a mi papá por nunca poner en duda que llegaría donde me propongo; a mis hermanos por ser mis aliados más preciados en toda mi etapa de formación profesional.

A Pablo, por alentarme siempre y creer en mí, por ser un compañero extraordinario y transitar este camino conmigo todos los días dándome fuerzas para llegar hasta el final; también por ser el crítico número uno de mis dulces de leche.

A Greta por ser la hermosa e incomparable razón por la cual nunca bajar los brazos.

RESUMEN

La presente **Tesis** está enfocada en contribuir al desarrollo de alimentos procesados sanos y nutritivos mediante la modificación y mejora de formulaciones y procesos involucrados en la elaboración de productos lácteos azucarados tipo dulce de leche reemplazando totalmente la fase lipídica de origen bovino por aceite vegetal rico en ácidos grasos insaturados.

Se buscó que dicho reemplazo mejore el perfil de ácidos grasos del producto, disminuyendo los saturados provenientes de la leche en favor de los insaturados, lográndose de esta forma un alimento capaz de ser ingerido por la población siguiendo las recomendaciones respecto a la ingesta de grasas.

Teniendo en cuenta que toda vez que en una formulación tradicional de un producto tipo dulce de leche se sustituye la fase grasa láctea, que desempeña múltiples funciones (apariencia, textura, palatabilidad y flavor), por aceite, se producen cambios microestructurales en el alimento, que afectan sus propiedades físicas, comportamiento reológico, estabilidad y características sensoriales representando un verdadero desafío tecnológico. En este trabajo de **Tesis** en particular, el reemplazo de la grasa láctea por aceites vegetales, como el aceite de nuez pecan, implicó la formación de una emulsión O/W estable durante el tratamiento térmico y posterior almacenamiento del producto, realizando la caracterización e interpretación reológica y fisicoquímica del comportamiento microestructural, utilizando como matriz un dulce de leche elaborado a partir de leche 0% grasa, lo cual destaca la diferencia con la tecnología tradicional respecto de la propuesta. Dicho desarrollo fue llevado a cabo mediante la incorporación de aditivos (tocoferoles, goma xántica) adecuados para prevenir la oxidación lipídica y obtener un producto con las mismas características de apariencia, textura, flavor y color que el dulce de leche tradicional, así como también que permitan su producción a escala pre-industrial o piloto.

Índice de contenidos

Capítulo 1 - Introducción General.....	1
1.1 Dieta occidental y salud.....	2
1.1.1 Los lípidos de la dieta.....	3
1.2 El dulce de leche.....	5
1.2.1 El producto.....	6
1.2.2 Clasificación de dulce de leche.....	7
1.2.3 Elaboración del dulce de leche.....	7
1.2.4 La leche.....	9
Lípidos de la leche.....	10
Proteínas de la leche.....	10
Efecto del tratamiento térmico sobre proteínas lácteas.....	13
Influencia de la sacarosa.....	16
Desarrollo del color - Reacción de Maillard.....	16
1.2.5 Textura del dulce de leche.....	19
1.3 Reología.....	20
1.3.1 Definiciones.....	22
Tensor esfuerzo.....	22
Tensor deformación y tensor velocidad de deformación.....	23
Cizalla simple.....	23
1.3.2 Caracterización reológica de un material.....	24
Comportamientos reológicos.....	24
Comportamiento de flujo estacionario.....	26
Fluidos newtonianos y no-newtonianos.....	26
Modelado matemático de las curvas de flujo en estado estacionario.....	30
Ley de la Potencia:.....	31
Modelo de Casson:.....	31
Modelo de Herschel-Bulkley:.....	31
Modelo de Cross.....	31
Comportamiento viscoelástico.....	32
Modelos analógicos mecánicos.....	33
Modelo de Maxwell.....	34

Modelo de Voigt.....	35
Modelos generalizados	36
Funciones viscoelásticas lineales	36
Ensayos oscilatorios de baja amplitud o dinámicos	37
Ensayo de relajación del esfuerzo	39
Ensayo de fluencia (Creep) y recuperación	40
Espectro de retardación.....	41
Espectros de relajación	42
Capítulo 2 - Objetivos	44
2.1 Objetivo General.....	45
2.2 Objetivos Específicos	45
Capítulo 3 - Caracterización físico-química y reológica de dulces de leche comerciales.....	47
3.1 Introducción.....	48
3.1.1 Aspectos relacionados con la conservación del dulce de leche	49
3.1.2 Atributos del dulce de leche	50
Color	50
Textura.....	50
3.2 Objetivos específicos.....	52
3.3 Materiales y Métodos.....	52
3.3.1 Muestras comerciales analizadas	52
3.3.2 Caracterización fisicoquímica	53
Actividad acuosa y pH.....	53
Contenido de sólidos solubles.....	53
Análisis de composición centesimal	54
Contenido de humedad	54
Proteínas	54
Lípidos	54
Color	55
3.3.3 Caracterización reológica	55
Curvas de flujo en estado estacionario.....	56
Ensayos de esfuerzo oscilatorio	56
Ensayo de fluencia viscosa	57
3.3.4 Análisis estadístico	57
3.4 Resultados y discusión.....	57

3.4.1	Caracterización fisicoquímica de dulces de leche comerciales	57
3.4.2	Caracterización reológica	61
	Curvas de flujo en estado estacionario.....	62
	Ensayos oscilatorios dinámicos.....	64
	Ensayos de fluencia viscosa	70
3.5	Conclusiones parciales.....	73
Capítulo 4 - Dulce de Leche 0% lípidos		75
4.1	Introducción.....	76
4.1.1	Aspecto nutricional y tecnológico.....	76
4.1.2	Reología del dulce de leche y otros productos lácteos relacionados	78
4.1.3	Sustitutos de materia grasa en productos magros	79
	Goma xántica	79
4.1.4	Interacciones proteínas de leche-polisacáridos	84
4.2	Objetivos específicos.....	86
4.3	Materiales y Métodos.....	86
4.3.1	Materias primas utilizadas	86
	Caracterización de la leche utilizada	87
	Densidad.....	87
	Cenizas totales	87
	Contenido de lípidos.....	87
	Extracto seco total y no graso	87
	Contenido de proteína.....	87
	Acidez titulable o Dornic y neutralización	88
4.3.2	Elaboración de dulces 0% lípidos	88
4.3.3	Diseño experimental.....	89
4.3.4	Evaluación de la relación °Brix-humedad.....	89
4.3.5	Caracterización de los productos obtenidos	89
	Rendimiento porcentual	89
	Análisis fisicoquímico	90
	Contenido de humedad.....	90
	Actividad acuosa.....	90
	Contenido de sólidos solubles.....	90
	Caracterización reológica.....	90
	Modelado matemático.....	90

Verificación del modelo elegido	91
4.3.6 Análisis estadístico	91
4.4 Resultados y Discusión	92
4.4.1 Obtención de los productos 0% lípidos	92
Materia prima	92
Estudios preliminares	92
Correlación entre el contenido de sólidos (°Brix) y agua	92
4.4.2 Caracterización de los productos 0% lípidos	95
Caracterización reológica	96
Modelado matemático (Casson, Ley de la Potencia y Herschel-Bulkley).....	98
Predicción de la composición a partir de una curva de flujo objetivo y validación del procedimiento.....	102
Predicción de la composición buscada a partir de viscosidad a una velocidad de deformación.....	103
Predicción de la composición buscada a partir de viscosidad a una velocidad de deformación	103
4.5 Conclusiones parciales	106
Apéndice.....	108
Capítulo 5 -Cambios durante el almacenamiento de dulce de leche 0% lípidos.....	110
5.1 Introducción.....	111
5.1.1 Cristalización de lactosa	111
5.1.2 Métodos para prevenir la cristalización de lactosa	112
5.2 Objetivos específicos.....	114
5.3 Materiales y Métodos.....	115
5.3.1 Diseño Experimental y elaboración de los productos.....	115
5.3.2 Caracterización de los productos obtenidos	116
5.3.3 Parámetros de calidad de los productos durante el almacenamiento	116
Cristales de lactosa por microscopía óptica	116
Medida de pH.....	117
Calidad microbiológica	117
Determinaciones reológicas:	117
Curvas de flujo en estado estacionario	117
Ensayos de esfuerzo oscilatorio	118
Modelado matemático de las características reológicas de los productos	118

Análisis estadístico.....	118
5.4 Resultados y Discusión	118
5.4.1 Caracterización de los productos obtenidos	118
5.4.2 Cambios durante el almacenamiento.....	119
pH	119
Cristalización de lactosa.....	120
Calidad microbiológica	120
Medidas reológicas	120
Curvas de flujo.....	120
Ensayos dinámicos de barrido de esfuerzo	126
Ensayos de esfuerzo oscilatorio.....	128
Modelado de los barridos de frecuencia. Ley de la Potencia.....	129
Modelo generalizado de Maxwell. Espectro de relajación discreto	130
Estimación de funciones materiales.....	133
Viscosidad compleja.....	137
Comportamiento global durante el almacenamiento de los dulces de leche 0%	
lípidos.....	140
5.5 Conclusiones parciales.....	141
Capítulo 6 - Estudios preliminares e inhibición de la oxidación lipídica en dulce de leche enriquecido con ácidos grasos insaturados.....	143
6.1 Introducción.....	144
6.1.1 Perfil lipídico de los alimentos.....	144
Fuentes de ácidos grasos insaturados	144
Aceite de canola.....	145
Aceite de nuez pecan.....	146
6.1.2 Problemas asociados al reemplazo de grasa por aceite en el producto.....	148
Textura.....	148
Oxidación lipídica	148
Antioxidantes	151
Antioxidantes presentes en la leche	151
Efecto antioxidante de los productos de Maillard	151
Agregado de antioxidantes	152
6.1.3 Emulsificación como forma de incorporar el aceite	154
Emulsificantes y espesantes	155

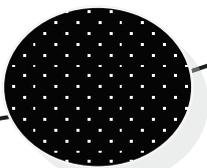
Proteínas de leche como emulsificantes	155
Estabilidad de las emulsiones	156
Distribución de tamaño de gotas	158
6.2 Objetivos específicos.....	159
6.3 Materiales y métodos.....	159
6.3.1 Factibilidad de agregado del aceite según instancia de incorporación y características de las emulsiones logradas.....	159
Emulsificación directa del aceite sobre el producto previamente obtenido.	160
Características reológicas del producto	160
Estabilidad del producto obtenido	160
Pre-emulsificación del aceite en parte de la leche empleada como materia prima. .	160
Estabilidad de los productos obtenidos.....	160
Determinación de la distribución de tamaño de gotas de aceite.....	160
6.3.2 Estabilidad oxidativa de los aceites seleccionados	161
Efecto de la capacidad antioxidante de los tocoferoles	162
6.3.3 Evaluación de dulce lácteo con aceite en estudio de estabilidad acelerada..	162
Cuantificación de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)	163
6.3.4 Análisis estadístico	166
6.4 Resultados y Discusión	166
6.4.1 Factibilidad de agregado del aceite según instancia de incorporación y características de las emulsiones logradas.....	166
6.4.2 Estabilidad oxidativa de los aceites seleccionados	170
Efecto del agregado de tocoferoles al aceite de pecan	170
6.4.3 Evaluación del dulce lácteo con aceite en estudio de estabilidad acelerada .	172
Interferencias de componentes del producto en la medida de la oxidación por TBARS	172
Estudio de estabilidad acelerado del dulce lácteo con aceite de nuez pecan	175
6.5 Conclusiones parciales.....	177
Capítulo 7 - Producción de DL con aceite de pecan a escala planta piloto, parámetros de calidad y efecto del almacenamiento.....	179
7.1 Introducción.....	180
7.2 Objetivos específicos.....	180
7.3 Materiales y Métodos.....	181

7.3.1	Proceso de elaboración de dulce con aceite de nuez pecan pre-emulsificado a escala piloto.....	181
	Materias Primas	181
	Leche - Hidrolisis de lactosa y neutralización.....	181
	Preparación de los demás componentes	181
	Elaboración del producto.....	182
7.3.2	Caracterización del dulce lácteo obtenido.....	185
	Contenido de humedad (%).....	185
	Sólidos por refractometría (°Brix).	185
	Rendimiento porcentual	185
	Determinaciones reológicas	185
7.3.3	Calidad del producto durante el almacenamiento	185
	Actividad acuosa.....	185
	Color.....	185
	Calidad microbiológica.....	185
	Cristalización de lactosa.....	185
	Características reológicas	185
	Curvas de flujo en estado estacionario	185
	Ensayos de esfuerzo oscilatorio	185
	Modelado matemático.....	186
	Oxidación lipídica mediante la determinación de las Sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS).	186
	Determinación del Perfil lipídico	186
7.3.4	Análisis de aceptabilidad	186
7.3.5	Aspecto nutricional	187
7.3.6	Análisis estadístico	187
7.4	Resultados y Discusión	187
7.4.1	Características del dulce lácteo con aceite de nuez pecan.....	188
7.4.2	Calidad del producto almacenado.....	190
	Actividad acuosa y color.....	190
	Características reológicas	190
	Curvas de flujo en estado estacionario	190
	Ensayos de esfuerzo oscilatorio.....	192
	Calidad microbiológica	195

Cristalización de lactosa.....	195
Oxidación lipídica	197
Perfil lipídico.....	198
7.4.3 Análisis de aceptabilidad	201
7.4.4 Aspecto nutricional	203
7.5 Conclusiones parciales.....	204
Capítulo 8 - Conclusiones generales.....	205
Publicaciones realizadas.....	208
Referencias bibliográficas.....	210

Introducción General

Capítulo 1



1.1 Dieta occidental y salud

Las costumbres alimenticias de la población de América constituyen lo que se denomina dieta occidental. Esta dieta está constituida por alimentos altamente procesados, elevados niveles de carne vacuna y porcina, alimentos fritos y sal. A su vez incluye importantes cantidades de alimentos farináceos altamente refinados.

La dieta de una población es un factor clave para el control y desarrollo de enfermedades crónicas, de las cuales se puede mencionar algunos tipos de cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Buzina y col., 1991; Halliwell, 1997; Satia-Abouta y col., 2002).

Las enfermedades cardiovasculares representan la principal causa de muerte en todo el mundo. En el año 2012 provocaron casi 17.5 millones de muertes; lo que representa a 3 de cada 10 muertes. De estas, 7.4 millones se atribuyeron a la cardiopatía isquémica, y 6.7 millones, a los accidentes cerebrovasculares (OMS, 2015). Las cardiopatías isquémicas, entre otras enfermedades, han permanecido entre las principales causas de muerte durante la década 2001-2011. Argentina no es ajena a esta problemática ya que las enfermedades del sistema circulatorio son la primera causa de muerte provocando el 30% del total de las defunciones anuales en el 2012 (Ministerio de Salud, 2013). Se estima que en el año 2010, en nuestro país se perdieron 80.93 años potenciales de vida por muerte prematura debido a causas cardíacas y cerebro vasculares cada 10000 habitantes (Ministerio de Salud, 2012) y en una Encuesta Nacional de Factores de Riesgo (INDEC, 2013) se estableció que entre el 34.1% y el 29.8% de los mayores de 18 años se detectó hipertensión arterial e hipercolesterolemia, respectivamente.

En la actualidad la prevalencia de enfermedades no transmisibles (obesidad, hipertensión arterial, diabetes, enfermedades cardiovasculares, entre otras) señala una fuerte tendencia epidemiológica que crece tanto en países desarrollados como en países en desarrollo. Es por ello que la Organización Mundial de la Salud, entre sus recomendaciones, incluye limitar la ingesta energética procedente de las grasas, sustituir las grasas saturadas por grasas insaturadas y tratar de eliminar los ácidos grasos trans de la dieta (OMS, 2003, 2008; European Commission, 2012).

Más preocupante aún, es el aumento de la obesidad infantil; así, en EE.UU. el 16.9% de los niños y adolescentes son obesos (IOM, 2012), mientras que nuestro país lidera los porcentajes de obesidad en niños menores de 5 años en América Latina, con un 7.3% de prevalencia (FAO, 2010) y según la Sociedad Argentina de Pediatría se detectó que 20.8% de los niños de 10 a 19 años presentaban sobrepeso y 5.4% presentaban obesidad (Kovalskys y col., 2005).

Sobre la base de datos de anatomía patológica se conoce que el proceso aterosclerótico se inicia en la infancia y el grado de extensión de las lesiones en niños y adultos jóvenes se correlaciona con la presencia de los mismos factores de riesgo identificados en adultos. Debido a la precocidad con que se presentan las lesiones, así como por el hecho de que muchos de los hábitos se establecen en la infancia y primeros años de vida, las acciones tendientes a evitar el establecimiento de los riesgos en la infancia y adolescencia son fundamentales en la reducción de este grupo de enfermedades. Parece entonces razonable iniciar estilos de vida saludables en la infancia con el fin de mejorar el estado de salud en la vida adulta (Sociedad Argentina de Pediatría, 2005).

1.1.1 Los lípidos de la dieta

Los ácidos grasos que constituyen los triglicéridos, principal grasa presente en los alimentos, pueden clasificarse en función de la presencia o no de dobles enlaces en su molécula, pudiendo ser saturados (AGS) cuando no presentan dobles enlaces, o insaturados (AGI) en caso contrario. Éstos, a su vez, pueden tener un sólo doble enlace (mono-insaturados, AGMI) o dos o más (poli-insaturados, AGPI). Todos los AGI naturales presentan isomería tipo cis, representando la gran mayoría de las grasas de la dieta. Sin embargo, existen formas de AGI con isomería trans, en forma minoritaria en los alimentos naturales, pero que han adquirido gran importancia en la dieta de los países modernos debido a su generación durante el procesado industrial de grasas insaturadas.

Es ampliamente reconocido que el tipo de grasa en la dieta influye en los niveles de colesterol plasmático en mayor medida que la ingesta total de grasas. Por lo tanto, la sustitución de las grasas saturadas por insaturadas puede ser más eficaz en reducir el riesgo de enfermedades coronarias que la reducción de la ingesta total de grasas (O'Byrne y col., 1997; Kris-Etherton y col., 1999). Entre los alimentos ingeridos, la grasa vacuna es una fuente importante de ácidos grasos saturados (AGS, 54%) y mono-insaturados (AGMI, 30%) y presenta una escasa cantidad de ácidos grasos poli-insaturados (AGPI) (García, 2009; Orellana y col., 2009). Por ello, su perfil de ácidos grasos dista mucho del requerido para una buena alimentación, por lo que su excesivo consumo constituye un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades coronarias y vasculares (Muchenje y col., 2009).

El AGMI más representativo es el ácido oleico, abundante especialmente en el aceite de oliva y en aceites de semillas como girasol alto oleico y colza, aunque también abunda en la grasa animal.

Kris-Etherton y col. (1999) informaron que las dietas con alto contenido de ácidos grasos mono-insaturados tienen un efecto favorable sobre la relación colesterol total/lipoproteína de alta densidad (HDL), la cual es un indicador más exacto del riesgo de enfermedad coronaria que el nivel de colesterol total solo. Las dietas ricas en ácidos grasos mono-insaturados

reducen los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL) sin afectar negativamente a la fracción HDL, reduciendo así el riesgo de enfermedades del corazón. La dieta mediterránea es un modelo que merece ser tenido en cuenta ya que, a pesar de ser rica en grasa, lo es a base de AGMI, puesto que un 17-20% de la energía diaria procede del ácido oleico, un AGMI considerado un factor clave de los beneficios cardiovasculares de dicha dieta.

Dentro de los AGPI existen dos familias, los omega-6 o n-6, así llamados por tener el primer doble enlace en el carbono de la posición 6, contando desde carbono opuesto al del grupo ácido, y los omega-3 o n-3, que lo tienen en el carbono en posición 3 en el mismo sentido. Dos de los AGPI, el ácido linoleico (AL, C18:2 n-6) y el α -linolénico (ALA, C18:3, n-3) merecen un especial interés, debido a su importante función biológica y, especialmente, porque no pueden ser sintetizados por los mamíferos y deben ser aportados por la dieta, por lo que se consideran AG esenciales. Tienen funciones tales como reguladores metabólicos en sistemas cardiovascular, pulmonar, inmune, secretor y reproductor, son imprescindibles para preservar la funcionalidad de las membranas celulares y participan en procesos de transcripción genética. Una vez que nuestro organismo dispone de ellos a través de la dieta, pueden ser utilizados para generar ácidos grasos de cadena más larga y de gran importancia biológica.

Asimismo, los AGPI n-3, grupo que incluye al ácido α -linolénico, ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3), ácido docosapentaenoico (DPA, 22:5 n-3) y ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3), se reconocen como constituyentes esenciales para el crecimiento y desarrollo normal de los animales. Están implicados en la expresión de genes (como segundos mensajeros) y en señales de transducción de las vías para regular la transcripción de genes específicos (Clarke y Jump, 1994; Graber y col., 1994); además, pueden participar en el crecimiento del cerebro e hígado durante la etapa de desarrollo, especialmente el DHA (Martínez y Ballabriga, 1987), y jugar un papel importante en la prevención y tratamiento de diversos tipos de enfermedades. Diversos estudios han demostrado que los ácidos grasos n-3 pueden retrasar la aparición de tumores, inhibir su tasa de crecimiento o disminuir su tamaño y número (Funahashi y col., 2006; Kim y col., 2009). Los AGPI n-3 están posiblemente involucrados en la regulación de trastornos inflamatorios crónicos por la disminución de la producción de eicosanoides inflamatorios, citoquinas y especies reactivas de oxígeno, y la inhibición de la expresión de moléculas de adhesión (Calder, 2006).

El EPA y DHA pueden sintetizarse por el organismo a partir del ALA de la dieta pero normalmente en una cantidad insuficiente a partir de los cinco años de edad, por ello, algunos expertos sugieren que es recomendable incluirlos dentro de los AG esenciales e incluirlos en la dieta. Altos niveles de AGPI n-3 de cadena larga en la dieta mostraron estar asociados al desarrollo del sistema nervioso central (SNC), mientras que un defecto de éstos se relaciona con algunos trastornos neurológicos (Assisi y col., 2006). El 65% de los

lípidos del cerebro son poli-insaturados y de éstos, más del 85% corresponden a DHA (35 - 40%) y ácido araquidónico (C20:4 n-6) (40 - 50%) (Valenzuela y Nieto, 2001). El ácido araquidónico está presente además en todos los tejidos mientras que el DHA se encuentra en el tejido nervioso, visual y reproductivo (Clandinin, 1999).

Las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2008) sobre el consumo de lípidos incluyen la disminución del consumo de grasas saturadas y el incremento de insaturadas. Por otra parte la American Heart Association (AHA, 2013) recomienda varios hábitos para lograr una alimentación más saludable, con un mejor perfil de ácidos grasos. Sin embargo debido a que la relación óptima de n-6/n-3 de la ingesta, varía según el individuo, resulta difícil definir relaciones exactas, por lo que se sugieren tendencias como que, la mayoría de las grasas de la dieta deben ser mono o poli-insaturadas. La AHA (2013) recomienda una ingesta de AGPI n-6 de 5 a 10% de las calorías diarias totales. Sin embargo, la resistencia de la población a los cambios de hábitos en la dieta sugiere que hay un mercado posible de alimentos frecuentemente consumidos, que podrían ser reformulados para incorporarles ingredientes más beneficiosos para la salud y/o reducir la cantidad de los componentes que resultan en exceso considerando la dieta occidental.

Asimismo, durante la última década, los requerimientos de los consumidores en el campo de la producción de alimentos han cambiado sustancialmente. Estos consideran cada vez más que la alimentación contribuye directamente a su salud. De este modo, se tiene en cuenta que los alimentos no sólo satisfagan el hambre y que provean los nutrientes necesarios, sino que además y especialmente prevengan enfermedades relacionadas con la nutrición, y que mejoren el bienestar físico y mental. Esto se relaciona con el concepto “alimento funcional” hace referencia a alimentos modificados por el agregado de ingredientes considerados beneficiosos para la salud o por eliminación o reducción de componentes que son considerados perjudiciales (Bigliardi y Galati, 2013).

1.2 El dulce de leche

El dulce de leche es una confitura elaborada a base de leche, típico de Sudamérica. Se puede encontrar al dulce de leche en otros países con diferentes nombres (“arequipe” en Colombia o Venezuela, “cajeta” en México, “manjar blanco” en Bolivia, Ecuador, Panamá y Perú) (INTI, 2008).

En el año 2012 la producción argentina de dulce de leche fue de 144.000 toneladas (siendo algo mayor en los meses comprendidos entre marzo y octubre), un 13.4% mayor respecto al año 2011. Sin embargo, su producción se ha sostenido en los últimos 10 años, ya que el aumento promedio fue de un 4%. Principalmente es consumido como dulce para untar,

alcanzando por habitante los 3.4 kg/año en 2012 (Dirección de Industria Alimentaria, 2012–S.A.G.P. y A.).

1.2.1 El producto

El dulce de leche es un producto de humedad intermedia obtenido de la concentración de la leche por evaporación a presión atmosférica, con adición de azúcar (sacarosa), que además de responsable del sabor típico del dulce de leche tiene un papel clave en la determinación del color final y consistencia. El producto obtenido es un sistema complejo que consta de glóbulos grasos dispersos en una fase acuosa continua saturada que contiene azúcar, glucosa, proteína y otros componentes minoritarios (Navarro y col., 1999).

Según el Código Alimentario Argentino (RESOLUCIÓN GMC N° 137/96, CAA, 2015) se permiten determinadas operaciones en su proceso de elaboración para lograr ciertas características o evitar ciertos problemas en el producto final.

- **Neutralización de la leche** mediante la adición de bicarbonato de sodio (según buenas prácticas de fabricación, b.p.f.) para mantener el pH en condiciones no muy ácidas (Rovedo y col., 1991; Pauletti y col., 1999), promover el pardeamiento y evitar la coagulación proteica (Heimlich y col., 1994).
- El empleo de la **enzima β -galactosidasa (lactasa)** según b.p.f. para hidrolizar parcialmente la lactosa (se discutirá en el Capítulo 5).
- **Sustitución parcial de la sacarosa por monosacáridos y/u otros disacáridos.** Por ejemplo la glucosa evita la cristalización de la lactosa y una textura indeseable del producto final (Martínez y col., 1990; Hynes y Zalazar, 2009), posee un poder edulcorante inferior, pero es económica y agrega brillo al producto.
- **Agregado de aromatizantes/saborizantes** (aromatizante de vainilla, vainillina y/o etilvainillina solos o en mezclas) según b.p.f., cuya cantidad se ajusta después de ensayos organolépticos (INTI, 2008).
- **Agregado de conservante (ácido sórbico y sus sales de Na, K o Ca, 600 mg/kg** (en ácido sórbico) concentración máxima en el producto final.

Según nuestro CAA, el dulce de leche debe reunir determinadas características sensoriales:

- **Consistencia:** debe ser cremosa o pastosa, sin cristales perceptibles. La consistencia podrá ser más firme en el caso del dulce de leche repostero y para heladería. Podrá presentar consistencia semi-sólida o sólida y parcialmente cristalizada cuando la humedad no supere el 20 % m/m.

- **Color:** debe ser castaño acaramelado, proveniente de la reacción de Maillard. En el caso del dulce de leche para heladería o heladero el color podrá corresponder al colorante adicionado.
- **Sabor y olor ("flavor"):** debe ser dulce característico, sin olores ni sabores extraños (Zunino, 1998).

Entre los requerimientos fisicoquímicos que se buscan (Tabla 1-1), el de humedad determinaría en gran parte sus características de consistencia, y el color desarrollado durante su elaboración.

Tabla 1-1. Requisitos físico-químicos para la elaboración de dulce de leche en Argentina (RESOLUCIÓN GMC N° 137/96, CAA, 2009).

Requisitos	Dulce de Leche	Método de Análisis
Humedad (g/100 g)	máx. 30.0	FIL 15B: 1988
Materia grasa (g/100 g)	6.0 a 9.0	FIL 13C: 1987
Cenizas (g/100 g)	máx. 2.0	AOAC 15° Ed. 1990.930.30
Proteínas (g/100 g)	mín. 5.0	FIL 20B: 1993

1.2.2 Clasificación de dulce de leche

Dependiendo de las características de la materia prima, ciertas variables en el proceso de elaboración y la naturaleza de los aditivos, podemos clasificar este producto como:

- ✓ Dulce de Leche (se lo conoce como "familiar" o tradicional)
- ✓ Dulce de Leche para repostería o repostero
- ✓ Dulce de Leche para heladería o heladero
- ✓ Dulce de Leche con crema
- ✓ Dulce de Leche mixto

En el dulce de leche para repostería o heladería se permite el agregado de hasta el 2% de espesantes y estabilizantes autorizados (RESOLUCIÓN GMC N° 137/96, CAA, 2015), a fin de lograr un producto consistente, más oscuro que el tradicional y con características de "corte". Para obtener mayor color en el producto se neutraliza la leche unos 2°D más que en el caso del dulce familiar, con carbonato de calcio o bicarbonato de sodio.

1.2.3 Elaboración del dulce de leche

El dulce de leche se prepara hirviendo la leche con adición de sacarosa hasta alcanzar el 70% (peso/peso) de sólidos totales. Durante la evaporación, se produce un extenso

pardeamiento no enzimático, que conduce a un producto de color marrón que tiene un sabor característico y agradable. El tipo de azúcar y la etapa en la que se agrega pueden afectar fuertemente las características del producto final (Corradini y Peleg, 2000). El proceso completo dura 2-3 h, finalizando cuando el contenido de sólidos solubles totales alcanza 65 a 70 °Brix.

La mayoría de las plantas dulceras operan según el sistema de elaboración tradicional concentrando en pailas abiertas, sin embargo pueden aplicarse sistemas más evolucionados como son los sistemas continuos y combinados. Para el sistema en paila tradicional la secuencia de operaciones es la representada en la Figura 1-1.

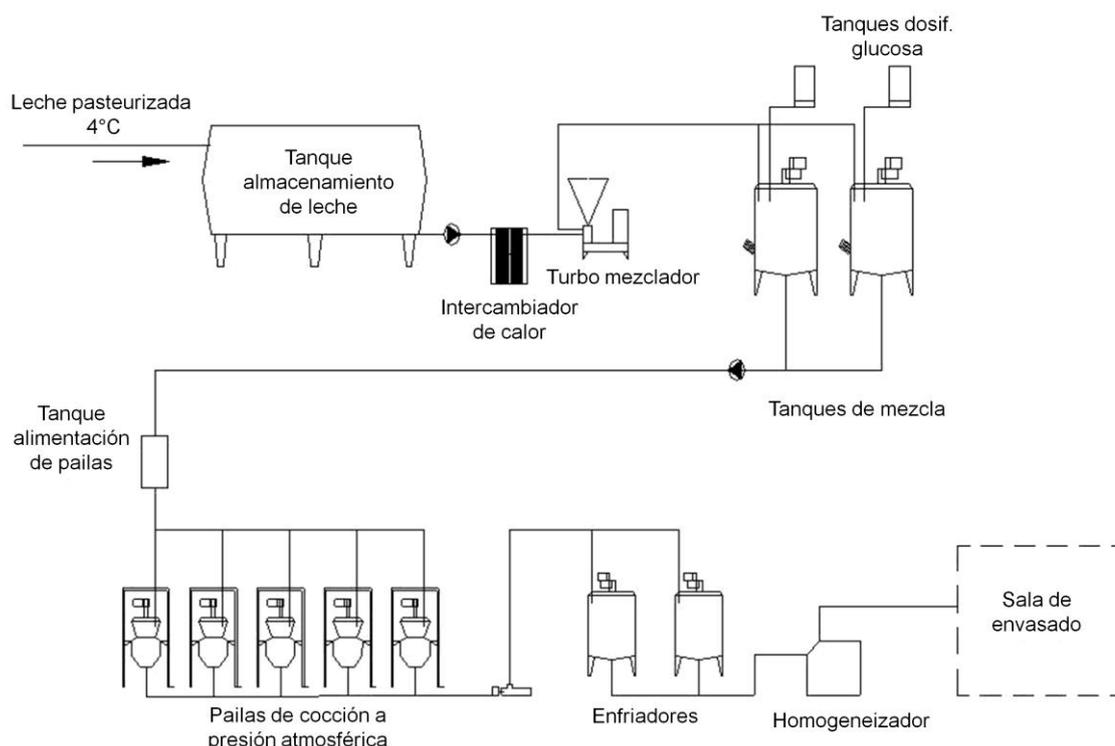


Figura 1-1. Esquema de proceso de elaboración de dulce de leche en paila.

Las pailas operan bajo energética agitación por efecto de dos sistemas que giran en diferente sentido, uno de ellos es un ancla raspadora que evita que el dulce se pegue a las paredes calientes, el otro actúa en sentido inverso al anterior rompiendo la espuma que se forma por acción del CO_2 generado por la reacción de Maillard.

A medida que avanza la concentración se va acentuando el color del producto, de tal manera que al alcanzar el "punto final" del dulce no solamente su tenor de sólidos es el deseado sino también sus características organolépticas. Poco antes de terminar la concentración, aproximadamente cuando el producto llega a 55-60% de sólidos se agrega la glucosa. Entonces, es de fundamental importancia determinar el momento en que debe darse por terminada la concentración. Si se pasa del punto final, se reducen los

rendimientos y se perjudican las características organolépticas del dulce. Por el contrario, la falta de concentración produce un producto fluido, sin la consistencia típica.

En las plantas es normalmente la pericia del dulcero lo que determina el punto exacto, empleando a veces pruebas empíricas. Una de ellas consiste en dejar caer una gota de dulce dentro de un vaso con agua y evaluar si llega al fondo sin disolverse. Otra consiste en separar entre los dedos índice y pulgar una pequeña cantidad de producto y observar cómo y cuánto se estira. Asimismo, con mucha práctica, la simple evaluación del flujo de dulce vertido desde un cucharón informa sobre el punto deseado. Sin embargo, es necesario complementar la experiencia con la exactitud, para lo cual las observaciones empíricas se hacen a modo de orientación, y ya en las cercanías del punto final se controlan con el refractómetro para determinar el contenido de sólidos expresados como grados Brix.

Una vez determinado este punto final e inmediatamente después, tiene lugar el enfriamiento, que puede realizarse en la misma paila o en un recipiente al efecto. La velocidad del enfriamiento es muy importante para las características del producto y su almacenamiento, ya que un descenso de temperatura muy lento favorece la formación de cristales grandes de lactosa, en tanto que uno muy rápido facilitará la formación de muchísimos cristales muy pequeños (discutido posteriormente).

El envasado se realiza generalmente cuando el producto alcanza unos 50–55 °C para permitir el fácil flujo por la boquilla de dosificación. Envasar a mayor temperatura tendría el inconveniente de que continuarían produciéndose vapores dentro del envase, que condensando en la superficie interior de la tapa podrían facilitar la aparición de colonias de hongos (Zamboni y Zalazar, 1994).

1.2.4 La leche

Para la elaboración del dulce la principal materia prima, como es sabido, es la leche, la cual puede ser fluída o reconstituída. Se puede utilizar leche entera o parcialmente descremada, según el contenido de grasa del dulce deseado. Tanto la leche en polvo como la fluida tienen ventajas e inconvenientes, de modo que se puede aconsejar su uso alternativo o combinado conforme a las circunstancias y a las instalaciones.

Si bien la composición de la leche varía con las épocas del año y la alimentación de los animales, podemos generalizar diciendo que en promedio la leche posee: lactosa 4.8%, proteínas 3.5%, grasa 3.2%, cenizas 0.8%. La leche es un sistema complejo, ya que la lactosa y ciertos minerales están como soluciones verdaderas, las proteínas del suero como soluciones coloidales, las caseínas como dispersión y las grasas como emulsión (Zunino, 1998).

Lípidos de la leche

La composición lipídica de la leche bovina es muy compleja. Los triacilgliceroles comprenden la mayor proporción, constituyendo hasta el 97-98% de los lípidos totales. Están presentes en glóbulos de 2-3 μm de diámetro rodeados por una membrana. Se han identificado más de 400 ácidos grasos diferentes, no obstante, solamente 20 ácidos grasos individuales suponen la mayoría de los residuos de los triacilgliceroles. En la Tabla 1-2 se relacionan los doce ácidos grasos mayoritarios y sus porcentajes en peso del total de los lípidos.

Tabla 1-2. Ácidos grasos mayoritarios constituyentes de la grasa de la leche de vaca.

Ácido graso	Porcentaje en peso	Ácido graso	Porcentaje en peso
C4:0	3.6	C15:0	1.5
C6:0	2.2	C16:0	25.2
C8:0	1.1	C18:0	11.9
C10:0	1.9	C16:1	1.8
C12:0	3.0	C18:1	25.5
C14:0	11.2	C18:2	2.1

Además de ser objeto de la mayor variabilidad en la cantidad total, los lípidos están más sujetos que otros constituyentes de la leche a cambios en su composición por factores ambientales y dieta.

La leche contiene relativamente poco colesterol; por ejemplo, un vaso de leche de 227 g contiene 27 mg, mientras que un huevo grande tiene 275 mg y 100 g de un pez de agua dulce aporta 70 mg. Puesto que el colesterol se presenta en la membrana del glóbulo graso, su concentración está relacionada con el contenido graso de la leche (Swaisgood, 2010).

Proteínas de la leche

La leche contiene 3.5% de proteína total y alcanza calidades nutritivas de muy alto valor biológico. En la glándula mamaria se encuentran seis productos genéticos mayoritarios: α_{s1} -caseína, α_{s2} -caseína, β -caseína, κ -caseína, β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina. Cada una de estas proteínas exhiben polimorfismo genético porque son productos de genes autosómicos, alélicos y predominantes. Las proteínas de la leche se clasifican bien como caseínas o bien como proteínas del suero según su precipitación por pH, siendo las primeras inestables al descenso del mismo.

Las caseínas suponen el 80% de las proteínas de la leche. Se encuentran en forma de complejos esféricos, altamente hidratados y singulares conocidos como micelas de caseínas junto al fosfato cálcico coloidal (CCP). Tales complejos son polidispersos, variando su tamaño desde 30 a 300 nm de diámetro, con un pequeño porcentaje que se aproxima a los 600 nm. (Swaisgood, 2010).

Las cuatro caseínas poseen diferente secuencia de aminoácidos y difieren ampliamente en su distribución de carga y su tendencia para agregarse en presencia de iones Ca^{2+} (Walstra y col., 1984). α_{s1} -, α_{s2} - y β -caseínas son sensibles al calcio y precipitarían a las concentraciones de calcio de la leche. Por el contrario, la κ -caseína es insensible al calcio y, estabilizaría a las demás caseínas contra la precipitación (de Kruif y Holt, 2002). Según el modelo más aceptado de estructura de micelas caseínicas, la mayor parte de las caseínas sensibles al calcio se localizan en el interior de la micela, mientras que la κ -caseína se encuentra en el exterior de la misma. El extremo C-terminal de la κ -caseína es muy hidrofílico y tiene una considerable carga negativa. Esta parte de la molécula sobresale de la micela en el medio circundante como un hilo flexible, formando una capa pilosa en la superficie (Walstra y col., 1984).

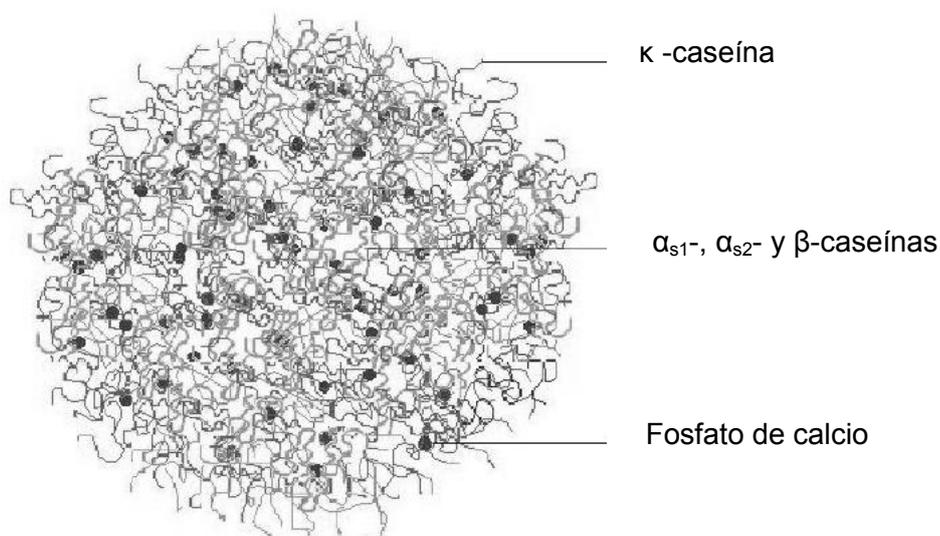


Figura 1-2. Modelo propuesto de estructura de micelas de caseínas.

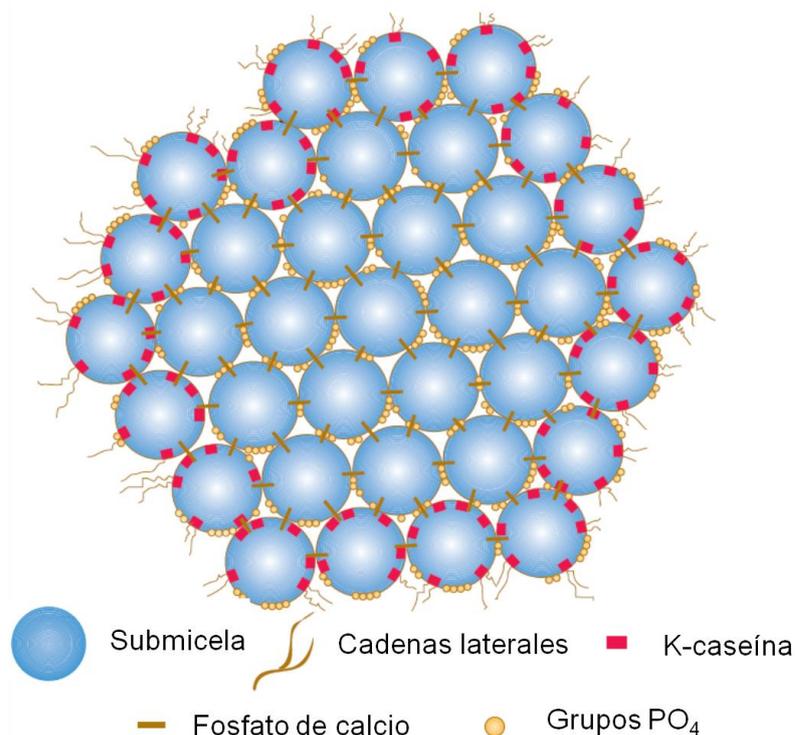


Figura 1-3. Construcción y estabilización de la micela de caseína (Rollema y Fox, 1992).

La superficie de la micela tiene un número de carboxilos disociados y algunos grupos ester fosfato que le otorgan una elevada carga negativa (potencial zeta a 20 °C de -13mV) y así una estabilización electrostática. La capa difusa superficial de cadenas polipeptídicas flexibles, hidrofílicas, mayoritariamente segmentos C-terminal de κ -caseínas, brindan estabilización estérica (Holt, 1992). Esta capa pilosa de κ -caseína actúa como barrera contra la agregación a menos que estas cadenas sean eliminadas por tratamiento enzimático o por disminución de la calidad del solvente (por ejemplo, por agregado de etanol). Dentro de la micela, las moléculas de caseínas individuales están asociadas por puentes hidrofóbicos y electrostáticos en los cuales el fosfato de calcio coloidal también juega una importante función.

Además de la β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina, productos genéticos de la glándula mamaria, el suero de leche también contiene albúmina sérica e inmunoglobulinas que proceden de la sangre.

Las composiciones de aminoácidos y pesos moleculares de las principales proteínas de la leche se conocen con mucha exactitud mediante análisis de aminoácidos y por determinación de la estructura primaria por secuenciado químico o inferidos por el secuenciado genético. Un distintivo clave de las caseínas es su alto contenido de residuos fosfoserilo y su moderadamente grande contenido de prolina. Aunque las caseínas son bastantes pobres en cisteína, las proteínas del suero contienen considerablemente mucho más de este residuo (Fennema, 2008).

Efecto del tratamiento térmico sobre proteínas lácteas

Las proteínas de suero adoptan una determinada conformación dependiendo de las condiciones del medio (pH, fuerza iónica, temperatura, composición del solvente, etc.) que influirán en el delicado balance que existe entre las fuerzas intervinientes. Por ejemplo, a temperaturas relativamente bajas (menores a 65 °C) predomina la fuerza hidrofóbica favoreciendo el estado nativo, mientras que a temperaturas más elevadas predomina la entropía configuracional que favorece el estado desnaturalizado. Cada proteína de suero posee una temperatura característica de desnaturalización. Por ejemplo, en la β -lactoglobulina la desnaturalización ocurre por encima de los 78 °C mientras que en la α -lactoalbúmina, la misma se produce a temperaturas superiores a los 62 °C (Bryant y McClements, 1998). A su vez, las proteínas de suero pueden agregarse o permanecer como moléculas individuales en solución dependiendo de las condiciones del medio. Cuando dichas proteínas son tratadas térmicamente por encima de su temperatura de desnaturalización se despliegan parcialmente permitiendo la exposición de los sitios activos no polares. En ausencia de electrolitos, las proteínas de suero desnaturalizadas pueden permanecer separadas debido a la elevada repulsión electrostática. En cambio, cuando la concentración de sal se incrementa, dicha repulsión disminuye permitiendo la formación de uniones hidrofóbicas en cada punto de la superficie de la molécula. Este fenómeno permite la formación de agregados que a su vez pueden interactuar entre sí por medio de uniones disulfuro inter e intra moleculares (Bryant y McClements, 1998). Cuando la concentración de proteína supera un valor crítico, los agregados de proteínas de suero formarán una red tridimensional que retiene agua denominada gel. Las condiciones del medio (concentración de proteína, pH, fuerza iónica) y la presencia de componentes no proteicos, influyen sobre su capacidad de gelificación (de Wit y col., 1988, Ennis y Mulvihill, 2000). En cambio, a concentraciones por debajo de este valor crítico, los agregados permanecerán solubles en las suspensiones (Figura 1-4, Aguilera, 1995).

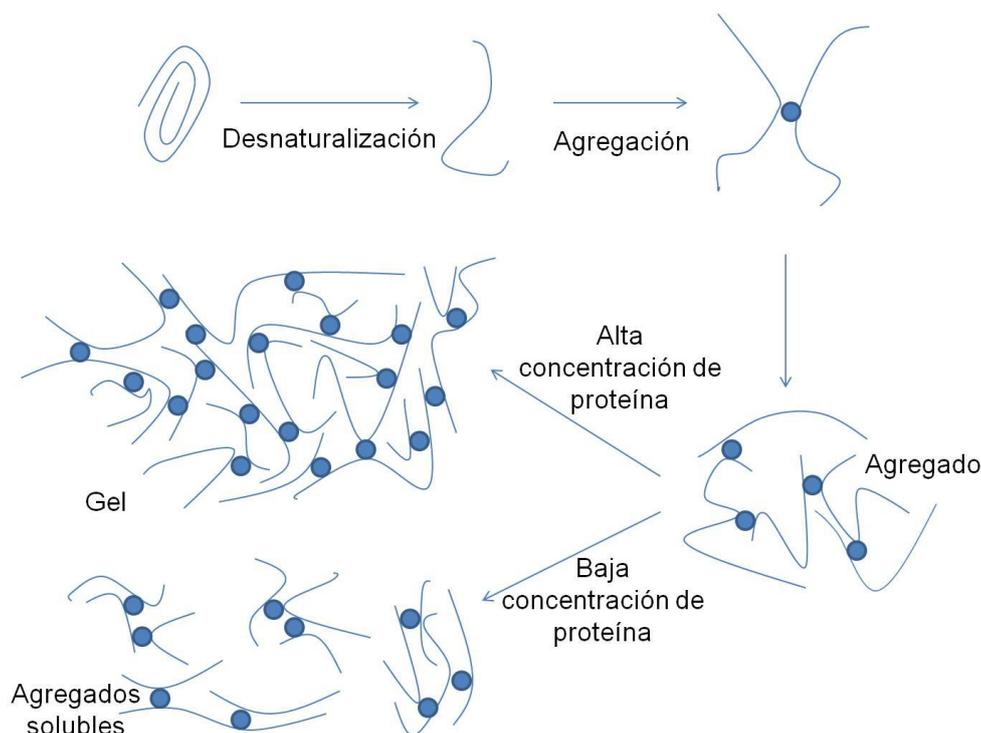


Figura 1-4. Esquema de la desnaturalización y agregación de las proteínas de suero lácteo cuando son tratadas térmicamente.

La textura de los geles de proteínas de suero depende de la velocidad de calentamiento y enfriamiento, concentración de proteínas, pH, fuerza iónica e interacciones con otros componentes alimenticios, como los hidratos de carbono (Kinsella y Whitehead, 1989; Smith, 1994). Según Morr y Ha (1993), en la β -lactoglobulina, los residuos de aminoácidos que contienen azufre, facilitan la polimerización de las proteínas mediante la formación de enlaces covalentes disulfuro intermoleculares a altas temperaturas de procesamiento y almacenamiento.

Por otro lado, las caseínas tienen excelente solubilidad y estabilidad térmica por encima de pH 6. El calentamiento continuado (por ej., 20-40 min a 140 °C) desestabiliza las micelas con formación de gel. La desestabilización micelar se produce por una combinación de factores, el más importante de los cuales es la reducción del pH. Asimismo, la adición de sales cambia la estabilidad micelar (Fennema, 2010).

Cuando la leche es tratada a temperaturas superiores a 70 °C, las diferentes proteínas del suero interactúan de una manera muy compleja, y en una primera etapa se forman complejos solubles, que actúan como intermediarios en la asociación de β -lactoglobulina con las micelas de caseínas y con α -lactoalbúmina, que entonces precipita en la superficie de las micelas, dando lugar a la formación de agregados entre ellas o bien con las micelas de caseína, esencialmente con la k-caseína, a través de puentes disulfuro o uniones hidrofóbicas, interacciones electrostáticas o iónicas, formando lo que se conoce como

complejos de proteínas de suero/ κ -caseína (Corredig y col., 2011; Donato y Guyomarc'h, 2009, Singh y Fox 1987a; Jang y Swaisgood 1990).

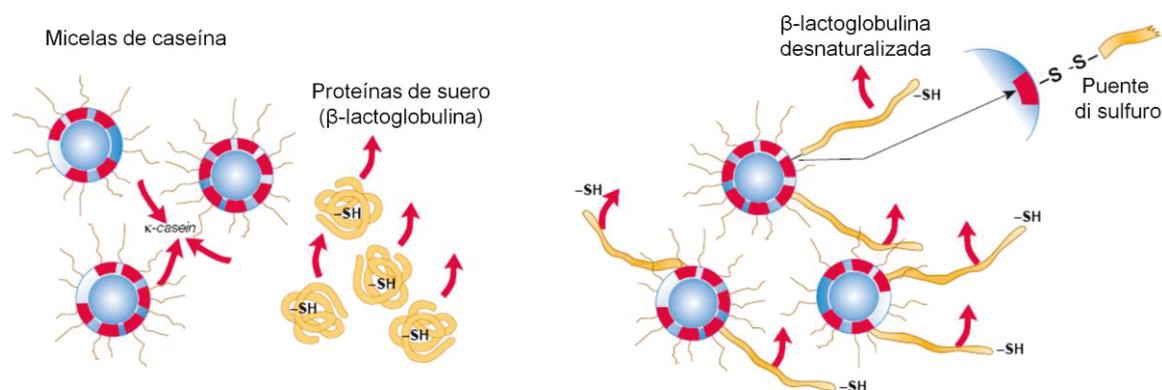


Figura 1-5. La κ -caseína se adhiere a la β -lactoglobulina durante la desnaturalización (Rollema y Fox, 1992).

Por el calentamiento, parte de la κ -caseína se libera a la fase sérica donde se asocia con proteínas de suero (Corredig y col., 2011; Singh y Fox, 1987a; Jang y Swaisgood 1990). Estos agregados de proteínas de suero de leche formados entre proteínas son dispersados en la fase soluble o bien adsorbidos en la superficie de las micelas de caseínas (Corredig y col., 2011). Donato y Guyomarc'h, (2009) informaron que el tamaño de los agregados se encuentra comprendido entre 30 y 100 nm y la relación de agregados solubles/ligados depende del pH de la leche. Se ha encontrado, para tales complejos aislados de leche descremada calentada, una relación de proteínas de suero/ κ -caseína (molar o de masa) de 1-5:1 y de 0.5-3.5:1 para los complejos solubles y ligados a micelas de caseínas, respectivamente. De esto se deduce que los residuos de cistina que están localizados en el para- κ -caseinato de la proteína deben estar relativamente accesibles a las proteínas entrantes. La duda aun persiste en cómo las proteínas del suero agregadas penetran la capa pilosa para formar los puentes disulfuros con la κ -caseína. Quizás existirían cambios en la capa pilosa de κ -caseína durante el calentamiento, o el calentamiento provocaría rearrreglos de la superficie de la micela que permiten que esta interacción ocurra (Singh, 2004).

El tratamiento térmico, asimismo, cambia marcadamente la fase suero en los alrededores de las micelas (por ejemplo, cambios en pH y minerales solubles, en particular iones calcio, ruptura de lactosa y urea) así como a las propias micelas (asociación de proteínas de suero, cambios en fosfato de calcio coloidal, defosforilación, disociación de caseínas). No se sabe exactamente cuál cambio particular es directamente responsable de la coagulación, de la

predisposición de la leche a la coagulación o consecuencia del proceso de coagulación. Las etapas iniciales en un proceso de coagulación por calor deben involucrar un cambio en interacciones coloidales que permiten a las micelas acercarse unas a las otras y permanecer juntas lo suficiente como para que ocurra una reacción química.

A temperaturas superiores a 100 °C, el procesamiento térmico de sistemas lácteos concentrados conteniendo sacarosa induce la gelación térmica de las proteínas de la leche, lo que define la textura de productos tales como el dulce de leche y leche condensada, tanto durante su elaboración o esterilización (Rozycki y col., 2010). Las variables que más influyen en el proceso de gelación de estos sistemas son la temperatura, el pH y la concentración de proteína, que está determinada por la relación caseína-sacarosa (Rozycki y col., 2010).

Los geles de proteínas lácteas son irreversibles, en contraste con muchos otros geles alimenticios. Los geles lácteos son generalmente clasificados como geles particulados, a pesar que es reconocido que no son geles particulados simples ya que la estructura interna de las partículas de caseínas juega un importante rol en sus propiedades reológicas. En estos productos gelificados la apariencia global, microestructura, y propiedades reológicas son atributos importantes que contribuyen con su percepción sensorial global y funcionalidad (Lucey, 2002).

La coagulación de la leche en calentamientos extensos a altas temperaturas (120–140 °C) es una consecuencia de la pérdida de la estabilidad de las micelas de caseína, como resultados de numerosos cambios físicos y químicos en sus componentes. Las micelas de caseínas constituyen los bloques básicos que conforman este gel lácteo.

Influencia de la sacarosa

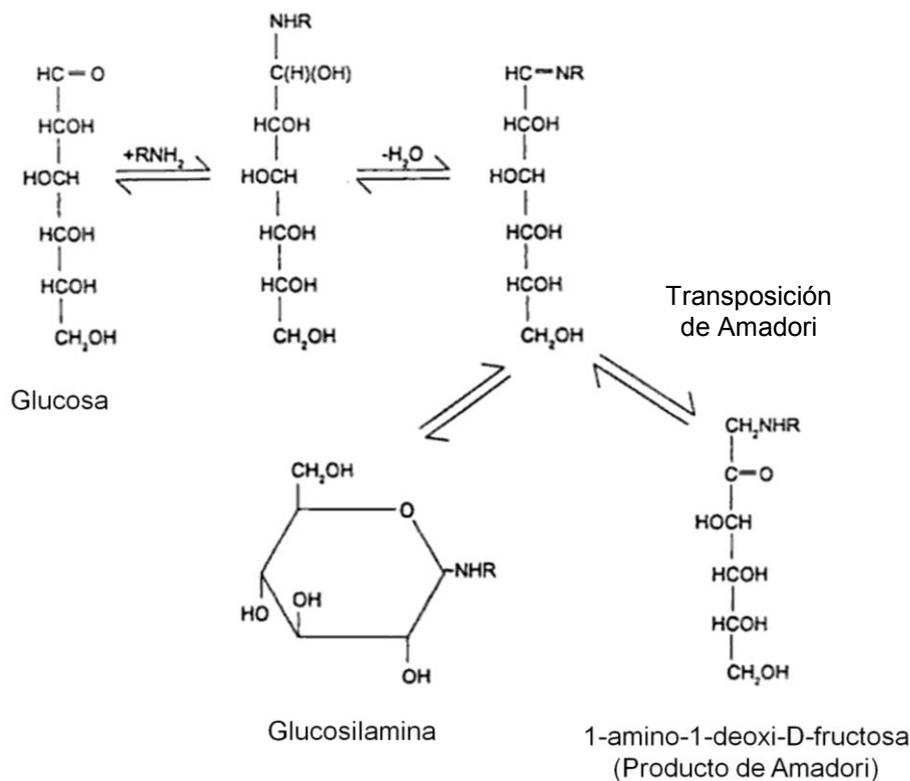
La sacarosa afecta la desnaturalización y funcionalidad de las proteínas de suero. Según Kulmyrzaev y col. (2000) tendría dos efectos: en primer lugar, estabiliza el estado globular de las proteínas, lo que hace necesario calentar el sistema a temperaturas más altas para que las moléculas se desplieguen, y en segundo lugar, aumentar la fuerza de las interacciones proteína-proteína, lo cual significa que una vez que las moléculas están desplegadas, aumenta la atracción entre ellas, conduciendo a geles más resistentes. El efecto global de la sacarosa por lo tanto, dependerá del equilibrio de estos dos procesos diferentes.

Desarrollo del color - Reacción de Maillard

En determinadas condiciones, los azúcares reductores producen colores pardos que poseen gran interés y son deseables en algunos alimentos, como el dulce de leche. Este pardeamiento es debido a la reacción química entre azúcares reductores, principalmente D-glucosa, y restos amino de aminoácidos libres o formando parte de una proteína, conocida

como reacción de Maillard o pardeamiento no enzimático. Cuando aldosas o cetosas se calientan en solución con aminas se produce una variedad de reacciones que dan lugar a la formación de numerosos compuestos, algunos de los cuales poseen aroma y sabor o son polímeros de color oscuro, mientras que ambos reactantes desaparecen lentamente.

El azúcar reductor reacciona reversiblemente con la amina para producir una glicosilamina, tal como se ilustra en la Figura 1-6 para la D-glucosa. Ésta sufre una reacción denominada transposición de Amadori, que resulta en la formación, en el caso de la D-glucosa, de un derivado de la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa. La reacción continúa, de manera especial a pH 5 o inferior para dar un producto intermediario que sufre una deshidratación. Eventualmente, puede formarse un derivado del furano, el de una hexosa es el 5-hidroximetil-2-furaldehído (HMF) (Figura 1-6). En condiciones de menor acidez (pH mayor de 5), los compuestos cíclicos reactivos (HMF y otros) se polimerizan rápidamente para dar un material que contiene nitrógeno, oscuro e insoluble en agua.



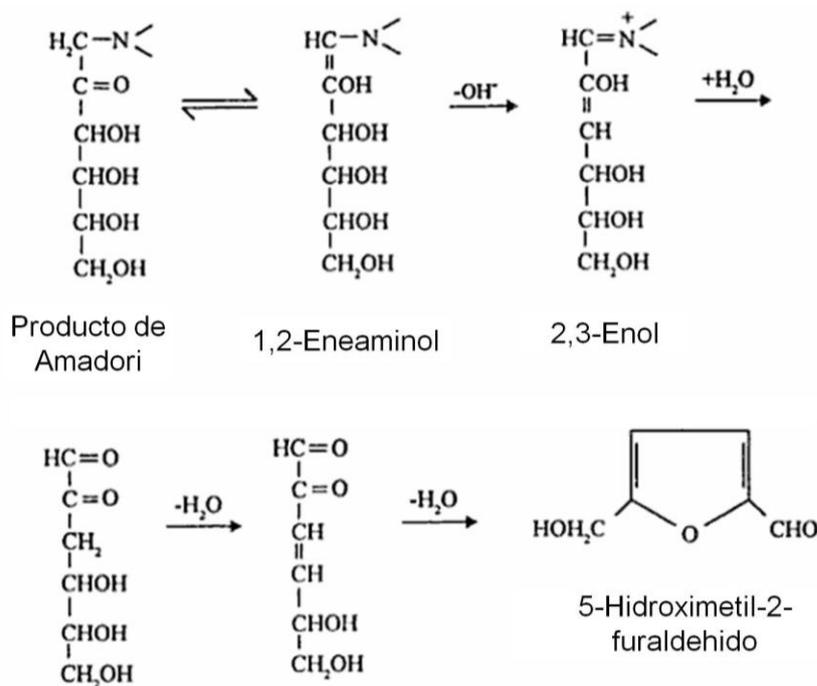


Figura 1-6. Productos de la reacción de D-glucosa con una amina (RNH₂) y conversión de un producto de Amadori en HMF.

Este proceso de pardeamiento no enzimático es importante en la producción de caramelos, “toffees” y otros dulces, como el dulce de leche, en los que los azúcares reductores reaccionan con proteínas de la leche. Sin embargo, a pesar de que la reacción de Maillard es considerada de utilidad en estos productos, también ejerce efectos negativos, por ejemplo, por disminución de la L-lisina, un aminoácido esencial, cuyo grupo ε-amino puede reaccionar incluso cuando el aminoácido es parte de una proteína (BeMiller y Whistler, 2000), haciéndolo no disponible para la digestión, y ocasionando la disminución de la calidad nutricional del producto (Finot, 1990; van Boekel, 1998).

En la elaboración del dulce de leche, el pardeamiento no enzimático es inducido por el tratamiento térmico y comienza por la condensación de los azúcares reductores con proteínas, formando lactulosil-lisina, un producto de Amadori estable. La alta concentración de lactosa y las proteínas ricas en lisina de la leche hacen a los productos lácteos muy sensibles a esta reacción (De Block y col., 1998; Guyomarc’h y col., 2000; Kessler y Fink, 1986).

La velocidad de la reacción de Maillard es influenciada por muchos factores, tales como temperatura, actividad acuosa (a_w), pH, concentración, tipo y relación de azúcares reductores a grupos amino (lisina) (Labuza y Baisier, 1992). Se ha informado que la velocidad máxima se alcanza para a_w entre 0.5-0.75 (Kaanane y Labuza, 1988; Labuza y Saltmarch, 1981).

Durante el proceso de elaboración, el agua de la leche se va evaporando y los ácidos presentes en la leche se van concentrando. Así, la acidez de la leche aumenta de una manera tal que se podría producir sinéresis por coagulación de las proteínas por pH, ocasionando el "cortado" del dulce, resultando en una textura arenosa y áspera en el producto. El neutralizado de la leche de partida con bicarbonato hasta reducir su acidez a 13°D antes de comenzar con el proceso de elaboración previene este defecto, aumentando el pH de la mezcla por encima del punto isoeléctrico de las proteínas y, favoreciendo el desarrollo del color a pH neutro o alcalino.

Asimismo, hay evidencia científica acerca del efecto que tienen conjugados proteínas/polisacáridos formados por reacción de Maillard sobre la estructura de los geles formados. Así, Spotti y col. (2013) estudiaron mediante técnicas reológicas geles formados con concentrados de proteínas de suero (WPC) y dextranos, y con geles obtenidos tras su calentamiento a fin de obtener los conjugados. La gelificación de los sistemas conjugados fue retardada y los geles formados fueron mucho más débiles que los geles mixtos. Es probable que en los sistemas conjugados la formación de enlaces disulfuro entre las moléculas de proteína e interacciones hidrofóbicas podrían verse afectados, siendo los geles conjugados más débiles que los geles mixtos (Spotti y col., 2013).

1.2.5 Textura del dulce de leche

El dulce de leche tiene una textura típica que es importante para los consumidores en la evaluación de su aceptabilidad general (Hough y col., 1986). La mezcla resultante de hidratos de carbono, proteínas y grasas en este tipo de productos en general, determina sus propiedades reológicas, térmicas y estructurales, lo que afecta a sus características funcionales. El dulce de leche (DL) es un sistema disperso mixto; como el medio dispersante puede contener varios tipos de partículas dispersas, el producto puede ser, simultáneamente, una emulsión, una suspensión, y un gel. Es sobre todo un sistema acuoso de no-equilibrio con las estructuras basadas en biopolímeros multifuncionales, que cumplen al mismo tiempo varias funciones estructurales del sistema (Tolstoguzov, 2000).

Tradicionalmente, los polisacáridos se han incorporado en productos lácteos para mejorar numerosas propiedades y proporcionar estabilidad, por lo que la comprensión de su comportamiento en matrices lácteas durante el procesamiento y almacenamiento permite predecir su desempeño como ingrediente funcional para obtener una calidad óptima en términos de textura, estructura, sensación en la boca, vida útil y rendimiento en la digestión (Corredig y col., 2011).

Hay dos razones para el uso de hidrocoloides en productos lácteos: mejoran su textura dando cuerpo a formulaciones líquidas y producen gel. Este es el caso de, por ejemplo, leches saborizadas, yogurt bebible, flanes, natillas. En helado, la retención de agua por

parte de los hidrocoloides ayuda a prevenir el crecimiento de los cristales causado por variación de la temperatura durante el almacenamiento y también proporciona una fusión lenta. Por otro lado, los hidrocoloides incrementan la vida útil de productos lácteos que de otro modo sufrirían desuerado, sedimentación de partículas dispersas, cremado o floculación de las gotas de la emulsión. Ejemplo de esto son las bebidas de fruta y leche, leche chocolatada, crema, leche evaporada y fórmulas infantiles (Syrbe y col., 1998).

Desde el punto de vista industrial, hay tres aspectos de la textura de los DL que son necesario controlar: la consistencia, considerada en este caso como la capacidad del producto de autosostenerse sin derramarse al ser extendido según las técnicas pasteleras comunes; el tipo de corte, que va a determinar la formación o no de hilos, al separar dos porciones del producto y, por último, la extensibilidad, que va a condicionar la uniformidad de la capa que se forme al depositarlo sobre una superficie. La medida instrumental de estas características no es sencilla.

El comportamiento mecánico de los alimentos semisólidos se puede analizar con distintas técnicas (penetración, corte, compresión) cuya aplicabilidad está condicionada por la propia estructura del producto. Entre las numerosas técnicas utilizadas para evaluar las propiedades estructurales de este tipo de productos, las determinaciones reológicas son consideradas una valiosa herramienta para encontrar los elementos fundamentales en su organización estructural, y que tienen relevancia durante el proceso de elaboración del mismo, debido a su naturaleza viscosa (Navarro y col., 1999, Pedrero y col., 2001).

1.3 Reología

La palabra reología significa etimológicamente "estudio del flujo" (del griego *reos*: fluir y *logos*: ciencia) y fue propuesta por E.C.Bingham para definir la rama de la ingeniería cuyo objetivo es el conocimiento fundamental y práctico de la deformación o flujo de la materia. Hoy en día se acepta que la reología es una ciencia interdisciplinaria cuyo objeto es el estudio de la deformación y/o características del flujo de la materia debido a la acción de fuerzas mecánicas externas. La reología estudia el comportamiento de materiales viscoelásticos, los cuales, durante un ensayo de deformación, exhiben al mismo tiempo propiedades viscosas y elásticas (Macosko, 1994).

Tradicionalmente, los materiales deformables se clasificaban en dos grupos: sólidos elásticos y fluidos viscosos (líquidos y gases). Hoy sabemos que entre estos dos casos límite, existe un amplio espectro de tipos de materiales con diferentes comportamientos, que son el objeto de estudio de la reología.

En los comienzos de esta disciplina científica, los estudios reológicos se orientaban a caracterizar principalmente materiales tales como asfaltos, lubricantes, pinturas, plásticos y

gomas desde un punto de vista predominantemente fenomenológico. La reología como ciencia independiente ha sufrido un importante desarrollo en la segunda mitad del siglo XX debido al interés que a nivel industrial suscitan materiales plásticos, soluciones de polímeros, fluidos biológicos, cuyo comportamiento dinámico no puede explicarse mediante las leyes clásicas. La reología presenta en la actualidad un marco teórico consolidado y en continuo crecimiento. De esta forma, esta disciplina logra producir significativos avances en temas de alto interés tecnológico, como por ejemplo, en la bioreología, donde se estudian las macromoléculas naturales, en reología de polímeros sintéticos involucrando así a la industria de materiales modernos y en la reología de suspensiones donde intervienen diferentes tipos de fases discretas. Últimamente surgieron importantes aplicaciones de esta disciplina en la industria biotecnológica y en la producción de materiales biomédicos (Barnes y col., 1991; Macosko, 1994; Young y col., 2005; Kiessling y col., 1999; Pompe y col., 2003). Asimismo, la creciente importancia económica y social de la producción de alimentos, junto con la complejidad de la tecnología de producción, procesado, transporte y aceptación de estos materiales alimentarios frágiles y perecederos requiere un mayor conocimiento de sus propiedades físicas y mecánicas. Por ello, para producir alimentos de mayor calidad es necesario comprender las leyes físicas que gobiernan la respuesta de los materiales viscoelásticos.

Según White (1970) la reología de los alimentos es el estudio de la deformación y flujo de los materiales frescos, productos intermedios y productos finales de la industria alimentaria. El proceso de masticación e ingestión de alimentos implica someter al alimento a una serie de deformaciones y flujos con el fin de descomponer su estructura en una forma más adecuada para su ingestión y posterior digestión (Sherman, 1970; Müller, 1973; Rha, 1975). El desarrollo de esta ciencia ha permitido que sea posible determinar mediante métodos instrumentales una serie de parámetros objetivos directamente relacionados con las características sensoriales y subjetivas que definen la textura de un alimento. Cabe destacar, además, que el estudio del comportamiento reológico de los cuerpos contribuye al conocimiento de su estructura; por ejemplo, existe cierta relación entre el tamaño y forma molecular de las sustancias en disolución y su viscosidad, así como entre el grado de entrecruzamiento de los polímeros y su elasticidad (Müller, 1973).

Existen numerosas áreas en la industria de alimentos donde se requiere información reológica (Steffe, 1996):

- a) Cálculos de ingeniería de procesos que involucran un amplio espectro de equipamientos tales como líneas de tuberías, bombas, extrusores, mezcladores, cortadores, intercambiadores de calor, y viscosímetros en línea.
- b) Determinación de la funcionalidad de ingredientes en desarrollo de productos.
- c) Control de calidad a nivel intermedio o en el producto final.

- d) Pruebas de vida útil.
- e) Evaluación de textura de alimentos por correlación con datos sensoriales.
- f) Análisis de ecuaciones reológicas de estado o ecuaciones constitutivas.

1.3.1 Definiciones

Tensor esfuerzo

En general, sobre un elemento de un material cualquiera pueden actuar dos tipos de esfuerzos (Figura 1-7):

- Esfuerzos normales, referidos a la componente en dirección perpendicular a la superficie considerada, aplicado como una compresión.
- Esfuerzos de cizalla o cortantes, que son las componentes tangenciales a dichas superficies (Darby, 1976; Dealy, 1982), aplicados como un esfuerzo cortante o de cizalla.

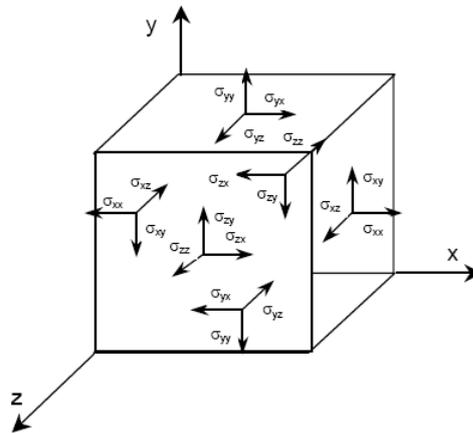


Figura 1-7. Esfuerzos normales y tangenciales sobre un elemento de un material.

El esfuerzo o tensión es una magnitud que se define como una fuerza por unidad de superficie, teniendo por lo tanto unidades de presión. Referidas a un espacio tridimensional, las magnitudes de las que deriva el esfuerzo (fuerza y superficie) son vectores de tres componentes, por lo que para definir completamente el esfuerzo es necesario especificar nueve componentes. Por ello, el esfuerzo es un tensor de segundo orden, que en forma matricial se representa de la siguiente forma:

$$\sigma = \begin{pmatrix} \sigma_{xx} & \sigma_{xy} & \sigma_{xz} \\ \sigma_{yx} & \sigma_{yy} & \sigma_{yz} \\ \sigma_{zx} & \sigma_{zy} & \sigma_{zz} \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 1-1}$$

En el tensor esfuerzo, el primer subíndice se refiere a la orientación del plano sobre el que la fuerza actúa, y el segundo indica la orientación de dicha fuerza.

Tensor deformación y tensor velocidad de deformación

La deformación es una medida cuantitativa de la extensión con la que un material ha sido deformado. La magnitud de esa deformación está determinada por el desplazamiento relativo de los puntos, y es por lo tanto una magnitud adimensional. Como consecuencia de la aplicación de un esfuerzo, una vez alcanzado el estado estacionario, se establece un perfil de velocidades que origina un gradiente de velocidades de cizalla (γ'). La deformación γ , y la velocidad de deformación, γ' , son la expresión matemática de la respuesta de un material al esfuerzo aplicado sobre él. Ambas son también tensores de segundo orden con nueve componentes, ya que las dos magnitudes que lo definen son vectores con tres componentes en el espacio.

$$\gamma = \begin{pmatrix} \gamma_{xx} & \gamma_{xy} & \gamma_{xz} \\ \gamma_{yx} & \gamma_{yy} & \gamma_{yz} \\ \gamma_{zx} & \gamma_{zy} & \gamma_{zz} \end{pmatrix} \tag{Ec. 1-2}$$

$$\gamma' = \frac{d\gamma}{dt} = \begin{pmatrix} \gamma'_{xx} & \gamma'_{xy} & \gamma'_{xz} \\ \gamma'_{yx} & \gamma'_{yy} & \gamma'_{yz} \\ \gamma'_{zx} & \gamma'_{zy} & \gamma'_{zz} \end{pmatrix} \tag{Ec. 1-3}$$

Cizalla simple

Considérese el modelo constituido por dos placas paralelas a una distancia “h” y un material comprendido entre ellas (se supone que la distancia entre placas es mucho menor que la dimensión de las mismas). Si la placa superior es sometida a una fuerza (F), que la obliga a desplazarse una distancia Δx con una velocidad constante (v_0), mientras que la placa inferior se mantiene en reposo, se genera una deformación en el material denominada “deformación por cizalla simple” (Figura 1-8).

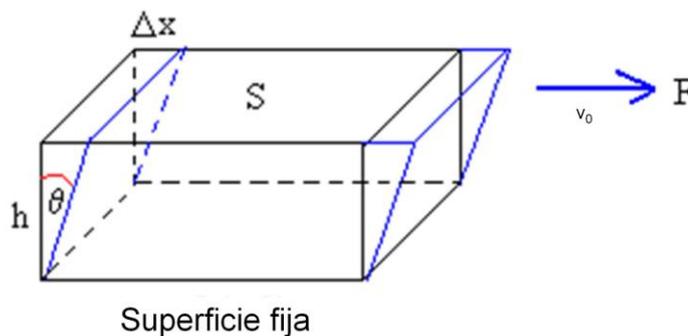


Figura 1-8. Deformación de un material bajo un esfuerzo de cizalla simple.

Al aplicar una fuerza continua sobre la placa superior, que la obliga a desplazarse a una velocidad constante, se generará un perfil de velocidades unidireccional en el material de acuerdo a:

$$v_x(y) = \frac{\partial v_x}{\partial y} y \quad ; \quad v_y = v_z = 0 \quad \text{Ec. 1-4}$$

Si no se produce deslizamiento en las superficies de las placas, la deformación por cizalla que sufre cada elemento del material se expresa como:

$$\gamma = \frac{dx}{dy} \quad \text{Ec. 1-5}$$

La velocidad de deformación $\gamma' = v_0/h$ es constante respecto de la coordenada "y", y por la ecuación de continuidad tampoco varía con la coordenada "x".

Por estas características particulares, el perfil de velocidades propuesto genera un flujo de corte simple y homogéneo. A partir de las condiciones de simetría se obtiene la forma general del tensor esfuerzo (Bird y col., 1977).

1.3.2 Caracterización reológica de un material

La caracterización reológica de un material consiste en encontrar la relación, en forma de ley matemática, que existe entre el esfuerzo aplicado y la respuesta dinámica resultante en forma de deformación o velocidad de deformación (Darby, 1976). Dicha expresión matemática puede ser de dos tipos:

- **Ecuación constitutiva** (o ecuación reológica de estado): relaciona todas las componentes del esfuerzo y de la deformación. Es una característica única del material y representa el comportamiento reológico más general, definiéndolo para cualquier tipo de deformación o flujo.
- **Función del material**: es una relación entre ciertos componentes del esfuerzo y la deformación siendo un caso especial la ecuación constitutiva; expresándose como ecuación empírica resultante de un ajuste de datos experimentales.

Comportamientos reológicos

Las teorías clásicas de la elasticidad y la hidrodinámica distinguen de forma radical entre sólidos y fluidos mediante los conceptos de sólido perfectamente elástico y, en el otro extremo, el fluido puramente viscoso (Whorlow, 1992; Macosko, 1994):

- **Sólido elástico perfecto**: es el sólido perfectamente elástico, en el cual la aplicación de una fuerza produce una deformación permanente proporcional al esfuerzo aplicado (Ec. 1-6). Esta proporcionalidad vendrá dada por el módulo elástico del

material o módulo de Young (G). Cuando esta fuerza por unidad de superficie cesa, el cuerpo recupera instantáneamente su estado inicial imperturbado.

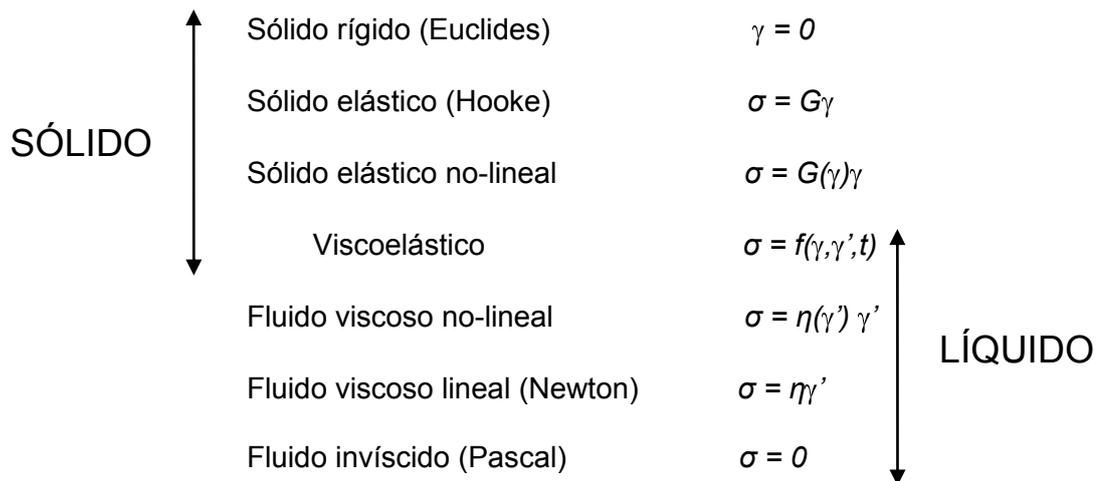
$$\sigma = G\gamma \quad (G = cte) \tag{Ec. 1-6}$$

- **Líquido viscoso puro:** si el material en consideración es un fluido de viscosidad constante, el esfuerzo aplicado es proporcional al cambio instantáneo de deformación con el tiempo o velocidad de deformación según Ley de Newton (Ec. 1-7), independientemente de la deformación producida. Esta proporcionalidad viene dada por la viscosidad del material (η).

$$\sigma = \eta\gamma' \quad (G = cte) \tag{Ec. 1-7}$$

En realidad, ambos conceptos no constituyen más que idealizaciones del comportamiento dinámico de los materiales, que se cumplen sólo en casos límite. Entre estos comportamientos extremos se engloba un gran número de materiales, definidos como **materiales viscoelásticos**, porque presentan tanto características de flujo viscoso como de sólido elástico.

Los materiales se pueden clasificar reológicamente con respecto a la relación existente entre el esfuerzo aplicado y la deformación o velocidad de deformación en cizalla simple (Darby, 1976), como puede observarse a continuación:



Una clasificación más correcta debe tener en cuenta que un material puede presentar un comportamiento u otro dependiendo de la magnitud del esfuerzo o de la deformación aplicada, así como de la historia de cizalla previa. A su vez, esta clasificación del

comportamiento reológico de materiales se extiende más mediante la introducción de la escala de tiempo del proceso de deformación.

Comportamiento de flujo estacionario

Fluidos newtonianos y no-newtonianos

Los fluidos newtonianos son aquellos en los que los valores de esfuerzo de corte y velocidad de cizalla mantienen una relación de proporcionalidad directa, como fue mencionado anteriormente, cumpliendo la denominada ley de Newton de la viscosidad (Ec. 1-7). Para que un fluido sea newtoniano debe cumplir que la viscosidad no varíe con la velocidad ni el tiempo de cizalla, sean nulas las dos diferencias de esfuerzos normales y que el esfuerzo sea nulo inmediatamente después de que cese la cizalla (Figura 1-9).

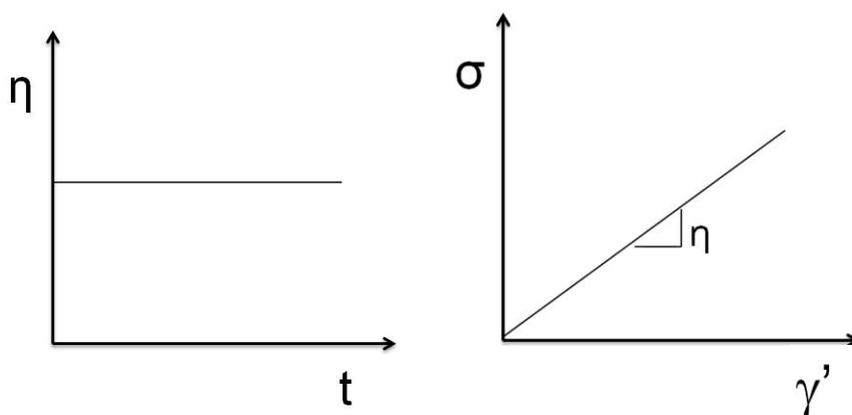


Figura 1-9. Representación del comportamiento de un fluido que sigue la ley de Newton de la viscosidad.

La propiedad reológica del material denominada viscosidad dinámica o newtoniana (η) sólo depende de la naturaleza del material y de las condiciones de presión y temperatura. La viscosidad se puede definir como una medida de la intensidad de disipación de energía necesaria para mantener la deformación continua de un fluido, y su unidad en el Sistema Internacional es Pascal por segundo (Pa.s).

Presentan comportamiento newtoniano los sistemas con estructura sencilla, como el agua, aceites minerales, disoluciones diluidas de polímeros.

Existen algunos fluidos en los que la relación entre esfuerzo y velocidad de cizalla no es constante, sino que depende de la velocidad de cizalla y, en muchas ocasiones del tiempo. Son fluidos que no cumplen con la ley de Newton de la viscosidad. Se conocen como fluidos no-newtonianos. Sin embargo, aunque muchos fluidos no-newtonianos no son viscosos puros, se pueden realizar medidas de esfuerzo y velocidad de cizalla en estado estacionario y puede definirse la relación entre estas magnitudes como una característica reológica

análoga a la viscosidad newtoniana (Ec. 1-8). Se trata de la llamada viscosidad aparente, η que es la que correspondería un sistema newtoniano cuya recta característica cortase a la curva que representa al fluido no-newtoniano en el punto en el cual queremos definir la viscosidad aparente.

$$\eta = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}}$$
Ec. 1-8

Un fluido no-newtoniano puede tener comportamiento newtoniano en un cierto rango de esfuerzos lo suficientemente bajos para no modificar su estructura. Sin embargo, la aplicación de un esfuerzo superior a un esfuerzo crítico modifica la estructura y, por lo tanto, la viscosidad del fluido. Por ello, el concepto de viscosidad como propiedad intrínseca desaparece y, en todo caso, puede hablarse de viscosidad aparente.

Los fluidos no-newtonianos se pueden clasificar por la forma en la que el esfuerzo (σ) varía con la velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$) (denominado "curva de flujo") o en términos de la variación de la viscosidad aparente (η) con $\dot{\gamma}$ (Darby, 1976). A continuación se describen los diferentes comportamientos:

✓ **Fluidos pseudoplásticos** ("shear-thinning").

Para estos sistemas, al aumentar el esfuerzo aplicado la velocidad de cizalla también aumenta, pero su dependencia con el esfuerzo es mayor que lineal, por lo tanto la viscosidad aparente disminuye. Es decir, estos materiales muestran un descenso en viscosidad aparente según aumenta la velocidad de deformación.

Es el más habitual entre los fluidos no-newtonianos. Algunos ejemplos característicos son polímeros y sus disoluciones, suspensiones, emulsiones (Mediedo y col., 1994, Hudson y Ferguson, 1994; Martín y col., 1994). Este comportamiento puede explicarse considerando las interacciones moleculares: en reposo, las moléculas poliméricas dispersas se encuentran entrelazadas unas con otras y las partículas en suspensión ocupan posiciones distribuidas al azar a causa del movimiento de agitación térmico de las mismas. Cuando se agita el sistema, las cadenas poliméricas se desenredan y las partículas se alinean a lo largo de líneas de corriente. Todo ello da lugar a una disminución de la fricción interna y, por lo tanto, de la viscosidad aparente del sistema.

En la Figura 1-10 se observa el resultado de aplicar una determinada cizalla a una dispersión. Así, las partículas contenidas en el líquido se orientan en la dirección del flujo, mientras que las moléculas en forma de cadena se desenredan, estiran y orientan paralelas a la dirección del flujo. Aquellas partículas que poseen forma esférica pueden deformarse adquiriendo una forma alargada y las que forman agregados pueden separarse.

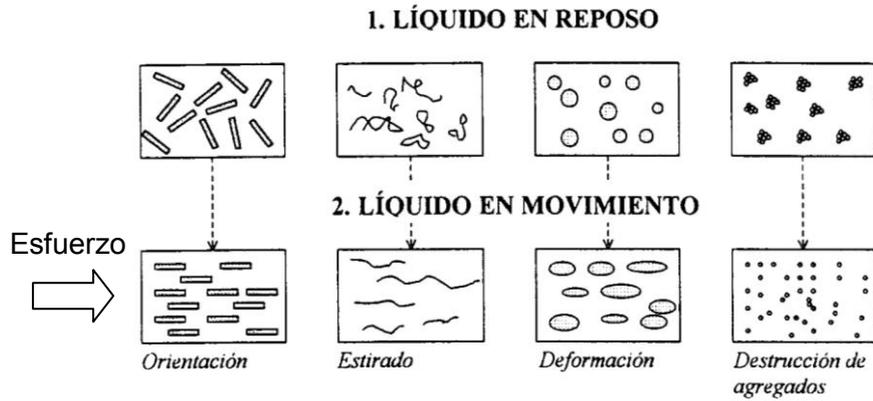


Figura 1-10. Fluido pseudoplástico en reposo y luego de aplicar un esfuerzo (en movimiento).

Un ejemplo muy extendido de pseudoplasticidad es el comportamiento relacionado con un cambio en la estructura del material al aumentar $\dot{\gamma}$, caracterizado por tres zonas bien diferenciadas (Reiner, 1960). El comportamiento es newtoniano a bajas velocidades de deformación con una viscosidad constante η_0 en la primer zona. La zona intermedia posee características pseudoplásticas en la que se produce una disminución de la viscosidad. A altas velocidades de deformación presenta un comportamiento newtoniano caracterizado por una viscosidad límite η_∞ . Las diferentes regiones se relacionan con cambios en la estructura del material al aumentar la velocidad de deformación y pueden ser observadas en la Figura 1-11.

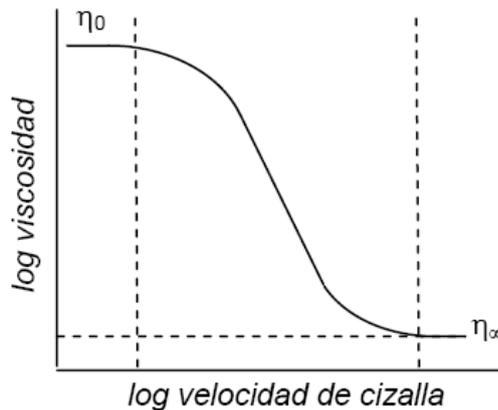


Figura 1-11. Comportamiento de flujo característico de algunos fluidos estructurados.

✓ **Fluidos dilatantes** (“shear-thickening”)

Estas sustancias, contrariamente a los fluidos pseudoplásticos, muestran un aumento en la viscosidad aparente al aumentar la velocidad de deformación, experimentando una dilatación al someterse a dichos esfuerzos de corte. Algunas suspensiones concentradas de

partículas sólidas, proteínas y ciertas disoluciones de polímeros y detergentes presentan este comportamiento (Ferguson y Kemblowski, 1991).

A nivel molecular, este comportamiento puede explicarse de la siguiente manera: en reposo, el espacio que ocupa el líquido entre partículas es mínimo. A baja velocidad de cizalla, la fricción entre partículas es relativamente baja porque el líquido actúa como lubricante. Sin embargo, a alta velocidad de cizalla, el movimiento de unas partículas con respecto a otras aumenta la fricción entre ellas, aumentando consecuentemente la viscosidad aparente.

✓ **Materiales plásticos**

La plasticidad es un fenómeno que presentan aquellas sustancias que se comportan como sólidos elásticos, almacenando una cierta cantidad de esfuerzo cuando son sometidas a esfuerzos menores que un determinado valor σ_0 , denominado umbral de fluencia (o *yield stress*). Para valores de esfuerzo mayores al umbral de fluencia pueden darse dos tipos de respuestas: análoga a las de un fluido newtoniano (fluido plástico de Bingham) o comportamiento no lineal.

Como ejemplos de esta situación se encuentran pastas, suspensiones, emulsiones, grasas, pinturas, cristales líquidos, etc. (van Wazer y col., 1963; Yoshimura y col., 1987; Cheng, 1986).

El concepto de umbral de fluencia aparece cuando a velocidades de deformación muy bajas persiste un esfuerzo de corte no despreciable, pero es probablemente un concepto inexacto. Lo que sucede en realidad es que la escala de tiempo experimental es limitada, y no permite medir velocidades de deformación tan bajas que requieran excesivo tiempo de ensayo. Al aplicar un esfuerzo cortante más pequeño que el umbral de fluencia se considera que la velocidad de deformación es nula ya que en el tiempo de duración del ensayo no se detecta ninguna deformación, pero probablemente presenta un valor muy bajo distinto de cero. De todo ello resulta que el esfuerzo de corte límite es más bien un dato extrapolado que una realidad física, y lo que sucede en realidad es que se tiene una viscosidad muy grande para valores muy bajos de la velocidad de deformación (Barnes y Walters, 1985).

✓ **Fluidos con comportamiento dependiente del tiempo**

Existen algunos fluidos no-newtonianos, que presentan una variación de la viscosidad no sólo con la velocidad de cizalla, sino también con el tiempo de acción de ésta. Este fenómeno se debe a que la reordenación de la estructura al flujo al producirse un cambio en la velocidad de cizalla requiere de un determinado tiempo, es decir, no ocurre instantáneamente. El efecto más común es el denominado tixotropía, que se caracteriza por un descenso de la viscosidad con el tiempo de cizalla y una recuperación total de la viscosidad cuando cesa la cizalla.

En la Figura 1-12 se presentan las representaciones del esfuerzo de corte (σ) vs la velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$) (curvas de flujo), características de cada tipo de fluido discutido anteriormente.

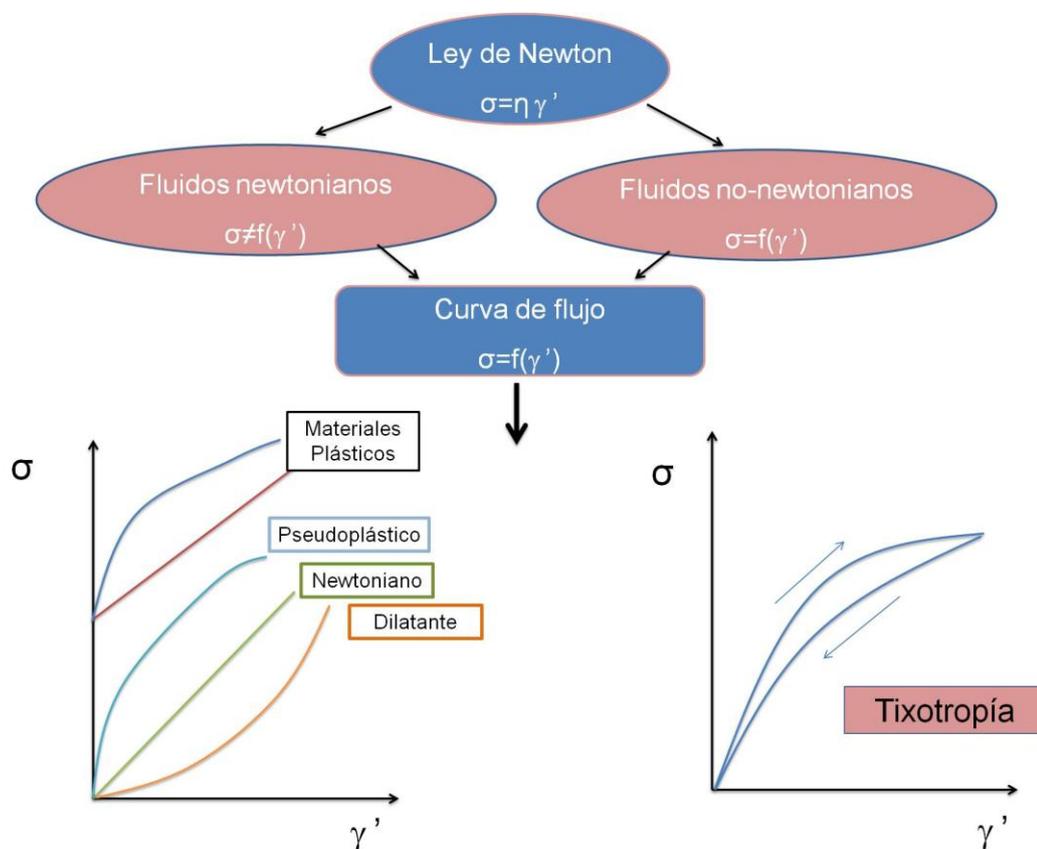


Figura 1-12. Diagrama de la clasificación de los diferentes tipos de comportamientos reológicos.

Los alimentos fluidos y semisólidos exhiben un amplio rango de comportamientos reológicos, debido a las variaciones en su composición y estructura (Rao y Cooley, 1984). A continuación se definen, de manera global, los modelos reológicos usados más frecuentemente para describir matemáticamente las propiedades de flujo de los alimentos. El modelado matemático proporciona una manera de representar una gran cantidad de datos en términos de una expresión matemáticamente sencilla.

Modelado matemático de las curvas de flujo en estado estacionario

Para muchos alimentos, el comportamiento elástico es muy escaso o puede despreciarse (como una excepción puede mencionarse la masa), siendo la principal área de interés la viscosidad. Las curvas de “esfuerzo de corte” versus “velocidad de deformación”, o de “viscosidad aparente” en función de “velocidad de deformación”, pueden modelarse matemáticamente usando diversas funciones.

Algunos de los modelos que han sido utilizados para representar el comportamiento de flujo de fluidos no-newtonianos (Steffe, 1996) son:

Ley de la Potencia:

$$\sigma = \eta \dot{\gamma}^n \quad \text{Ec. 1-9}$$

donde σ es el esfuerzo de corte, $\dot{\gamma}$ la velocidad de deformación, η la viscosidad aparente y n el índice de comportamiento de flujo.

Modelo de Casson:

$$\sigma^{1/2} = \sigma_0^{1/2} + K_c^{1/2} \dot{\gamma}^{1/2} \quad \text{Ec. 1-10}$$

donde σ es el esfuerzo de corte, $\dot{\gamma}$ la velocidad de deformación, K_c una constante y σ_0 el umbral de fluencia del sistema,

Modelo de Herschel-Bulkley:

$$\sigma = \sigma_0 + K \dot{\gamma}^n \quad \text{Ec. 1-11}$$

donde σ es el esfuerzo de corte, $\dot{\gamma}$ la velocidad de deformación, K el índice de consistencia, n el índice de comportamiento de flujo y σ_0 el umbral de fluencia. En los fluidos que siguen este modelo, la viscosidad aparente decrecerá con el aumento de la velocidad de deformación cuando $0 < n < 1.0$, mientras que su comportamiento será opuesto cuando $n > 1.0$.

Modelo de Cross (Rao, 1999):

$$\eta = \eta_\infty + \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{\left(1 + \left(\tau \dot{\gamma}\right)^m\right)} \quad \text{Ec. 1-12}$$

donde η es la viscosidad aparente, η_0 es la viscosidad a cero velocidad de deformación (denominada también viscosidad newtoniana), η_∞ es la viscosidad límite a alta velocidad de deformación (denominada también segunda viscosidad newtoniana), m es un exponente adimensional y τ es un tiempo característico de relajación del sistema.

Una modificación al modelo de Cross, que no contempla la segunda viscosidad newtoniana, está dada por la siguiente expresión:

$$\eta = \frac{\eta_0}{\left(1 + \left(\tau \dot{\gamma}\right)^m\right)} \quad \text{Ec. 1-13}$$

El modelo de Cross Modificado (Ec. 1-13) se ha aplicado anteriormente a otros hidrocoloides, con algunas desviaciones a bajas velocidades de cizalla. Cuando $\eta \ll \eta_0$, la Ec. 1-13 predice un comportamiento tipo “ley de la potencia”, cuando el valor de $(1 - m)$ se aproxima al índice de flujo n .

El modelo más adecuado para un fluido viscoelástico dependerá, en definitiva, de la respuesta del fluido a la deformación o el esfuerzo, y cuán bien se ajuste la expresión matemática a los datos experimentales.

Mientras que un líquido newtoniano, para una temperatura y presión dadas, presenta sólo un parámetro de viscosidad, las descripciones más simples de un líquido no-newtoniano consideran, como mínimo, dos parámetros: índice de consistencia (K , Pa.s ^{n}) e índice de comportamiento de flujo (n). Algunos fluidos también presentan un esfuerzo cortante límite o umbral de fluencia, como fue expuesto anteriormente en los modelos de comportamiento de flujo (σ_0 , Pa) (Barnes, 2001).

El índice de consistencia K , es una constante de proporcionalidad entre la relación de velocidad de deformación y el esfuerzo de corte aplicado que la produce. Es por lo tanto, un indicador del grado de viscosidad en fluidos no-newtonianos. El índice de comportamiento de flujo n , es un número adimensional que indica la cercanía al flujo newtoniano. Para un líquido newtoniano $n = 1$; para un fluido dilatante n es mayor que 1; y para un fluido pseudoplástico n es menor que 1. El umbral de fluencia es un parámetro estructural que indica el esfuerzo necesario para que la muestra comience a fluir (Bourne, 1982; Steffe, 1996).

Teóricamente, las propiedades reológicas fundamentales son independientes del instrumento en el cual son medidas, de manera que diferentes instrumentos producirán los mismos resultados; sin embargo, esto es un concepto ideal y diferentes instrumentos rara vez producen resultados idénticos; no obstante, el objetivo es distinguir las propiedades reológicas verdaderas del material de las caracterizaciones subjetivas (Steffe, 1996).

Comportamiento viscoelástico

El término viscoelasticidad engloba el comportamiento de muchos fluidos que pueden exhibir elasticidad y flujo cuando son sometidos a un cizallamiento. Es el formado por la suma de un componente elástico (Hookeano o no), que absorbe la energía aplicada transformándola durante la deformación en energía potencial, de forma que cuando esta

cesa, la deformación vuelve a su estado inicial, y un componente viscoso (newtoniano o no), que absorbe la energía aplicada transformándola en calor y fluyendo.

La mayor parte de las pastas y emulsiones concentradas, así como los geles, suelen mostrar viscoelasticidad. Esto se traduce en el comportamiento siguiente: a bajas deformaciones, el fluido viscoelástico se comporta literalmente como un sólido elástico. A altas deformaciones, estos fluyen de forma viscosa; es decir, como líquidos.

Un material viscoelástico posee una estructura interna que es capaz de almacenar energía a bajas deformaciones, energía que libera luego al cesar la deformación para volver a su configuración original, de manera similar a un resorte. Claro está, si la deformación es de magnitud suficiente, la estructura interna colapsa y se produce el flujo del material.

El estudio de la viscoelasticidad implica establecer relaciones entre el esfuerzo, la deformación o velocidad de cizalla y el tiempo. Es muy útil a la hora de obtener información sobre la microestructura del material (Ferry, 1980), estudiar el comportamiento de un material durante su almacenamiento, detectar posibles separaciones de componentes, etc.

En este tipo de comportamientos es posible encontrar dos situaciones diferentes. En el caso en el que tanto el esfuerzo como la deformación sean relativamente pequeños, de manera que la estructura del material se conserva en estado prácticamente imperturbado, las relaciones entre ambas magnitudes y el tiempo se pueden describir mediante ecuaciones diferenciales lineales de coeficientes constantes y el comportamiento se denomina "viscoelasticidad lineal". Esto implica que la relación entre la deformación y el esfuerzo es sólo función del tiempo y no de la magnitud del esfuerzo (Darby, 1976; Dealy, 1982). En el caso contrario, en el que la cizalla aplicada sea suficientemente elevada como para producir destrucción estructural, a dicho comportamiento se le denominará "viscoelasticidad no lineal".

Los criterios para caracterizar los materiales viscoelásticos son relativos y dependen del tiempo característico requerido por el material para responder a un cambio en esfuerzo o deformación, en comparación con la escala de tiempo de observación, además de la magnitud del esfuerzo o de la deformación. Esta escala de tiempo se cuantifica a través del número de Deborah (D_e) (Reiner, 1960). La definición más común de este parámetro es el cociente entre el tiempo de relajación característico del material y el tiempo de observación. Cuando $D_e \rightarrow 0$, los materiales tienden a un comportamiento puramente viscoso, mientras que cuando $D_e \rightarrow \infty$ se comportan como sólidos.

Modelos analógicos mecánicos

Clásicamente las respuestas de los materiales viscosos y elásticos han sido descritas mediante analogías con las de ciertos elementos mecánicos (Darby, 1976; Ferry, 1980; Tschoegl, 1989). La descripción de los materiales viscoelásticos se realiza, entonces, por

combinación lineal de elementos viscosos y elásticos; por tanto, estos modelos son aplicables solamente a comportamientos viscoelásticos lineales. El elemento puramente elástico se representa mediante un resorte ideal, ya que éste almacena toda la energía aplicada, mientras que el elemento puramente viscoso se representa mediante un amortiguador hidráulico en el que el pistón se mueve holgadamente dentro de un líquido newtoniano, disipándose en forma de calor toda la energía aplicada. Para el caso del resorte ideal, el factor de proporcionalidad entre esfuerzo y deformación es el módulo de Young, G (Ec. 1-5), mientras que para el amortiguador el factor de proporcionalidad es la viscosidad, η (Ec. 1-6).

Los materiales reales muestran comportamientos no lineales bajo grandes deformaciones, con lo que estos modelos sólo son adecuados para pequeños esfuerzos. Sin embargo, a pesar de esta limitación, los modelos analógicos resultan extraordinariamente útiles para comprender la respuesta de un material viscoelástico a un estímulo mecánico y relacionar las diferentes funciones viscoelásticas mediante un tratamiento matemático sencillo. De este modo, es posible reducir los valores de las diferentes funciones y su variación con el tiempo o la frecuencia a unos pocos parámetros capaces de describir el comportamiento del material.

1) Modelo de Maxwell

Es un modelo que a pesar de su sencillez, contiene todos los fundamentos conceptuales. Consta de un resorte y un amortiguador hidráulico colocados en serie como se observa en la Figura 1-13.



Figura 1-13. Elemento de Maxwell.

Si se aplica una deformación relativa, γ , al sistema mostrado, el resorte reacciona primero, seguido por el movimiento del pistón. Una vez que cesa la deformación, el resorte retorna a su forma original, usando la energía que es capaz de almacenar mientras es deformado. Por otro lado, el pistón no puede recuperarse; su desplazamiento es permanente. El esfuerzo en

ambos elementos es el mismo, mientras que la deformación total es la suma de la deformación elástica, γ_s y la deformación del fluido, γ_d :

$$\gamma = \gamma_s + \gamma_d \quad \text{Ec. 1-14}$$

Diferenciando respecto al tiempo y sustituyendo los valores de las velocidades de deformación elástica y viscosa por sus equivalentes en función del esfuerzo, módulo de elasticidad y viscosidad (Ec. 1-6 y 1-7), se tiene:

$$\sigma + \lambda \frac{d\sigma}{dt} = \eta \dot{\gamma} \quad \text{Ec. 1-15}$$

donde λ es el tiempo de relajación (tiempo característico del material) y queda definido como: $\lambda = \eta/G$. Este parámetro está relacionado con el tiempo necesario para la relajación del esfuerzo cuando el sistema se somete a una deformación. Valores bajos de tiempo de relajación corresponden a materiales en los que existe un carácter predominantemente fluido, en tanto que valores elevados corresponden a un mayor predominio del carácter sólido.

Para una situación estacionaria, la Ec. 1-15 se transforma en la correspondiente a un fluido newtoniano. Por el contrario, si el esfuerzo varía rápidamente la componente elástica será preponderante.

2) Modelo de Voigt

En este modelo los dos elementos mecánicos se colocan en paralelo (Figura 1-14) (Macosko, 1994).

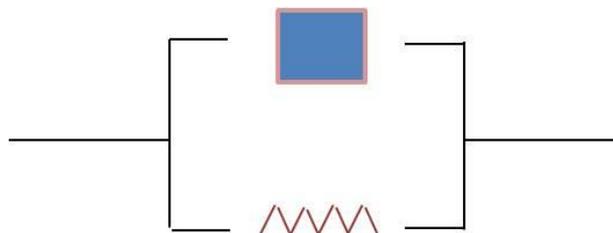


Figura 1-14. Elemento de Voigt.

En este caso, el esfuerzo total es la suma de los esfuerzos elásticos, σ_s , y viscosos, σ_d . Sustituyendo los valores por sus equivalentes según las Ec. 1-6 y 1-7, respectivamente, se obtiene:

$$\frac{\sigma}{G} = \lambda \cdot \dot{\gamma} + \gamma \quad \text{Ec. 1-16}$$

Aunque λ se define del mismo modo que el tiempo característico del modelo de Maxwell, su significado es el inverso, es decir, está relacionado con la rapidez con que se deforma un material sometido a un esfuerzo constante.

3) Modelos generalizados

Los modelos de Maxwell y Voigt son modelos muy simples que no pueden describir por sí mismo el comportamiento real de un material viscoelástico. Por lo general, estos materiales no tienen un tiempo de relajación tan simple, sino que relaja progresivamente. En este sentido, es necesario establecer una distribución de tiempo de relajación. Así, puede definirse el modelo de Maxwell generalizado, el cual se usa frecuentemente para describir fluidos reales eligiendo una distribución de tiempos de relajación adecuada (Thomson, 1888). Físicamente, el modelo consta de una disposición de N modelos de Maxwell individuales en paralelo, cada uno con un tiempo de relajación diferente (Figura 1-15).

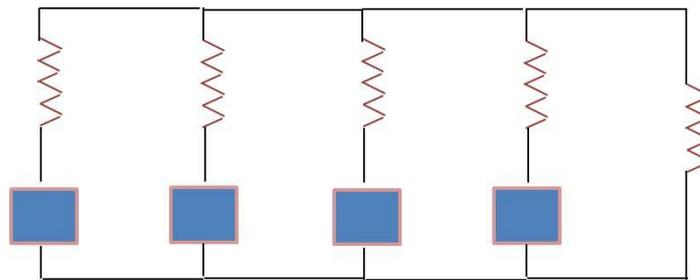


Figura 1-15. Modelo generalizado de Maxwell.

De forma análoga al modelo generalizado de Maxwell, se pueden tener N elementos de Voigt colocados en serie (Figura 1-16):

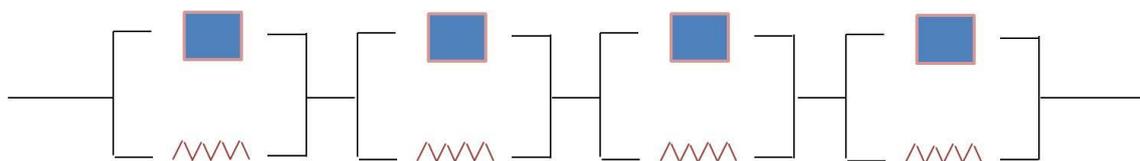


Figura 1-16. Modelo generalizado de Voigt.

Funciones viscoelásticas lineales

Existen principalmente tres tipos distintos de ensayos que pueden ser desarrollados para medir las propiedades fundamentales del material, ellos son los ensayos oscilatorios de baja amplitud o dinámicos, ensayos de relajación del esfuerzo y ensayos de fluencia y recuperación.

Ensayos oscilatorios de baja amplitud o dinámicos

Los ensayos oscilatorios constituyen una de las herramientas fundamentales y de creciente uso para la caracterización de las propiedades viscoelásticas de los alimentos, y son mucho más fiables que las medidas en estado estacionario (Bistany y Kokini, 1983). Esta técnica no destructiva posibilita que las medidas se realicen sin provocar daño estructural a la muestra, lo que permite relacionar los parámetros reológicos dinámicos con la estructura molecular en un estado de equilibrio próximo a una situación de reposo (Gunasekaran y Ak, 2000). Por lo tanto, un cambio en la estructura se reflejará en los valores de las funciones viscoelásticas dinámicas, e incluso en la dependencia de las mismas respecto a la frecuencia.

En los ensayos dinámicos, una vez determinado el límite de viscoelasticidad lineal, la caracterización completa del material requiere además la determinación del denominado espectro mecánico, es decir, de la influencia de la frecuencia del movimiento oscilatorio en un intervalo de frecuencias lo más amplio posible sobre los valores de al menos dos funciones viscoelásticas que permitan conocer tanto la respuesta elástica como la viscosa de un material.

Las medidas dinámicas se basan en la aplicación de un esfuerzo de corte o deformación por cizalla que varía de forma sinusoidal con el tiempo de la siguiente forma:

$$\sigma = \sigma_0 \text{sen}(\omega t) \quad \text{Ec. 1-17}$$

$$\gamma = \gamma_0 \text{sen}(\omega t) \quad \text{Ec. 1-18}$$

donde σ_0 y γ_0 son las amplitudes del esfuerzo y deformación, respectivamente, ω es la frecuencia y t el tiempo de ensayo.

Un material sometido a una deformación sinusoidal, que garantice una respuesta viscoelástica lineal, responde con un esfuerzo de cizalla que sigue también una función sinusoidal respecto al tiempo a la misma frecuencia, con un ángulo de desfase, δ , y con una amplitud característica de la naturaleza de dicho material (Schramn, 1994):

$$\sigma = \sigma_0 \text{sen}(\omega t + \delta) \quad \text{Ec. 1-19}$$

Para un sólido hookeano $\delta=0$, para un fluido newtoniano $\delta=90^\circ$ y para un material viscoelástico $0 < \delta < 90^\circ$.

En la Figura 1-17 se ilustra el esfuerzo aplicado y la deformación para diferentes tipos de materiales durante un ensayo oscilatorio dinámico.

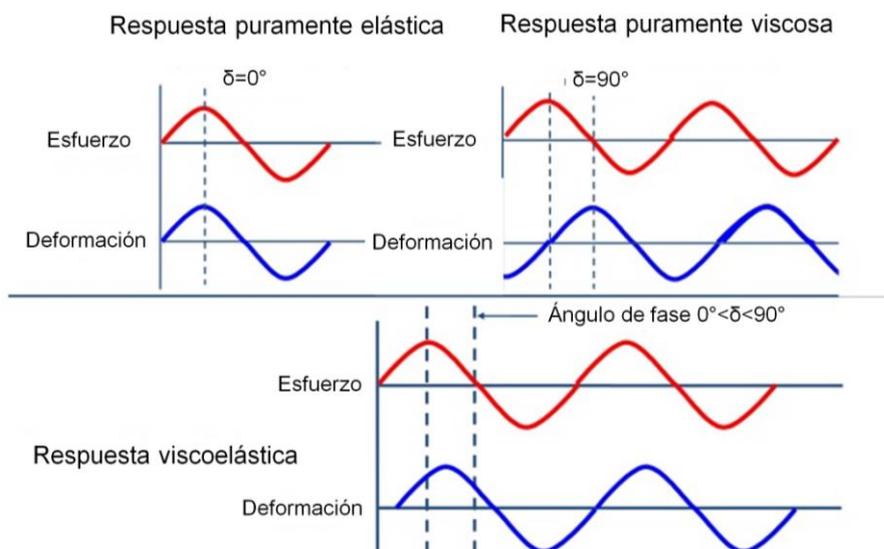


Figura 1-17. Estímulo y respuesta de diferentes tipos de materiales ante un ensayo oscilatorio dinámico.

Una forma conveniente de manipular las variables dinámicas es en forma de sus equivalentes complejas, obteniendo ciertas funciones viscoelásticas de los materiales de gran interés. Las relaciones entre estas componentes de la deformación y el esfuerzo oscilatorio son la base para las definiciones de varias funciones del material. La más común es el módulo de cizalla complejo, G^* , que se define como la relación entre el esfuerzo y la deformación en cizalla oscilatoria (Darby, 1976):

$$G^*(\omega) = G'(\omega) + jG''(\omega) \tag{Ec. 1-20}$$

La componente en fase, G' , representa el carácter elástico del material y es llamada módulo de almacenamiento. La componente en desfase, G'' , representa el carácter viscoso y se denomina módulo de pérdidas.

Se ha propuesto un modelo de tres zonas para describir el comportamiento viscoelástico de soluciones poliméricas como medidas de reología dinámica. Según la magnitud relativa de G' y G'' , un gráfico logarítmico de ambos en función de la frecuencia consiste en tres zonas: terminal, plateau y transición (Figura 1-18). Para polímeros convencionales de cadenas flexibles, dicha variación en comportamiento con la frecuencia es el resultado de la influencia del peso molecular de los polímeros o del entramado entre macromoléculas (Wang y Simon, 2004).

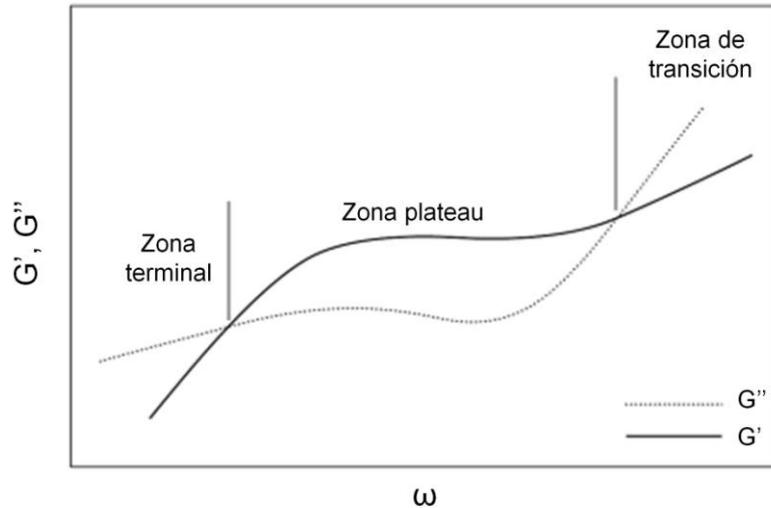


Figura 1-18. Modelo de tres zonas de comportamiento de soluciones poliméricas.

El cociente entre estas funciones viscoelásticas se define como tangente del ángulo de desfase o tangente de pérdida, $\tan \delta$, y es una medida de la razón de energía almacenada y disipada en un ciclo de deformación por unidad de volumen:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad \text{Ec. 1-21}$$

Su representación gráfica en función de la frecuencia, para sistemas altamente estructurados, se caracteriza por la existencia de un mínimo en la $\tan \delta$ a frecuencias intermedias, relacionado con la región "plateau".

Los geles fuertes muestran valores de G' mayores que los de G'' , siendo G' casi independiente de la frecuencia, y G'' muestra un mínimo a frecuencias intermedias (Clark y Ross-Murphy, 1987; Rao y col., 1997). A su vez, los geles débiles poseen propiedades reológicas intermedias entre disoluciones y geles fuertes. A bajas deformaciones, estos sistemas exhiben un espectro mecánico de gel (G' es casi independiente de la frecuencia y G'' aumenta con la frecuencia, por lo tanto el δ también aumenta con la frecuencia), mientras que en el punto de gel, la $\tan \delta$ es independiente de la frecuencia (Winter y Chambon, 1986).

Ensayos dependientes del tiempo:

1) *Ensayo de relajación del esfuerzo*

El ensayo consiste en la aplicación de una deformación constante sobre el material, y la observación de la variación del esfuerzo en función del tiempo:

$$G(t) = \frac{\sigma(t)}{\gamma} \tag{Ec. 1-22}$$

donde $G(t)$ es el módulo de relajación en cizalla y describe la relajación del esfuerzo después de la deformación aplicada (Rehage, 1994). En el caso de un sólido elástico de Hooke se alcanza rápidamente una situación de equilibrio que queda definida por el módulo de rigidez en equilibrio, G_e . Para un líquido viscoso la relajación se produce instantáneamente.

En la Figura 1-19 se observa el estímulo producido sobre el material en un ensayo de relajación del esfuerzo y las diferentes respuestas que puede presentar el mismo dependiendo de su comportamiento.

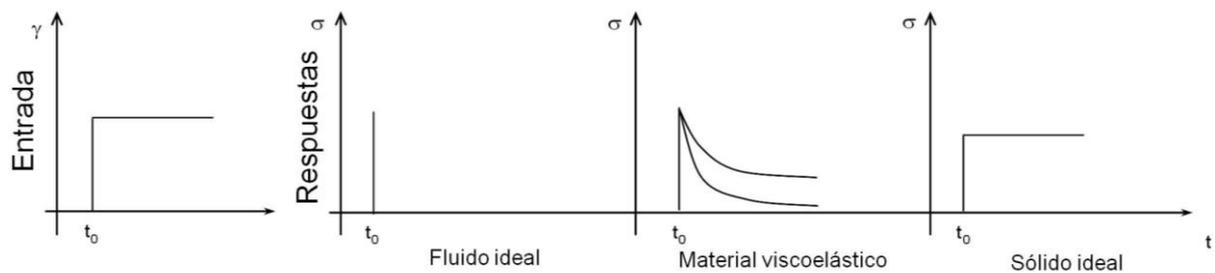


Figura 1-19. Estímulo y respuesta de diferentes tipos de materiales ante un ensayo de relajación del esfuerzo.

2) *Ensayo de fluencia (Creep) y recuperación*

Los ensayos de fluencia y recuperación representan un método estático en el que se aplica una tensión a una muestra con el objetivo de medir su deformación a lo largo del tiempo t (Van Bockstaele y col., 2011). La función viscoelástica obtenida en este ensayo es la capacitancia $J(t)$, que se define como el cociente entre la deformación $\gamma(t)$ y el esfuerzo σ .

$$J(t) = \frac{\gamma(t)}{\sigma} \tag{Ec. 1-23}$$

Dado que el esfuerzo debe ser lo suficientemente pequeño como para asegurar que la medida ocurra dentro del rango viscoelástico lineal, pero la respuesta debe estar dentro del rango de deformaciones que se pueda medir, deberá utilizarse un reómetro de esfuerzo controlado.

Un sólido elástico (ideal) alcanzaría una capacitancia de equilibrio J_e constante con el tiempo. Para un fluido viscoso puro (ideal), la deformación aumentaría linealmente con el tiempo ($dy/dt = \text{constante}$) y, por tanto, también la capacitancia, según la expresión:

$$J(t) = \frac{t}{\eta} \tag{Ec. 1-24}$$

Los materiales viscoelásticos presentarán un comportamiento intermedio entre estos dos extremos, cuadrático a tiempos pequeños, y lineal a tiempos elevados, ajustándose la parte lineal a la ecuación:

$$J(t) = J_e^0 + \frac{t}{\eta} \tag{Ec. 1-25}$$

donde J_e^0 es la capacitancia en flujo estacionario, que ofrece una medida de la elasticidad de los fluidos viscoelásticos.

Debido a su capacidad para recuperar su estructura mediante el almacenamiento de energía, los materiales viscoelásticos mostrarán una deformación permanente menor a la total aplicada (Steffe, 1996).

En la Figura 1-20, se observa el estímulo producido sobre el material en un ensayo de Creep y las diferentes respuestas que puede presentar el mismo dependiendo de su comportamiento.

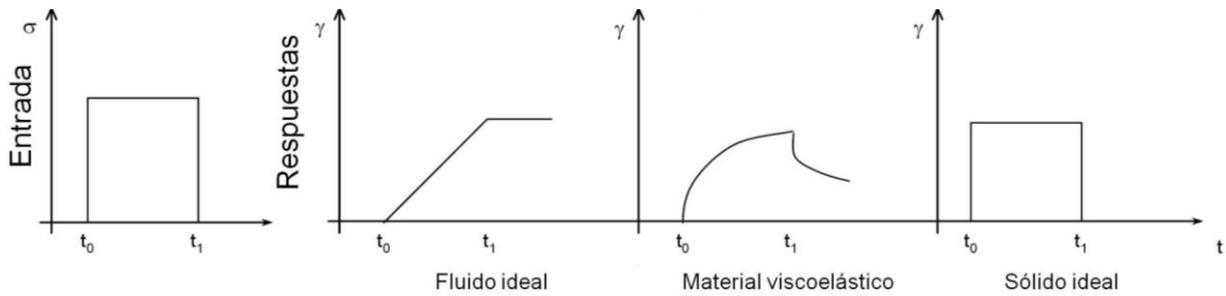


Figura 1-20. Estímulo y respuesta de diferentes tipos de materiales ante un ensayo de fluencia (Creep) y recuperación.

Espectro de retardación

El comportamiento de fluencia se suele describir por el modelo Generalizado de Voigt (Figura 1-16) (Steffe, 1996). Un grupo de elementos de Voigt en serie representan el espectro discreto de tiempos de retardación, cada tiempo λ_i se asocia con un valor de capacitancia espectral (J_i). Entonces, la capacitancia $J(t)$ puede ser calculada como:

$$J(t) = J_e^0 + \sum_{i=1}^N J_i \left(1 - e^{-\frac{t}{\lambda_i}}\right) + \frac{t}{\eta_0} \tag{Ec. 1-26}$$

donde J_0 es la capacitancia instantánea, es decir, a tiempo de retardación cero, valor inaccesible experimentalmente, J_i son las capacitancias retardadas, λ_i son los tiempos de retardación, y η_0 es la viscosidad a esfuerzo cero. El término $1/\eta_0$ se conoce como fluidez.

Para un número infinito de elementos y tiempos de retardación infinitesimales, el espectro continuo de retardación, $L(\lambda)$, se define como la suma de las contribuciones infinitesimales al comportamiento del material, esto representa la contribución de la capacitancia al mecanismo viscoelástico con tiempos de retardación. Así la capacitancia $J(t)$ puede ser definida a partir del espectro continuo de retardación del material (Riande y col., 1999), Mours y Winter, 2000):

$$J(t) = J_0 + \int_{-\infty}^{\infty} L(1 - e^{-\frac{t}{\lambda_i}}) d\ln \lambda + \frac{t}{\eta_0} \quad \text{Ec. 1-27}$$

Espectros de relajación

Anteriormente quedó reflejado que un fluido representado por un modelo de Maxwell generalizado puede ser caracterizado por una serie discreta de tiempos de relajación λ_i y módulos de relajación G_i . De forma análoga al espectro de retardación, esta representación de los valores se denomina espectro discreto de relajación. La respuesta global del sistema será la resultante de la contribución de cada uno de los elementos individuales (Ferry, 1980; Mackley y col., 1994).

Entonces, las funciones viscoelásticas G' y G'' se pueden calcular a partir del espectro discreto según las Ec. 1-28 y 1-29:

$$G' = G_e + \sum_{i=1}^N G_i \frac{(\omega \lambda_i)^2}{1 + (\omega \lambda_i)^2} \quad \text{Ec. 1-28}$$

$$G'' = \sum_{i=1}^N G_i \frac{\omega \lambda_i}{1 + (\omega \lambda_i)^2} \quad \text{Ec. 1-29}$$

donde G_i es la constante del resorte y λ_i el tiempo de relajación del pistón, correspondientes al i -ésimo elemento de Maxwell. G_e es el módulo de equilibrio, valor al que tiende el módulo elástico del material cuando el tiempo de relajación tiende a infinito (cero en el caso de los líquidos).

Considerando un sistema de Maxwell con infinitos elementos (resortes y amortiguadores en serie) en una escala de tiempo infinita, una situación prácticamente inalcanzable, es posible

definir un espectro continuo de relajación del material como una función del tiempo $H(\lambda)$, donde $H(\lambda)$ expresa la distribución del esfuerzo de relajación como una función del tiempo de relajación λ . Se trata de una función de valores positivos finita en el rango de $0 < \lambda < \lambda_{\text{máx}}$ y cero por encima del mayor tiempo de relajación $\lambda_{\text{máx}}$.

Dado que este espectro no puede medirse directamente, varias teorías han sido desarrolladas para predecir $H(\lambda)$ a partir de las funciones medibles de los materiales (Tschoegl, 1989; Mours y Winter, 2000). Por ello de los datos experimentales es posible obtener una aproximación del verdadero espectro que implica la consideración de infinitos elementos de Maxwell.

Las expresiones que relacionan el módulo de almacenamiento y el módulo de pérdida con $H(\lambda)$ son las siguientes (Ferry, 1980):

$$G'(\omega) = \int_0^{\lambda_{\text{máx}}} H(\lambda) \frac{\omega^2 \lambda^2}{1 + \omega^2 \lambda^2} \frac{d\lambda}{\lambda} \quad \text{Ec. 1-30}$$

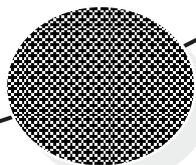
$$G''(\omega) = \int_0^{\lambda_{\text{máx}}} H(\lambda) \frac{\omega \lambda}{1 + \omega^2 \lambda^2} \frac{d\lambda}{\lambda} \quad \text{Ec. 1-31}$$

Así, mediante una representación adecuada del espectro de tiempos de relajación, es posible modelar los módulos dinámicos.

Los modelos moleculares poseen una gran aplicación, ya que puede tenerse conocimiento de su comportamiento en un amplio intervalo de tiempos. Pueden combinarse distintos ensayos para cubrir este intervalo (mediante la obtención del espectro), ya que todas las funciones viscoelásticas están relacionadas y pueden ser calculadas a partir del mismo (Mours y Winter, 2000).

Objetivos

Capítulo 2



2.1 Objetivo General

El objetivo general de este trabajo de Tesis fue contribuir al desarrollo de alimentos procesados sanos y nutritivos mediante la optimización de formulaciones y de procesos involucrados en la elaboración de productos lácteos azucarados tipo dulce de leche reemplazando totalmente la fase lipídica de origen bovino por incorporación de aceite vegetal rico en ácidos grasos insaturados mediante la incorporación de hidrocoloides.

2.2 Objetivos Específicos

Los objetivos específicos abordados en esta **Tesis**, fueron los siguientes:

- 1) Estudiar las características fisicoquímicas de los productos disponibles en el mercado tales como actividad acuosa, contenido de sólidos por refractometría, humedad, proteínas, grasa y color.
- 2) Realizar la caracterización reológica de los productos comerciales mediante la obtención de curvas de flujo en estado estacionario, realización de ensayos de esfuerzo oscilatorio y de fluencia viscosa. Modelar las curvas de flujo y estimar el espectro mecánico de relajación de los sistemas comerciales a partir de los datos reológicos obtenidos mediante oscilometría dinámica dentro del rango de viscoelasticidad lineal.
- 3) Comparar las predicciones de los modelos obtenidos con resultados experimentales.
- 4) Diseñar y desarrollar productos lácteos azucarados tipo “dulce de leche” libres de materia grasa adicionados con diferentes niveles de goma xántica y distintos contenidos de humedad final.
- 5) Estudiar las propiedades fisicoquímicas y reológicas de los productos obtenidos con similar metodología que la empleada para las muestras comerciales, y vincularlas con la composición del producto.
- 6) Encontrar ecuaciones predictivas que vinculen el comportamiento reológico del producto con su formulación.
- 7) Predecir la actividad acuosa (a_w) y los parámetros del modelo de Herschel-Bulkley para las curvas de flujo de productos 0% de contenido lipídico mediante ecuaciones matemáticas que permitan vincularlos con la composición del producto.
- 8) Evaluar el efecto del almacenamiento sobre los parámetros de calidad de producto sin materia grasa.
- 9) Diseñar y desarrollar productos lácteos azucarados tipo “dulce de leche” sin grasa láctea adicionado con aceites vegetales.
- 10) Estudiar variables como composición del producto, composición de la fase grasa a agregar (aceite nutricionalmente y tecnológicamente más adecuada), condiciones del proceso de emulsificación, agregado de antioxidantes, etc., sobre los parámetros de calidad

del producto. Optimizar el proceso de obtención y la composición para obtener productos similares a los tradicionales.

11) Analizar la relación entre el comportamiento viscoelástico y la composición del sistema. Interpretar sus propiedades estructurales a través del modelado de sus espectros de relajación.

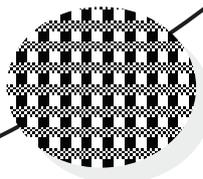
12) Evaluar la estabilidad del producto obtenido en forma acelerada, estudiando sus principales posibles alteraciones: desarrollo de cristales y oxidación lipídica.

13) Realizar la elaboración a escala piloto del producto a fin de evaluar los cambios o modificaciones necesarias en el proceso y la factibilidad de la obtención de un producto de adecuadas características.

14) Analizar el efecto del almacenamiento a 20°C sobre la estabilidad del producto elaborado a escala piloto evaluando sus características fisicoquímicas, reológicas, de estabilidad y sensoriales durante su período de vida útil (6 meses).

Caracterización físico-química y reológica de dulces de leche comerciales

Capítulo 3



3.1 Introducción

El dulce de leche (DL) es comercializado, al menos, como cuatro tipos de productos en Argentina según sus diferentes aplicaciones (tradicional, repostero) o destinados a individuos con requerimientos nutricionales especiales (reducido en calorías o en grasas). Todos ellos difieren en su composición, contenido lipídico y calórico, y sus características de flujo, y están disponibles para los consumidores bajo el nombre de “dulce de leche”.

Las diferencias entre ellos pueden basarse en diferentes aspectos. Según sus características texturales, las diferentes versiones pueden utilizarse para untar (de consumo familiar), en pastelería o repostería, o en la industria galletera o heladera. Asimismo, desde el punto de vista dietario, los diversos productos pueden apuntar a consumidores con dietas reducidas en calorías (individuos con problemas de obesidad), limitada en azúcares (personas diabéticas) o bien dietas restringidas en grasa (orientado a personas con alteraciones en el metabolismo lipídico).

En referencia a la calidad del producto lograda por diferentes empresas, los dulces de leche en Argentina pueden o no presentar sellos de calidad, por ejemplo poseer la inscripción “Premium” en su envase. Según el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), para que un dulce de leche sea considerado de calidad “Premium” y aspirar a poseer el Sello de Calidad “ALIMENTOS ARGENTINOS, UNA ELECCIÓN NATURAL” (o su versión en inglés “ARGENTINE FOOD, A NATURAL CHOICE”), deberá cumplir con atributos adicionales diferenciadores vinculados al producto, al proceso y eventualmente al envase. Algunos de dichos atributos a considerar se refieren a parámetros fisicoquímicos y biológicos del producto, superando las exigencias del Código Alimentario Argentino (RESOLUCIÓN GMC N° 137/96, CAA, 2015), referidos por ejemplo al método de obtención y características de la leche, edulcorantes empleados, proceso de elaboración, composición y características del producto final. Debido a que uno de los ingredientes principales del producto es la leche obtenida por ordeño de bovinos, es que la obtención de la misma y su calidad resultan ser factores diferenciales y que aseguren un producto final superior. Por ejemplo, la zona geográfica de producción debe asegurar que la alimentación de las vacas lecheras sea principalmente pastoril, el tiempo entre ordeño y elaboración sea inferior a 72 horas, que la temperatura de conservación durante la totalidad de ese período debe ser menor a 6 °C, se debe mantener la cadena de frío durante el transporte y como máximo llegar a 9 °C, entre otras. En cuanto al uso de aditivos, se prohíbe la presencia y el uso de cualquier tipo de conservantes y aditivos exceptuando al bicarbonato de sodio y/o potasio y vainillina.

Respetando la normativa vigente para envases, se admite el uso de envases de vidrio o envase metálico (hojalata). No obstante, se considera que el empleo de envases de vidrio

transparente permite una mejor percepción de la calidad del producto y se relaciona con el cuidado del ambiente al tratarse de un material reciclable.

El protocolo también incluye condiciones referentes a la producción primaria de manera de asegurar la calidad de la materia prima, como la implementación de las Buenas Prácticas Pecuarias (BPP). También se ha optado por la implementación del sistema Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC o HACCP) en cada etapa del proceso de elaboración del dulce de leche.

3.1.1 Aspectos relacionados con la conservación del dulce de leche

La actividad acuosa (a_w) es un parámetro estrechamente ligado a la humedad de los alimentos, lo que permite determinar su capacidad de conservación y de desarrollo microbiano. Junto con la temperatura, el pH y el oxígeno son los factores que más influyen en la estabilidad de los productos alimenticios.

Con excepción de la oxidación de lípidos, que puede ocurrir a velocidades elevadas en niveles de a_w cercanos a 1 y también cercanos a 0, las demás reacciones asociadas con el deterioro de alimentos disminuyen su velocidad en la medida que se reduce el agua disponible. Así, por ejemplo, la mayor parte de los microorganismos crecen normalmente por encima de valores de a_w de 0.95, mientras que su desarrollo es reducido por debajo de 0.85 y nulo en general, por debajo de 0.60.

La alta concentración de solutos alcanzada en el dulce de leche debido a su proceso de elaboración, resultan en una a_w normalmente por debajo de 0.85 (Vigo y col., 1983), que constituye el principal factor de preservación en este producto (Doyle y col., 2001). La estabilidad bacteriana del dulce de leche a temperatura ambiente es bien conocida, incluso bajo condiciones de uso doméstico. Sin embargo, el crecimiento de hongos y levaduras puede producirse cuando el producto se almacena a temperatura ambiente durante largos períodos de tiempo (Ferramondo y col., 1984), ya que son contaminantes capaces de desarrollarse bajo condiciones de agua reducida, además proporcionan información sobre las condiciones generales del procesamiento, almacenamiento y transporte de los alimentos, y constituyen indicadores importantes del deterioro de los productos (Andrade y col., 2009). Ferramondo y col. (1984), propusieron que la adición de sorbato y un valor de pH adecuado puede ser una forma útil de mejorar la calidad de conservación de dulce de leche almacenado a temperatura ambiente.

El período de vida útil en cada caso, estará entonces determinado por la combinación de diversos factores (a_w , pH, composición, tipo de envase, proceso, etc.).

3.1.2 Atributos del dulce de leche

Los atributos de un alimento se perciben en el siguiente orden: apariencia, aroma u olor, textura y sabor. La apariencia es muchas veces el único atributo en el cual se basa la decisión de comprar o consumir un alimento. Las características de apariencia son, entre otras, el color (generalmente el deterioro de un alimento está acompañado por cambios de color), la forma y el tamaño (largo, ancho, forma geométrica, tamaño de partículas), el brillo o la turbidez.

Color

El color en el dulce de leche juega un rol preponderante en la evaluación de la calidad comercial y aceptación por parte de los consumidores (Rodríguez y col., 2012). Desde el punto de vista químico, se estima que el color del dulce de leche se produce por diferentes tipos de reacciones que ocurren durante el proceso de elaboración con distinto grado de participación, debido a las condiciones de pH y temperatura en que éste se desarrolla. En sentido general, se trata de reacciones de pardeamiento tipo Maillard (Buera y col., 1990; Hough y col., 1991, Malec y col., 1999) y muy probablemente también a reacciones de caramelización y oxidación, habida cuenta de las características propias de este tipo de reacciones aportadas por numerosos investigadores (Feather y Harris, 1973; Kuster y Temmink, 1977; Theander, 1981; Buera y col., 1987). La complejidad de los mecanismos involucrados, no del todo conocidos, dificultan la interpretación cinética del proceso (Pauletti y col., 1995).

El color está directamente ligado al fenómeno de la visión humana. Debido a que es una característica importante de la apariencia de cualquier objeto –y también en los alimentos– existen muchas técnicas instrumentales para medirlo. El caso más corriente es disponer de un colorímetro triestímulo o espectrocolorímetro. De acuerdo a los conceptos CIE (Commission Internationale de l'Éclairage), el ojo humano posee tres receptores de color -rojo, verde y azul- y todos los colores son combinaciones de ellos (Pathare y col., 2012). L^* es una medida apropiada de la luminosidad, que es la propiedad de acuerdo a la cual cada color puede ser considerado como equivalente a un miembro de la escala de grises, entre negro y blanco (Granato y Masson 2010).

Textura

El dulce de leche tiene una textura típica que es importante para los consumidores en la evaluación de su aceptabilidad general (Hough y col., 1986). Se ha observado que su viscosidad se ve afectada principalmente por el contenido de sólidos solubles, la acidez de la mezcla inicial y el porcentaje de sacarosa, explicando estas tres variables el 73-85% de las variaciones en la viscosidad final (Casals y de Hombre 1995). En cuanto a la cantidad de

sólidos solubles se tiene que conforme ésta aumenta, la viscosidad del producto también aumenta (Lewis, 1993; Zunino 1998) y en el caso del pH, Rovedo y col. (1991) observaron que a pH inferiores a 6.1 la viscosidad del producto disminuye, mientras que aumenta a valores mayores.

Según Lees y Jackson (1992), la presencia de sólidos de leche en productos tipo caramelo (emulsión o/w, con gotas de grasa estabilizadas por proteínas lácteas en matriz acuosa azucarada con productos de caramelización y Maillard) hace que difieran en sus propiedades respecto a otros de tipo repostero, principalmente en textura, flavor y color. Del mismo modo, a mayor contenido de sólidos de leche en caramelo, más consistente será el producto, siendo las caseínas el componente que contribuye a su dureza.

El consumidor busca en el dulce de leche una consistencia cremosa o pastosa (Pauletti y col., 1992), y una textura homogénea (sin grumos) que sea agradable al paladar y libre de sensación arenosa, provocada por la cristalización de lactosa durante el almacenamiento y manipulación posterior a la elaboración (Ares y Giménez, 2008). La evaluación sensorial e instrumental constituyen en este caso las herramientas idóneas para establecer la naturaleza de las características de textura, color y sabor del producto (Chacón-Villalobos, 2013).

Generalmente, los atributos de textura se han estimado por panelistas sensoriales y/o por una variedad de métodos instrumentales. Dichas técnicas no son a menudo lo suficientemente sensibles para dilucidar la relación entre estructura y propiedades de los alimentos. Por otra parte, los ensayos de pequeña deformación, permiten la evaluación de los cambios microestructurales y la interpretación a nivel molecular de variaciones en la matriz alimentaria.

La textura de este tipo de productos ha sido discutida previamente por diversos autores (Buera y col. (1990), Pauletti y col. (1990) y Pauletti y col. (1996), Moro y Hough (1985), Heimlich y col. (1994) y Rovedo y col. (1991)). Los parámetros instrumentales que se relacionan con la firmeza de DL (esfuerzo de corte, dureza y adhesividad) fueron altamente correlacionados con la dureza sensorial. Ningún parámetro instrumental fue capaz de reflejar la capacidad sensorial de formar filamentos adhesivos y/o aglutinados de las muestras (Ares y col., 2006). Pauletti y col. (1990), Navarro y col. (1999) y Pedrero y col (2001) encontraron mediante ensayos dinámicos oscilatorios que el comportamiento reológico de DL es intermedio entre una solución concentrada y un gel, dependiendo del tipo y el contenido de sólidos. Otro método alternativo utilizado por Corradini y Peleg (2000) para evaluar la consistencia de este producto fue la viscometría de extensión biaxial sin fricción.

3.2 Objetivos específicos

A fin de caracterizar los diferentes tipos de productos disponibles en el mercado y establecer el tipo de comportamiento reológico de cada uno se seleccionaron cuatro tipos de dulces de leche comerciales, a saber, tradicional, reducido en calorías, reducido en grasas y repostero, y se propuso:

- Estudiar las características fisicoquímicas de los productos tales como actividad acuosa, composición (humedad, proteínas, grasa), contenido de sólidos solubles por refractometría y color.
- Realizar la caracterización reológica mediante la obtención de curvas de flujo en estado estacionario, realización de ensayos de esfuerzo oscilatorio y de fluencia viscosa.
- Modelar las curvas de flujo y estimar el espectro mecánico de relajación de los sistemas a partir de los datos reológicos obtenidos mediante oscilometría dinámica dentro del rango de viscoelasticidad lineal.
- Comparar las predicciones de los modelos obtenidos con resultados experimentales.

3.3 Materiales y Métodos

3.3.1 Muestras comerciales analizadas

De entre los productos disponibles en el mercado local, se seleccionaron y adquirieron muestras de dulce de leche (DL), por duplicado, de diferentes marcas comerciales, a fin de cubrir las diversas variedades y presentaciones de este tipo de productos. Dos productos correspondieron a DL tradicional (M1 y M2, siendo además el M1 de tipo premium); M3 correspondió a un DL repostero y los tres restantes, a productos “bajas calorías” (M4) o “light” (M5 y M6), según lo especificado en su rótulo. Excepto el producto de tipo repostero (M3), el resto son productos comerciales destinados para su consumo directo para untar. Los productos analizados se encontraban en envases plásticos, de 500 g (M1) o 400 g (M2, M3, M5 y M6), y el producto M4 en envase de vidrio de 445 g.

Según las especificaciones de sus rótulos, los dulces contenían además de leche y azúcar, los siguientes aditivos, incorporados para lograr la funcionalidad esperada según el tipo de producto considerado:

- M1 y M2: jarabe de glucosa, NaHCO_3
- M3: glucosa, carragenano, agar y pectina
- M4: fructosa, sorbitol, polidextrosa, celulosa microcristalina
- M5: jarabe de glucosa, NaHCO_3
- M6: jarabe de glucosa, maltodextrina, carragenano, almidón de maíz, NaHCO_3

Asimismo, todos contenían vainilla como saborizante.

Estas diferencias en la formulación de los productos repercuten en la composición final y características reológicas de los mismos, dado que a pesar de ser productos similares, el punto final en el proceso de elaboración es fijado para cada uno en particular, con lo que el contenido de agua y sólidos puede diferir entre ellos.

Asimismo, los dulces analizados presentaban diferencias en su valor calórico (según rótulos): para los del tipo tradicional era de 340 y 305 Kcal/100 g para M1 y M2, respectivamente; para los dulces light o reducidos en calorías, de 210, 285 y 255 Kcal/100 g, para M4, M5 y M6, respectivamente, mientras que para el dulce de leche repostero M3 era 310 Kcal/100 g.

3.3.2 Caracterización fisicoquímica

Actividad acuosa y pH

La actividad acuosa (a_w) de los dulces fue determinada a 25 °C por duplicado en equipo AquaLab Serie 3 (Decagon Devices, Inc., WA), utilizando como referencia una solución saturada de KCl cuya a_w es de 0.843 ± 0.003 , cercana a la esperada en este tipo de productos.

El pH de las muestras fue determinado mediante un electrodo de vidrio (PHOENIX, USA, Mod. 557-3512) en un pHmetro (modelo EC30, Hacht, Loveland, USA) previamente calibrado con solución buffer adecuada.

Contenido de sólidos solubles

La determinación de grados Brix (°Brix) es el modo de medición del índice de refracción de una solución. Es una característica óptica de una sustancia y el número de partículas disueltas en ella. El principio de medición se basa en la refracción de la luz creada por la naturaleza y la concentración de los solutos (por ejemplo el azúcar). Es por esto que un refractómetro mide indirectamente la densidad de los líquidos. La unidad de medida (grados Brix) lleva el nombre de Adolf F. Brix, un científico del siglo XIX. Según esa escala, 1 °Brix correspondería a un índice de refracción de una solución de sacarosa en agua al 1%. La escala Brix expresa entonces, el contenido de azúcar en g de sacarosa por 100 g de solución acuosa, así 20 °Brix ~ 20% p/p de sacarosa en solución (Bakker y Clarke, 2011).

Esta medida se llevó a cabo mediante un refractómetro digital Digit-080 (CETI Optical Instruments, Bruselas, Bélgica) de acuerdo a Moro y Hough (1985), el cual fue calibrado previo a su uso con agua, cuyo índice de refracción se considera estándar.

Análisis de composición centesimal

Contenido de humedad

Se empleó la Norma FIL-IDF 15B para la determinación de humedad en las muestras de dulce de leche de acuerdo a Moro y Hough (1985), método de referencia para la determinación del contenido de sólidos totales en leche condensada azucarada con la modificación de emplear estufa de vacío. Esta técnica incluye un tratamiento previo en el que se agrega a la muestra arena lavada y calcinada para aumentar la superficie de evaporación. En cápsulas de aluminio con arena y varilla previamente pesada, se pesaron aproximadamente 2 g de muestra, y se agregaron 4 ml de agua para disolver y homogeneizar cuidadosamente muestra y arena con ayuda de la varilla. Se llevó a estufa de vacío a 102 ± 2 °C hasta constancia de peso entre medidas con una hora de diferencia, llevando las cápsulas a temperatura ambiente en desecador antes de realizar la pesada. Se expresaron los resultados como humedad (%).

Proteínas (método 24.206, AOAC, 1984)

Se determinó el contenido proteico de los productos mediante el método de Kjeldahl-Arnold-Gunning, que cuantifica el nitrógeno total (N) presente en la muestra, relacionado directamente con la cantidad de proteínas, tras eliminar la materia orgánica con H_2SO_4 . Se pesaron aproximadamente 0.3 g de muestra y se realizó la digestión (equipo K-435 Büchi Labortechnik AG) con mezcla catalizadora (10:1 Na_2SO_4 : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) y H_2SO_4 concentrado. Del $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ formado se liberó el NH_3 por tratamiento alcalino con NaOH 32 g/100g en una unidad de destilación (K-350 Büchi Labortechnik AG), empleando una corriente de vapor y colectando el NH_3 en un recipiente con H_3BO_3 4 g/100g. Finalmente se realizó una titulación con una solución valorada de H_2SO_4 . Se realizó en similares condiciones un blanco de reactivos sin muestra agregada, por duplicado. Se utilizó el factor de conversión de 6.38 g proteínas/g N para calcular el porcentaje (p/p) de proteínas de las muestras.

Lípidos (método 24.205, AOAC, 1984)

Se pesaron aproximadamente 1 g de muestra y se colocaron en probeta de vidrio con tapa esmerilada. Se agregaron agua, NH_4OH concentrado, etanol, éter etílico y éter de petróleo, agitando después del agregado de cada reactivo según protocolo. Luego de homogeneización completa se determinó el volumen total de la mezcla, se dejó reposar tapado 4 horas en heladera, y se midió el volumen de la fase superior etérea. Se tomaron 5 ml de dicha fase con pipeta aforada, y después de evaporar el solvente se determinó por pesada el residuo lipídico. El contenido de lípidos de los productos se calculó como porcentaje (p/p) teniendo en cuenta la alícuota tomada respecto de la fase etérea total.

Color

El color fue medido empleando un colorímetro triestímulo Chroma Meter CR-400 (Minolta Co., Ramsey, New Jersey, USA) a temperatura ambiente sobre 3 muestras de cada producto y obteniendo los valores promedio para el análisis de los datos.

El color fue descrito a través de los parámetros CIE-LAB: 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, a^* representa rojo cuando es positivo, y verde cuando es negativo, y b^* representa amarillo cuando es positivo y azul cuando es negativo (Figura 3-1).

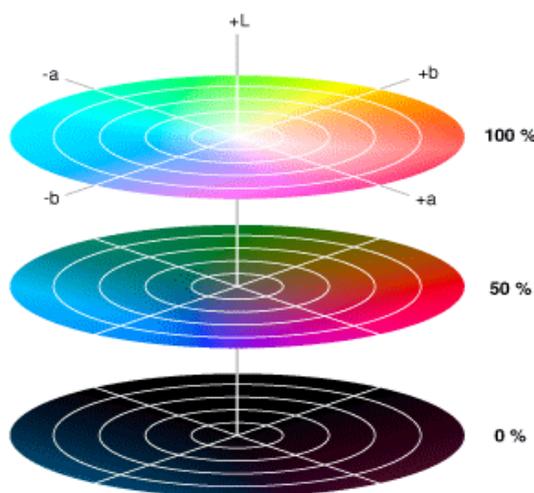


Figura 3-1. Espacio cromático.

3.3.3 Caracterización reológica

Las medidas reológicas se llevaron a cabo utilizando un reómetro de esfuerzo controlado (RS600 Haake, Thermo Scientific, Alemania) provisto de una unidad de control de temperatura (K-15 Haake, ThermoElectron, Alemania) con un sensor de platos paralelos rugosos (diámetro 35 mm con abertura de 1 mm) a una temperatura de $20\text{ °C} \pm 0.1\text{ °C}$ controlada por medio de un baño termostático exterior (Figura 3-2). El empleo del plato rugoso permite evitar el fenómeno de deslizamiento que puede ocurrir durante la medida de la viscosidad en estado estacionario (Sánchez y col., 2001). Luego de colocar la muestra sobre el sistema sensor se le permitió descansar por 10 minutos antes de comenzar la medición correspondiente. En todos los casos la superficie expuesta de las muestras fue cubierta con una fina capa de aceite de silicona de baja viscosidad para evitar su deshidratación. Al menos se realizaron tres replicados para cada muestra.

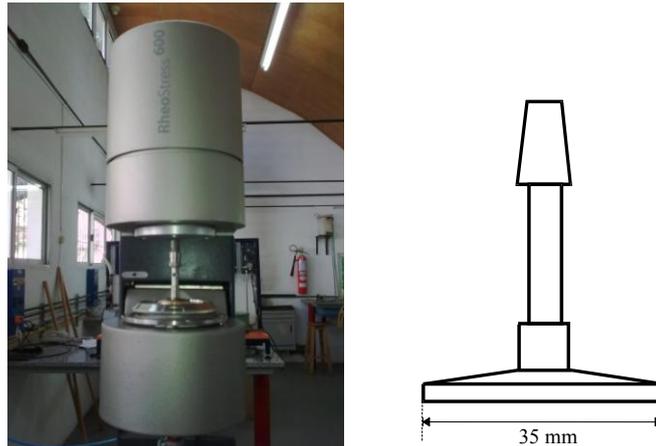


Figura 3-2. Reómetro de esfuerzo controlado y esquema del sensor PP35-S utilizado.

Curvas de flujo en estado estacionario

Se determinó la viscosidad aparente en estado estacionario (η) en función de velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$) de los diferentes tipos de dulce de leche comerciales seleccionados, midiendo el esfuerzo de cizalla en estado estacionario a medida que se incrementó la velocidad de deformación de 1×10^{-3} a 100 s^{-1} . La duración máxima del tiempo de medición por punto se fijó en 300 s, pero todas las mediciones se efectuaron antes del tiempo límite, por lo que pudo considerarse que el estado estacionario fue alcanzado.

Ensayos de esfuerzo oscilatorio

El módulo elástico G' es una medida de la energía almacenada y recuperada por ciclo, mientras que el módulo viscoso G'' es una medida de la energía que se disipa o se pierde como calor por ciclo de deformación sinusoidal (Ferry, 1980).

La dependencia del módulo de almacenamiento (G') y del módulo de pérdida (G'') con la frecuencia angular (ω) fue determinada a un esfuerzo de pequeña magnitud en el rango de viscoelasticidad lineal (RVL). En las experiencias se aplicó un esfuerzo (σ) como una función sinusoidal del tiempo a una pequeña amplitud fija. La frecuencia del esfuerzo fue incrementada paulatinamente y la señal registrada se transformó en los componentes elástico y viscoso. El rango de frecuencia usado fue de 0.01 a 300 s^{-1} .

Previamente se determinó el RVL, para lo que se varió la amplitud del esfuerzo aplicado sobre las muestras, trabajando a una frecuencia constante de 6.28 s^{-1} (1 Hz). El criterio seguido para su determinación es la relación lineal entre el esfuerzo y la deformación. Cuando los materiales se ensayan en el rango lineal, funciones materiales tales como G' y G'' no dependen de la magnitud del esfuerzo aplicado, la magnitud de la deformación o la velocidad de la deformación. Si dicha relación es lineal, un esfuerzo aplicado producirá una deformación proporcional.

Ensayo de fluencia viscosa

La capacitancia (J) en función del tiempo fue determinada mediante el test de fluencia (Creep) y recuperación donde las muestras sin deformar fueron sometidas a un esfuerzo de corte constante de 1 Pa dentro del RVL.

Todos los experimentos se realizaron sometiendo a la muestra a un esfuerzo de corte en el rango lineal (σ_0) durante 420 segundos, cesando la aplicación de dicho esfuerzo al cabo de dicho lapso para permitir la recuperación de la muestra durante otros 420 segundos. Durante el transcurso de la experiencia el equipo registró la deformación (γ) de la muestra en función del tiempo, y a partir de esta variable, se calculó la capacitancia según Ec. 1-22.

3.3.4 Análisis estadístico

Para el análisis de los datos experimentales se realizaron análisis de varianza monofactoriales utilizando los procedimientos ANOVA del software SYSTAT (SYSTAT Inc., Evenston, IL, USA). Se eligió para comparaciones pareadas el test de “mínimas diferencias significativas” (test de LSD). Se consideraron diferencias estadísticamente significativas en las medias para valores de $P < 0.05$. También se utilizó el módulo Nonlin de SYSTAT para llevar a cabo las regresiones no lineales requeridas.

3.4 Resultados y discusión

3.4.1 Caracterización fisicoquímica de dulces de leche comerciales

Mediante el análisis de los diferentes tipo de productos comerciales seleccionados se obtuvieron los valores medios para los contenidos de proteínas, lípidos, humedad y °Brix, así como los valores medios de su actividad acuosa y pH (Tabla 3-1).

Dada la variedad de muestras analizadas y sus diferentes formulaciones, sus composiciones y parámetros fisicoquímicos analizados presentaron variaciones entre ciertos rangos.

Tabla 3-1. Composición proximal, °Brix, a_w y pH de diferentes tipos de dulce de leche comerciales*.

Producto	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Tipo	Tradicional premium	Tradicional	Repostero	Bajas calorías	Light	Light
pH	5.70 ^a	6.04 ^b	5.79 ^a	6.15 ^b	5.88 ^a	5.73 ^a
a_w	0.764 ^d	0.830 ^c	0.843 ^b	0.882 ^a	0.838 ^{bc}	0.833 ^c
°Brix	76 ^a	70 ^b	78 ^a	59 ^c	70 ^b	70 ^b
% Humedad	31.5 ^e	32.4 ^d	33.7 ^c	48.9 ^a	35.3 ^b	33.6 ^c
% Proteínas	6.4 ^c	7.1 ^{bc}	7.5 ^{ab}	7.7 ^{ab}	6.5 ^c	8.2 ^a
% Lípidos	7.2 ^a	7.9 ^a	7.3 ^a	5.8 ^a	1.3 ^b	1.4 ^b

*Supraíndices iguales en la misma fila indican que no hay diferencia significativa entre las medias ($P > 0.05$).

Los valores de pH de todos los tipos de dulces comerciales analizados resultaron entre 5.70 y 6.15. Teniendo en cuenta que el pH final alcanzado es función de la formulación, grado de neutralización y concentración de ácidos presentes, las variaciones encontradas entre las muestras pueden ser atribuidas a diferencias en los factores mencionados.

Los valores de pH encontrados resultaron inferiores a los informados por algunos autores en productos similares. Así, Valencia García y col. (2008) para arequipe elaborado con sustitutos de azúcar reportaron un valores de pH entre 6.15 y 6.25; Chacón-Villalobos y col. (2013) encontraron valores de pH 6.7 para dulce de leche elaborado con leche bovina entera; Murillo Roos (2008) en dulce de leche sin grasa y sin azúcar obtuvieron un pH de 6.83. Sin embargo, los valores de pH obtenidos en los dulces comerciales tipo tradicional (M1 y M2) fueron levemente superiores al encontrado por Ferramondo y col. (1984) para el mismo tipo de productos (pH entre 5.57 y 5.97), mientras que para productos de tipo repostero, estos autores informaron pH de 5.79 y 6.17, coincidiendo con el valor encontrado para ese tipo de producto en la presente Tesis.

Asimismo, otros autores hallaron valores de pH coincidentes al rango expuesto en la Tabla 3-1. Por ejemplo, Gaze y col. (2015) encontraron en dulces de leche brasileros pH comprendidos entre 6.1 y 6.4; Novoa y Ramírez-Navas (2013) reportaron valores entre 5.7 y 6.0 para muestras comerciales de manjar blanco del Valle del Cauca, postre obtenido por concentración de mezcla de azúcar blanco de caña y leche de vaca, con adición de harina, principalmente de arroz (NTC-3757, 2008), considerado un tipo de dulce de leche.

En cuanto a la actividad acuosa (a_w), los diferentes productos analizados presentaron valores entre 0.764 y 0.882, correspondiendo el menor de ellos a un producto tipo tradicional Premium (M1) y el mayor, al producto bajas calorías (M4) (Tabla 3-1). Este relativamente

amplio rango de a_w se explica dada la variedad de productos comparados, los cuales presentan diferente formulación y características.

Ferramondo y col. (1984) hallaron valores de a_w en el rango 0.812-0.847 para seis marcas de dulce de leche tipo tradicional, y entre 0.802 y 0.831 para dos marcas de tipo repostero, rangos algo más estrechos respecto a los determinados en las muestras comerciales analizadas en esta Tesis, dado el análisis de un único tipo de producto, en cada caso.

Por otro lado, los productos con mayor contenido de sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) fueron los de tipo tradicional Premium M1 y repostero M3. Sin embargo, este último presentó similar contenido de humedad respecto al producto light M6, aunque sus $^{\circ}$ Brix fueron muy diferentes. Asimismo, el contenido acuoso del producto reducido en calorías (M4) resultó ser mayor que el resto de los productos.

Gaze y col. (2015) encontraron valores de humedad entre 17.5 y 29.5%, algo inferiores a los valores correspondientes a las muestras comerciales del presente Capítulo, al igual que Roca y Cáseres (2011) quienes publicaron un valor de humedad del 19.22% en DL elaborado a partir de leche fluida y leche en polvo reconstituida. Por otro lado, Murillo Roos (2008) encontró un 33.8% de humedad en dulce de leche sin grasa y sin azúcar, valor que se encuentra dentro de los hallados para dulces comerciales en el presente Capítulo.

Si se relacionan los resultados obtenidos en los diferentes tipo de dulces para a_w con los obtenidos para el contenido de sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) y humedad, se puede observar que el producto tipo tradicional Premium M1 presentó la menor a_w , asociado a un elevado contenido de sólidos solubles y baja humedad, resultado de la concentración de sus componentes durante su elaboración. Asimismo, el producto tipo bajas calorías M4 fue el de mayor a_w , valor asociado a un menor contenido de sólidos solubles y mayor humedad. En el caso del producto tipo repostero M3, de similar apariencia al producto premium M1, presentó una mayor a_w respecto a éste, con un similar contenido de sólidos solubles pero mayor humedad. La diferencia entre ambos productos podría estar asociada a la incorporación en la formulación del producto tipo repostero de carragenanos, agar y pectina, que permiten que con una menor concentración durante su elaboración se logre una apariencia similar a un producto tradicional sin espesantes.

El contenido proteico de los productos varió entre 6.4 y 8.2%, correspondiendo el valor más alto a uno de los productos light (M6), mientras que los más bajos fueron encontrados en un producto tipo tradicional (M1) y en otro de tipo light (M5). Esta variación puede atribuirse a las diferentes formulaciones y procesos de elaboración de los productos, lo que conduce a diferentes contenidos de sus componentes.

Roca y Cáceres (2011), quienes elaboraron diversas muestras de dulce de leche, encontraron que la que presentó las características más similares a las del dulce de leche

tradicional en cuanto a sabor, aroma y sobre todo textura fue la obtenida a partir de 50% leche fluida y 50% leche en polvo reconstituida, presentando un 7.52% de proteínas.

Otro estudio realizado por Murillo Roos (2008) en Costa Rica arrojó un porcentaje de 5.8% de proteínas para dulce de leche tradicional, valor algo inferior a los encontrados en el presente estudio, lo cual concuerda con Ferramondo y col. (1984), quienes establecieron que la composición del dulce de leche varía en función del área geográfica en la cual se produce ya que la elaboración y preferencias son diferentes. Gaze y col. (2015) informaron contenidos proteicos entre 2.1 a 7.1% para siete muestras de dulces de leche comerciales del mercado brasileño. Murillo Roos (2008) encontraron un 6.1% de proteínas para dulce de leche sin grasa y sin azúcar elaborado a escala laboratorio con polisacáridos y polialcoholes como sustitutos de grasa y azúcar, respectivamente.

Respecto al contenido lipídico, los menores valores hallados (1.3-1.4%) correspondieron a los productos tipo Light (M5 y M6), mientras que el mayor contenido lipídico correspondió a productos de la variedad tradicional y repostero, alcanzando un 7.9%. Estos valores están de acuerdo a lo establecido en el Reglamento Técnico de Identidad y Calidad de Dulce de Leche (MERCOSUR/GMC/RES. N° 137/96, Código Alimentario Argentino, 2014), el que establece un rango de 6-9 g materia grasa/100 g para productos destinados a ser comercializados en MERCOSUR.

Castañeda y col. (2004) evaluaron los contenidos lipídicos de 8 dulces comerciales argentinos de la variedad tradicional encontrando niveles entre 5.54 y 7.12%, dos de los cuales se encontraron fuera de la especificación. Roca y Cáseres (2011) encontraron un 8.94% de contenido graso en DL elaborado a partir de leche fluida y leche en polvo reconstituida. Asimismo, valores encontrados por Gaze y col. (2015) para el contenido lipídico de dulces de leche brasileños estuvieron comprendidos entre 3.6 y 7.0%.

La Tabla 3-2 presenta los valores obtenidos para los parámetros de color de los distintos productos comerciales analizados. Todos los parámetros presentaron diferencias entre las distintas muestras analizadas, lo cual, teniendo en cuenta las diferencias en el proceso de elaboración y características de la materia prima, refleja lo reportado por Rodríguez y col. (2012), quienes publicaron que el color del dulce de leche es función de variables tecnológicas tales como pH y tiempo de tratamiento térmico, entre otros factores. El parámetro con mayor variación fue la luminosidad (L^*) observándose diferencias significativas con el tipo de dulce y, para un mismo tipo, entre marcas, debido a variaciones en su formulación y/o proceso de elaboración. Pudo observarse que el producto M1 presentó la menor L^* , asociado al menor contenido de humedad y a_w , mientras que el producto M4 presentó el mayor valor de L^* y también la mayor humedad y a_w . Esto indicaría

una relación entre la luminosidad del producto y el grado de concentración de sólidos/componentes alcanzado durante su elaboración.

Tabla 3-2. Parámetros de color de diferentes dulces de leche comerciales*.

Producto	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Tipo	Tradicional Premium	Tradicional	Repostero	Bajas calorías	Light	Light
L*	36.4 ^f	44.4 ^b	42.1 ^c	50.4 ^a	40.9 ^d	37.9 ^e
a*	6.56 ^e	8.15 ^c	8.58 ^b	8.15 ^c	7.95 ^d	9.07 ^a
b*	16.9 ^f	25.4 ^b	23.5 ^c	26.1 ^a	21.6 ^d	20.1 ^e

*Supraíndices iguales en la misma fila indican que no hay diferencia significativa entre las medias (P>0.05).

Castañeda y col. (2004) encontraron el mismo parámetro como principal fuente de variación en el análisis de 8 muestras comerciales de DL tradicional. Gaze y col. (2015), encontraron valores de L* entre 48.59 y 62.11, a* entre 13.60 y 16.90, y b* entre 17.89 y 27.70, para dulces de leche brasileros. Los valores de L* informados resultan algo superiores a los presentados en la Tabla 3-2, lo cual sugiere que los productos del mercado brasileros son algo más claros que los respectivos productos argentinos. Estos autores propusieron que las variaciones de los parámetros de color de las muestras con respecto a los parámetros de color se deben probablemente a las diferencias en el contenido de proteínas y de azúcar, así como los diferentes procedimientos operativos, cambios en el tiempo, temperatura y presión de procesamiento, de acuerdo con el protocolo de cada industria. Asimismo, Oliveira y col. (2009) coinciden con esta propuesta, argumentando que el dulce de leche no presenta una composición uniforme, a pesar del gran volumen producido.

Estos resultados y las diferencias encontradas tanto entre los productos analizados, así como también con otros autores, se relacionan con la diversidad de ingredientes y/o aditivos que son utilizados para la elaboración de los diferentes productos. El proceso y el punto final establecido en cada caso también son factores de variación en los resultados encontrados. Todas estas variaciones dependen de la zona geográfica en la cual serán consumidos los productos, la aplicación a la cual se destine el dulce de leche y la dieta de las personas a la cual se apunte.

3.4.2 Caracterización reológica

Todos los ensayos experimentales usados para evaluar las propiedades reológicas mostraron marcadas diferencias entre los diferentes tipos de productos analizados.

Curvas de flujo en estado estacionario

Todas las curvas observadas para los distintos tipos de productos correspondieron a una estructura fluida con un claro comportamiento pseudoplástico en una amplia gama de velocidades de deformación, donde se pudieron diferenciar dos regiones bien definidas: a bajas velocidades de cizalla ($\dot{\gamma}$), la viscosidad presentó un valor constante, llamada viscosidad a cero esfuerzo de corte (η_0), pero a medida que la velocidad de cizalla se incrementaba se observó una disminución abrupta de la viscosidad tipo “ley de la potencia”. Diferentes autores han representado el comportamiento de flujo de dulce de leche mediante diferentes modelos matemáticos. Así, Heimlich y col. (1994) y Rovedo y col. (1991) informaron que el comportamiento pseudoplástico del DL podría ser descrito por el modelo de Casson o bien por el de Herschel-Bulkley. Navarro y col. (1999) ajustaron la ley de la potencia a dulces de leche comerciales de tipo tradicional, light y repostero. Otros autores han utilizado el modelo de Cross para representar el comportamiento de flujo en sistemas lácteos. Así, Camacho y col. (2005) utilizaron dicho modelo contemplando la segunda viscosidad newtoniana en cremas de leche adicionadas con goma garrofín y λ -carragenano. En la Figura 3-3 se muestran las curvas de flujo en estado estacionario obtenidas para los seis productos comerciales evaluados.

El comportamiento de flujo obtenido para los diferentes productos seleccionados del mercado fue descrito ajustando el modelo de Cross Modificado (Ec. 1-13) a los datos experimentales, para el cual no se presenta la segunda viscosidad newtoniana, η_∞ (viscosidad a velocidad de deformación infinita) (Launay y col., 1986), mediante la utilización del software OriginPro 7.0. Dicho modelo ajustó satisfactoriamente a los comportamientos de flujo de los sistemas estudiados tal como se observa en la Figura 3-3. Los parámetros η_0 , τ y m del modelo ajustado para cada una de las formulaciones se muestran en la Tabla 3-3.

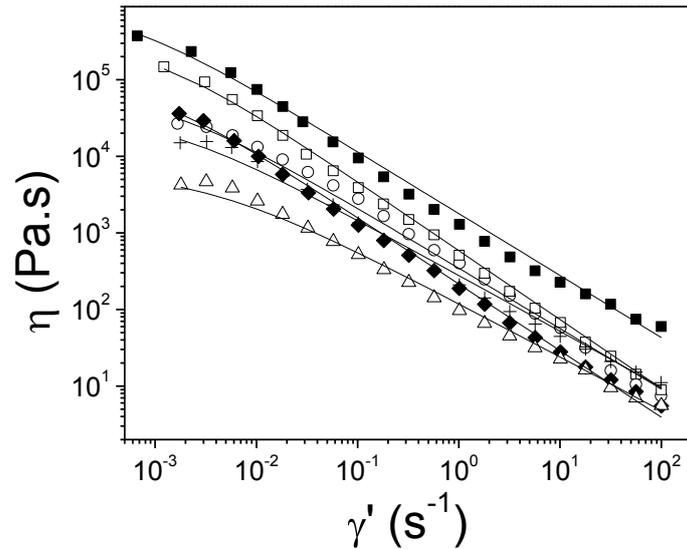


Figura 3-3. Curvas de flujo en estado estacionario de distintos dulces de leche comerciales analizados. Datos experimentales: ■ M1, ○ M2, □ M3, ◆ M4, △ M5, +M6. Modelo de Cross ajustado a los datos experimentales (—).

Tabla 3-3. Parámetros estimados del modelo de Cross modificado (viscosidad a cero velocidad de deformación, η_0 , exponente adimensional, m y tiempo característico de relajación, τ) para los diferentes dulces comerciales analizados*.

Producto	η_0 (Pa.s)	τ (s)	m
M1	9.7×10^5 (0.2×10^5)	2.4×10^3 (0.1×10^3)	0.81 (0.02)
M2	7.3×10^4 (0.1×10^4)	8.7×10^2 (0.1×10^2)	0.79 (0.02)
M3	3.2×10^5 (0.2×10^5)	1.1×10^3 (0.1×10^3)	0.91 (0.02)
M4	1.1×10^5 (0.1×10^5)	1.3×10^3 (0.1×10^3)	0.87 (0.02)
M5	6.5×10^3 (0.2×10^3)	3.0×10^2 (0.1×10^2)	0.70 (0.02)
M6	4.0×10^4 (0.2×10^4)	9.0×10^2 (0.1×10^2)	0.73 (0.02)

*Entre paréntesis se muestra el error estándar de las medias.

Mediante el análisis de la Tabla 3-3 se puede observar que el producto tipo tradicional premium (M1) presentó la mayor η_0 , siendo incluso más viscoso que el DL tipo repostero (M3), mientras que el producto tradicional M2 tuvo características de flujo similar al producto bajas calorías M4 y light M6. La menor η_0 correspondió al producto tipo light M5.

El parámetro τ indica el tiempo característico del material, es decir, el tiempo en el cual las cadenas poliméricas sufren un cambio conformacional por el incremento de la velocidad de deformación (Barnes, 2001). Los mayores valores de τ significan que la zona newtoniana permanece más tiempo antes de pasar a la zona pseudoplástica. Puede observarse en la

Tabla 3-3 que, también para el parámetro τ , el mayor valor fue encontrado para M1, mientras que el menor correspondió a M5.

La magnitud de m está relacionada con el índice de flujo, el incremento de m sugiere un comportamiento pseudoplástico más pronunciado; m tiende a cero para fluidos más newtonianos, mientras que para fluidos más pseudoplásticos m tiende a la unidad (Barnes, 2001). Según los datos aquí mostrados, puede observarse que todas las muestras tuvieron un comportamiento altamente pseudoplástico.

En productos lácteos, la “cremosidad” está asociada a la consistencia y/o viscosidad del mismo (Van Vliet y col., 2009); en particular, sistemas con una viscosidad por encima de 10 Pa.s son evaluados a una velocidad de deformación constante de unos 10 s^{-1} (Kokini y col., 1977). Ordenando los productos según su viscosidad aparente media decreciente a $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1}$, se obtuvo:

$$\begin{array}{ccccccccc} \text{M1} & > & \text{M3} & > & \text{M6} & > & \text{M2} & > & \text{M4} & > & \text{M5} \\ 91.1^{\text{a}} \text{ Pa.s} & & 58.1^{\text{b}} \text{ Pa.s} & & 51.7^{\text{b}} \text{ Pa.s} & & 43.7^{\text{b}} \text{ Pa.s} & & 24.1^{\text{c}} \text{ Pa.s} & & 21.4^{\text{c}} \text{ Pa.s} \end{array}$$

donde supraíndices iguales indican que no hay diferencia significativa entre las medias ($P > 0.05$).

Estos resultados obtenidos para viscosidades a 10 s^{-1} mostraron un patrón similar que lo observado para η_0 . Aunque el producto tipo tradicional Premium M1 no tenía ningún agente espesante añadido según su rótulo, su menor a_w y contenido de agua (y por lo tanto, mayor concentración de sólidos) explica su mayor viscosidad aparente respecto al producto tipo repostero M3.

Si bien el producto bajas calorías M4 presentó el mayor contenido acuoso e inferior contenido de sólidos por refractometría comparado con el resto de las muestras, el producto tipo light M5 mostró la menor viscosidad media, lo que podría explicarse por la naturaleza de los agentes espesantes incluidos en el mismo (fructosa, sorbitol, polidextrosa, celulosa microcristalina según su rótulo). Comparando el dulce M5 con M2 y M6, se observó que a igual contenido de sólidos, M5 presentó el mayor porcentaje de humedad, lo que puede explicar su menor viscosidad.

Ensayos oscilatorios dinámicos

El desarrollo de los módulos elástico (G') y viscoso (G'') con la frecuencia fue en todas los productos de diferentes tipos analizados cualitativamente similar, encontrándose algunas pequeñas diferencias estructurales en el espectro mecánico.

Los ensayos de oscilometría dinámica mostraron que el módulo de almacenamiento (G') fue superior a el módulo de pérdida (G'') durante tres décadas de frecuencia, y se observó un mínimo en G'' a bajas frecuencias para todas las marcas de dulces analizadas, excepto para

la correspondiente al producto light M5 (Figura 3-4 y Figura 3-5). A frecuencias intermedias de los espectros mecánicos se observó una región "plateau"; zona intermedia entre la zona "terminal" y de "transición" (Figura 1-17), caracterizada por una disminución en la pendiente de ambos módulos y un posible mínimo en G'' , y en la cual G' tiende a ser constante con la frecuencia. Esta zona se ha relacionado con la existencia de un sistema con un alto grado de estructuración causado por entrecruzamientos físicos entre las cadenas poliméricas (Ferry, 1980). Un comportamiento similar a los observados fue informado anteriormente para dulce de leche por Navarro y col. (1999).

La tangente de pérdida (Ec. 1-21, que indica si predomina la propiedad elástica o viscosa) en la zona plateau presentaron valores entre 0.2 y 0.3 que corresponderían a soluciones de polímeros amorfos (Steffe, 1996) para todos los productos excepto para el de tipo light M5, para el cual fue superior y osciló entre 0.4 y 0.6, indicando un comportamiento más fluido.

El dulce de leche tipo repostero analizado (M3) presentó valores más altos en ambos módulos respecto al dulce de leche tradicional M2, debido a los agentes espesantes adicionados en la formulación (carragenano, agar y pectina), lo que aumentó las características elásticas del sistema y le confieren un mayor grado de estructuración. Sin embargo, presentó valores de G' y G'' inferiores al producto tradicional premium M1 en todo el rango de frecuencias evaluado; esto pudo atribuirse a la menor a_w y humedad de éste, que lo hace más consistente aún sin agregado de espesantes.

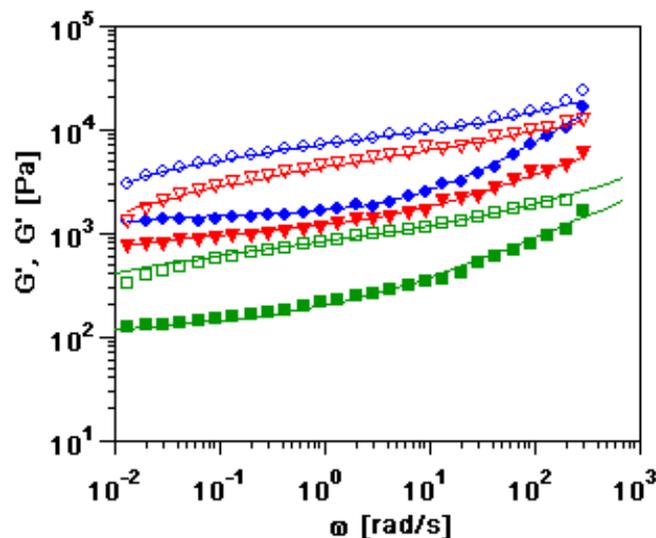


Figura 3-4. Barridos de frecuencia correspondientes a los productos comerciales analizados: M1 ($\diamond G'$, $\blacklozenge G''$); M3 ($\nabla G'$, $\blacktriangledown G''$), M4 ($\square G'$, $\blacksquare G''$). Modelo BSW generalizado ajustado a los datos experimentales (—).

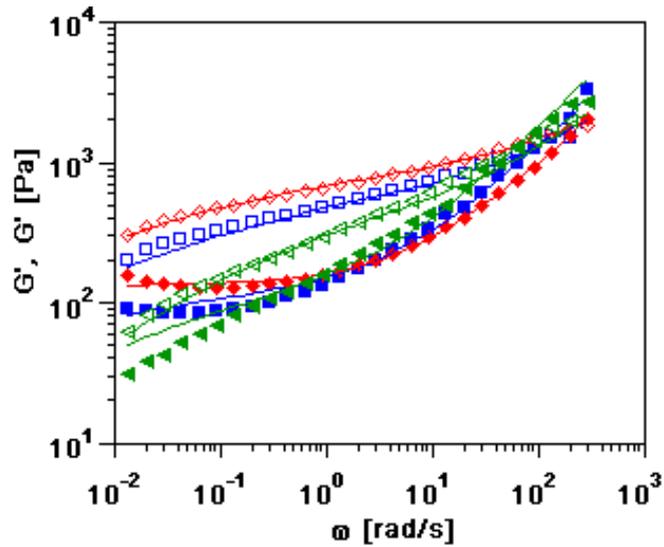


Figura 3-5. Barridos de frecuencia correspondientes a los productos comerciales analizados: M2 ($\diamond G'$, $\blacklozenge G''$); M5 ($\triangleleft G'$, $\blacktriangleleft G''$), M6 ($\square G'$, $\blacksquare G''$). Modelo BSW generalizado ajustado a los datos experimentales (—).

Respecto a los dulces comerciales de tipo “bajas calorías” y “light” analizados (M4, M5 y M6) se observó un comportamiento similar para M4 y M6, mientras que M5 presentó diferencias respecto a dicho comportamiento. Entre estos productos, la inclusión de espesantes en M4 y M6 explicarían estos resultados. Para el producto M5, G'' fue ligeramente inferior a G' , sin presentar un mínimo, con una mayor dependencia de los dos módulos con la frecuencia, típico de geles débiles de sistemas menos concentrados, con un menor grado de entrecruzamientos (Schorsch y col., 1997). Ambos productos light (M5 y M6) presentaron similar contenido de humedad y lípidos, sin embargo, es evidente que la adición de carragenanos y almidón en la formulación del producto M6 le otorgó un comportamiento con mayores características sólidas, respecto a M5.

Mediante una representación adecuada del espectro de relajación, es posible modelar los módulos dinámicos. El espectro de un material no es una función medible experimentalmente, por lo que se tiene que calcular a partir de valores experimentales de las funciones viscoelásticas lineales, las cuales sí son accesibles experimentalmente.

El comportamiento de relajación de polímeros monodispersos flexibles observado experimentalmente se ha expresado con éxito por el denominado espectro de Baumgärtel, Schausberger y Winter (BSW). A pesar de ser puramente empírico, sin ningún respaldo teórico conocido, puede servir idealmente como referencia para explorar las propiedades de los espectros de polímeros lineales flexibles que fueron teóricamente predichos a partir de la dinámica molecular (Friedrich y col., 2008).

El espectro $H(\lambda)$ se puede predecir a partir de los G' y G'' experimentales obtenidos a partir de los ensayos de barrido de frecuencia.

Baumgärtel y col. (1990) evaluaron datos experimentales de $G'(\omega)$ y $G''(\omega)$ para polímeros largos, lineales, flexibles y monodispersos, y determinaron la forma general de las funciones de relajación por inversión de datos obtenidos en términos de frecuencias a dominios de tiempos. Ellos sostienen que, dentro del error experimental, un simple espectro de ley de la potencia es capaz de expresar todos los detalles de los datos publicados por Schausberger y col. (1985) y los propios (Baumgärtel y col., 1992). Basados en dicha observación, propusieron un espectro de tiempos de relajación (denominado “espectro BSW”). Dicho espectro tiene la siguiente forma:

$$H(\lambda) = G_N^0 \left[A \left(\frac{\lambda}{\lambda_0} \right)^{-n_0} + n_e \left(\frac{\lambda}{\lambda_e} \right)^{n_e} \right] \exp \left[- \left(\frac{\lambda}{\lambda_{\max}} \right)^\beta \right]$$

para $\lambda \leq \lambda_e$

$H(\lambda) = 0$ para $\lambda > \lambda_e$

Ec. 3-1

donde G_N^0 es el módulo plateau, n_e y n_0 son las pendientes del espectro en la zona de entrecruzamiento y la zona de transición vítrea a altas frecuencias, respectivamente, A es el factor relacionado a la transición vítrea y λ_e es el tiempo correspondiente al inicio de la región pseudo-terminal. El exponente β controla cuán abrupta es la línea de corte del espectro y λ_{\max} es el mayor tiempo de relajación.

Físicamente, los tiempos de respuesta λ son discretos. La representación continua es simplemente un artificio matemático conveniente para facilitar el empleo de distribuciones de tiempos de respuesta (Tschoegl, 1998). La dependencia temporal del material puede ser evidenciada en un conjunto finito de tiempos de respuesta y sus respectivos espectros de esfuerzos asociados $\{\lambda_i, G_i\}$.

Un problema inverso es aquel en donde los valores de algunos parámetros del modelo deben ser obtenidos de los datos observados. Los problemas inversos normalmente son problemas mal condicionados, en contraposición con los bien condicionados. La condición de “unicidad de solución” que incluyen estos últimos, es la que no se cumple en el caso de la inversión de una única ecuación integral del tipo de la Ec. 1-30 para G' (o Ec. 1-31 para G''), sin embargo este condicionamiento desaparece cuando se realiza la inversión de las dos integrales interrelacionadas (Mours y Winter, 2000).

El software específico (desarrollado por H.H. Winter y M. Mours IRIS Rheo-Hub 2007 Development LLC, MA, EE.UU.) tiene la capacidad de resolver este tipo de situaciones de mal condicionamiento mediante un abordaje matemático avanzado y se utilizó en la presente Tesis para estimar los parámetros del espectro BSW ampliado (Ec. 3-1) de los

diferentes dulces de leche comerciales. Aunque esta metodología es matemáticamente compleja, según Baumgaertel y Winter (1989), cuando las propiedades mecánicas son evaluadas directamente desde experimentos de fluencia o relajación se pierde en precisión lo que se gana en sencillez. Por lo que el espectro $H(\lambda)$ se lo predijo a partir de los módulos de pérdida y almacenamiento obtenidos experimentalmente.

Se ha estudiado extensamente la validez del espectro BSW en los sistemas de polímeros (Jackson y col., 1994) y ha sido satisfactoriamente empleado en varias oportunidades para representar el comportamiento de diferentes sistemas poliméricos y emulsionados (Larrosa y col., 2013; Bengochea y col., 2008; Franco y col., 1997).

En las Figura 3-4 y Figura 3-5 puede observarse el adecuado ajuste del modelo matemático BSW a los datos dinámicos experimentales.

Respecto a los parámetros característicos de los sistemas, el módulo de plateau G_N^0 refleja la arquitectura molecular de los polímeros y es proporcional al número de entrecruzamientos por unidad de volumen e inversamente proporcional al peso molecular promedio de los segmentos de cadenas poliméricas ubicadas entre dos entrecruzamientos adyacentes. Es una medida de la contribución de los entrecruzamientos entre moléculas poliméricas a los módulos elástico y de almacenamiento (Flory, 1953).

El parámetro G_N^0 puede predecirse a partir del espectro BSW y también se puede estimar directamente de las curvas de barrido de frecuencias experimentales como (Wu, 1989; Larson y col., 2003; Bais y col., 2005; Ferry 1980):

$$G_N^0 = G'_{\text{tg}(\delta) \rightarrow \min} \quad \text{Ec. 3-2}$$

La Tabla 3-4 muestra los módulos plateau predichos por el modelo BSW ampliado para los diferentes dulces comerciales analizados, así como los correspondientes valores calculados a partir de la Ec. 3-2, a excepción de M5, donde el mínimo de la tangente de pérdida podría estar fuera del rango de medida.

Tabla 3-4. Módulos plateau G_N^0 (Pa) de diferentes dulces de leche comerciales estimados a partir del espectro BSW ampliado y obtenidos de las curvas de barrido de frecuencia.

Módulos plateau G_N^0 (Pa)	Producto					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Obtenidos del espectro BSW (Ec. 3-1)	12×10^3	11×10^3	7.9×10^3	3.8×10^3	2.8×10^3	195
Obtenidos de curvas de barrido de frecuencias (Ec. 3-2)	8.7×10^3	9×10^3	7.1×10^3	0.8×10^3	--	410

El módulo plateau es un parámetro representativo de las propiedades viscoelásticas por ser independiente de la frecuencia. Se puede observar para éste parámetro que los valores estimados directamente de las medidas dinámicas coinciden, dentro de los errores esperados, con las predicciones del modelo BSW ampliado, mostrando los valores más altos para los productos tradicional M1 y repostero M3, concordando con la viscosidad aparente experimental observada. Esto indicaría que estos productos poseen mayor número de entrecruzamientos por unidad de volumen, atribuido a la mayor concentración de macromoléculas en M1, mientras que en M3 el agregado de espesantes contribuyó al entrecruzamiento.

El conocimiento del espectro permite la predicción de varias funciones viscoelásticas, así, una vez conocidos los espectros de relajación continuos, se calculó:

- viscosidad a cero velocidad de deformación:

$$\eta_0 = \int_{-\infty}^{+\infty} H[\lambda] \lambda d \ln \lambda \tag{Ec. 3-4}$$

- capacitancia en estado estacionario:

$$J_e^0 = \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} H[\lambda] \lambda^2 d \ln \lambda}{\left(\int_{-\infty}^{+\infty} H[\lambda] \lambda d \ln \lambda \right)^2} \tag{Ec. 3-5}$$

- tiempo de relajación terminal:

$$\lambda_t = \eta_0 \cdot J_e^0 \tag{Ec. 3-6}$$

La función material capacitancia en estado estacionario, J_e^0 , es una medida de la energía almacenada en flujo estacionario por un material sometido a pequeños esfuerzos y puede ser atribuida al componente elástico del dulce de leche.

La Tabla 3-5 muestra los valores calculados de las funciones materiales sobre los distintos tipos de dulces comerciales analizados.

Tabla 3-5. Funciones materiales de diferentes dulces comerciales analizados calculadas a partir del espectro de relajación.

Producto	η_0 (Pa.s)	J_e^0 (Pa ⁻¹)	λ_e (s)
M1	6.5×10^6	4×10^{-4}	2609
M2	3.1×10^5	6.5×10^{-3}	2008
M3	2.6×10^6	7.7×10^{-4}	2030
M4	9.4×10^5	3.2×10^{-3}	3054
M5	1.7×10^5	1.4×10^{-2}	2300
M6	4.0×10^5	6.2×10^{-3}	2507

Una vez más, los valores más altos de η_0 corresponden a los productos tradicional Premium M1 y repostero M3, mientras que el producto light M5 resultó el producto menos viscoso. Se puede observar también que los tiempos de relajación terminal (λ_e) están en el orden de 10^3 segundos, que corresponden a una frecuencia de 10^{-3} s^{-1} en la zona donde $G' \cong G''$.

Se observó que los dulces de leche tradicional y repostero presentaron mayores módulos de almacenamiento (G'), viscosidad a cero esfuerzo de corte (η_0) y y módulos plateau (G_N^0), lo que refleja una estructura con características más sólidas que se correlaciona con una mayor concentración de los componentes (por ejemplo, proteínas de leche) que forman la red. Un mayor número de enlaces hacen una matriz más firme, con una mayor resistencia al flujo. Además, el DL repostero confitería tenía agentes espesantes y gelificantes en su formulación (carragenina, agar y pectinas), lo cual refuerza la red. Por el contrario, los sistemas light o reducidos en calorías mostraron características más de fluido mas marcadas con dichos parámetros reológicos más bajos.

Ensayos de fluencia viscosa

A modo de ejemplo, en la Figura 3-6 se muestran los datos experimentales de fluencia-recuperación correspondientes a los dulces comerciales M1, M3 y M4.

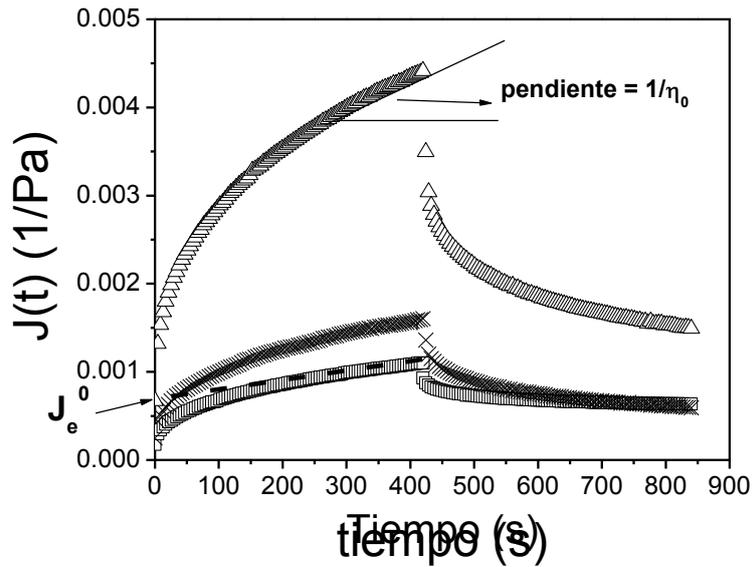


Figura 3-6. Fluencia viscosa experimental correspondiente a los dulces comerciales tradicional M1 (□), repostero M3 (x) y bajas calorías M4 (Δ).

Se observa que el producto bajas calorías (M4) presentó mayor deformación al aplicarse el esfuerzo respecto de los dulces tradicional (M1) y repostero (M3), esto se correlacionó con que el dulce M4 es menos consistente que los dulces M1 y M3.

La Tabla 3-6 presenta los parámetros η_0 , J_e^0 y λ_c (tiempo característico del sistema) calculados mediante el ajuste de cuatro parámetros del modelo de Voigt a las curvas experimentales obtenidas utilizando IRIS Rheo-Hub 2007 (Ec. 1-26)..

Tabla 3-6. Funciones viscoelásticas calculadas a partir del ensayo de fluencia viscosa: η_0 (viscosidad a cero velocidad de deformación), J_e^0 (capacitancia en estado estacionario), y λ_c (tiempo característico del sistema) de diferentes dulces de leche comerciales.

Producto	η_0 (Pa.s)	J_e^0 (Pa ⁻¹)	λ_c (s)
M1	9.0×10^5	6.3×10^{-4}	580
M2	1.4×10^5	5.2×10^{-3}	630
M3	1.1×10^6	7.6×10^{-4}	720
M4	2.6×10^5	3.7×10^{-3}	950
M5	3.0×10^4	3.1×10^{-2}	940
M6	1.3×10^5	7.4×10^{-3}	970

Como puede observarse, también en este caso las η_0 predichas muestran una muy aceptable concordancia con la viscosidad límite a velocidad de cizalla cero evaluada mediante el modelo de Cross de las experiencias de flujo en estado estacionario y por el modelado de las experiencias de oscilometría dinámica (Tabla 3-3 y Tabla 3-5, respectivamente).

En el caso de la capacitancia $J(t)$, se define un espectro continuo de retardación. Para infinitos elementos y tiempos de retardación infinitesimales, se define el espectro continuo de retardación $L(\lambda)$ como suma de contribuciones infinitesimales del comportamiento del material. La capacitancia se expresa en términos del espectro de retardación (Ec. 1-27).

Dado que hay una relación biunívoca entre los espectros de relajación ($H(\lambda)$) y retardación ($L(\lambda)$) (Ferry, 1980), se calculó $L(\lambda)$ de cada muestra a partir del respectivo espectro de relajación $H(\lambda)$ usando el software IRIS Rheo-Hub (Winter y Mours, 2006) mediante la siguiente relación:

$$L(\lambda) = \frac{H(\lambda)}{\left(\int_{-\infty}^{\infty} \frac{H[u]}{\lambda} \frac{d \ln u}{u} - 1 \right)^2 + \pi^2 H^2(\lambda)} \tag{Ec. 3-7}$$

Una vez obtenido $L(\lambda)$ para cada tipo de producto, los comportamientos de fluencia fueron simulados utilizando la Ec. 1-27. El satisfactorio ajuste entre los datos experimentales y su predicción son mostrados en la Figura 3-7.

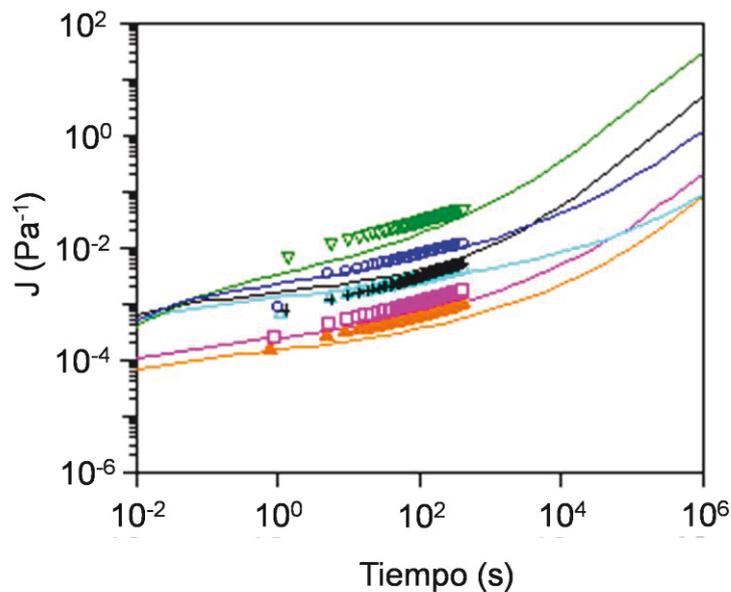


Figura 3-7. Datos experimentales transientes (fluencia, J, M1 ▲, M2 +, M3 □, M4 △, M5 ▽, M6 ○) y las curvas predichas a partir del espectro (M1 —, M2 —, M3 —, M4 —, M5 —, M6 —).

En términos generales, a pesar de las diferencias en la composición y el comportamiento reológico de los varios tipos de "dulce de leche" comerciales estudiados, fue posible analizar las características reológicas de todos los sistemas y modelar los resultados obtenidos utilizando el modelo ampliado Baumgärtel-Schausberger-Winter (BSW) como una representación de los espectros de relajación para convertir el dominio de frecuencias en tiempos de relajación. Los parámetros del modelo BSW se utilizaron para explicar las características estructurales de los sistemas; por lo tanto, el patrón microestructural general del "dulce de leche" puede ser similar, y las diferencias observadas se explicaron principalmente por el nivel de interacciones entre los componentes macromoleculares.

Utilizando el espectro continuo obtenido, fue posible calcular otras propiedades viscoelásticas de interés; por lo tanto, la metodología propuesta es una herramienta útil, en especial para establecer un banco de datos reológicos y el análisis de experimentos viscoelásticos de este tipo de productos.

3.5 Conclusiones parciales

✓ De la caracterización de dulces de leche comerciales se observó que, para las diferentes formulaciones según el tipo de dulce (tradicional, repostero, Light, reducido en calorías), la actividad acuosa varió entre 0.764 y 0.882 y el contenido de humedad entre 31.5 y 48.9% correspondiendo los valores más bajos al DL tradicional de tipo Premium, siendo los más altos los del producto bajas calorías. Estos productos presentaron 76 y 59 °Brix respectivamente. Asimismo, los valores de pH se encontraron entre 5.70 y 6.15.

✓ Respecto al color, el parámetro con mayor variación fue la luminosidad, observándose diferencias con el tipo de dulce y, para un mismo tipo, entre marcas debido a variaciones en su formulación.

✓ De las curvas de flujo obtenidas se pudo concluir que todos los dulces de leche comerciales correspondieron a una estructura fluida con un claro comportamiento pseudoplástico en una amplia gama de velocidades de deformación.

✓ Se calcularon los parámetros η_0 , τ y m del modelo de Cross modificado ajustado a cada una de las formulaciones y se concluyó que el producto tradicional premium mostró la mayor η_0 , siendo incluso más viscoso que el DL repostero mientras que otra marca de producto tradicional tuvo características de flujo similar a los productos "light". Estos resultados concordaron con los valores de actividad acuosa, ya que el producto Premium presentó la menor a_w , por lo tanto menor agua libre y menor movilidad molecular, lo que produjo una mayor η_0 . Asimismo, el producto tradicional Premium presentó la mayor viscosidad aparente a $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1}$ aún sin poseer agentes espesantes en su formulación. Uno

de los productos light analizados, presentó la menor viscosidad y mayor porcentaje de humedad.

✓ El espectro mecánico de todos los tipos de productos estudiados fue cualitativamente similar, encontrándose algunas pequeñas diferencias. Los ensayos de oscilometría dinámica mostraron que G' fue superior a G'' durante tres décadas de frecuencia, y se observó un mínimo en G'' a bajas frecuencias para todas las marcas de dulces analizadas, excepto para la correspondiente a un producto tipo light. Asimismo, también se observó una región "plateau".

✓ Los módulos plateau estimados directamente de las medidas dinámicas de los productos comerciales coincidieron, dentro de los errores esperados, con las predicciones del modelo BSW ampliado, mostrando los valores más altos para el producto Premium y repostero. Estas mismas muestras tuvieron los valores más altos de η_0 calculadas a partir del espectro de relajación.

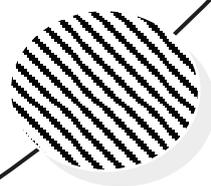
✓ En el ensayo de fluencia viscosa, el producto light presentó mayor deformación al aplicarse el esfuerzo respecto de los dulces tradicional y repostero, esto concuerda con las características de consistencia de este producto.

✓ Los datos provenientes de experimentos dinámicos fueron convertidos exitosamente al dominio temporal mediante la aplicación del modelo BSW. La capacitancia fue predicha a partir de este espectro y comparada con los datos experimentales para validar el espectro mecánico. Además se predijeron propiedades mecánicas mediante ensayos de flujo, Creep y dinámicos, resultando dichas predicciones consistentes por los tres métodos estudiados.

✓ Los datos provenientes de experimentos dinámicos fueron convertidos exitosamente al dominio temporal mediante la aplicación del modelo BSW ampliado. La capacitancia fue predicha a partir de este espectro y comparada favorablemente con los datos experimentales para validar el espectro mecánico. Además, se predijeron propiedades mecánicas mediante ensayos de flujo, Creep y dinámicos, resultando dichas predicciones consistentes por los tres métodos.

Dulce de leche 0% lípidos

Capítulo 4



4.1 Introducción

4.1.1 Aspecto nutricional y tecnológico

La obesidad es actualmente una moderna “epidemia”. Una alimentación basada en la reducción de calorías, mantenerse informado acerca de las opciones de alimentos disponibles en el mercado y la actividad física pueden ayudar a las personas a alcanzar y mantener un peso saludable, a reducir su riesgo de enfermedades crónicas y promover la salud en general. La Guía Alimentaria Estadounidense 2010 enfatiza el consumo de ciertos alimentos y nutrientes, como productos libres o reducidos en grasas, y subraya la importancia de una dieta baja en lípidos. En las recomendaciones de una alimentación saludable se incluye el aumento de la ingesta productos lácteos descremados o reducidos en grasa, tales como leche, yogurt y queso.

Las grasas de la dieta provienen tanto de alimentos de origen vegetal como animal. Proporcionan energía (calorías), ácidos grasos esenciales y ayudan en la absorción de vitaminas liposolubles A, D, E y K. Los rangos aceptados y recomendados de calorías provenientes de las grasa para niños y adultos (1-3 años: 30-40% de las calorías; 4-18 años: 25-35%; >19 años: 20 a 35%) están asociados con un menor riesgo de enfermedades crónicas, como las enfermedades cardiovasculares, y proporcionar una ingesta adecuada de nutrientes esenciales. El consumo de menos de 10% de las calorías provenientes de ácidos grasos saturados y su sustitución por monoinsaturados y/o ácidos grasos poli-insaturados se asocia con bajos niveles de colesterol en sangre, y por lo tanto un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares (USDA, 2010).

Por lo antes mencionado, las recomendaciones dietarias reconocen la contribución de los alimentos lácteos a una dieta saludable, sin embargo enfatizan utilizar preferentemente las versiones reducidas en grasa o descremada. La principal razón para esa recomendación es la relativamente alta cantidad de ácidos grasos saturados que contiene la grasa láctea y su impacto en el riesgo de contraer enfermedades crónicas (Steijns, 2008).

Como resultado de una mejor comprensión de la relación entre dieta y salud, se ha observado en los últimos años un cambio significativo en la actitud de los consumidores hacia las variantes bajas en grasa, con características físicas y sensoriales que se aproximen lo más posible a las de los productos estándar, ricos en grasa. El desarrollo y elaboración de estos productos es un desafío continuo para la industria lechera. Muchos de los primeros productos reducidos en grasa que ingresaron al mercado tenían propiedades sensoriales pobres e indeseables, por lo que estos productos, en general, quedaron con una mala imagen entre los consumidores (Frøst y Janhøj, 2007). La formulación de productos bajos en grasa enfrenta el problema de que la misma desempeña múltiples funciones en los

alimentos, afecta a la apariencia, la textura, sensación en la boca y sobre todo el flavor. Cuando se ingiere un alimento con grasa, se liberan gradualmente saborizantes solubilizados en ella, su reducción o eliminación provoca una menor liberación de dichos saborizantes, alterando la percepción del sabor (Lucca y Tepper, 1994).

Numerosos estudios han sido publicados evaluando el efecto del contenido graso en el comportamiento reológico y propiedades sensoriales de productos lácteos, principalmente en el flavor y percepción de la textura. Li y col. (1997) y Frøst y col. (2005) encontraron diferencias en términos de flavor y propiedades texturales entre muestras de helado con diferentes niveles de grasa. Los primeros autores mencionados encontraron, en un ensayo de preferencia con consumidores, que cuando se incrementó el contenido de grasa mejoró la calidad sensorial y la preferencia general. Miettinen y col. (2002) también reportaron que la cantidad de grasa afectó la liberación del aroma cuando se estudiaron helados sabor a frutilla con nariz electrónica, pruebas sensoriales y cromatografía gaseosa, encontrando que la liberación de varios compuestos aromáticos aumentó en el espacio de cabeza cuando el contenido de grasa de la muestra disminuyó. De Wijk y col. (2006) estudiaron el efecto del contenido de grasa láctea en flanes de vainilla con diferentes tipos y concentración de almidón por medio de pruebas sensoriales e instrumentales (análisis de imágenes, turbidez, fricción y mediciones reológicas) encontrando grandes diferencias en los atributos de textura percibidos en estos sistemas, en particular la sensación de cremosidad fue afectada negativamente por la disminución del contenido graso. Tárrega y col. (2006a) encontraron importantes diferencias en los parámetros viscoelásticos y la sensación percibida en la boca cuando estudiaron sistemas modelo de postres lácteos sabor vainilla de leche descremada y entera conteniendo almidón y λ -carragenano; las muestras elaboradas con leche desnatada mostraron menor viscosidad aparente y compleja (a concentraciones de λ -carragenano $<0.06\%$) y mayores valores de $\tan \delta$ (para concentraciones $<0.1\%$ λ -carragenano). González-Tomás y col. (2007) estudiaron la influencia del tipo de leche (entera o desnatada) sobre el comportamiento de flujo, liberación de sabor y percepción de sabor a fresa en sistemas modelo de natillas con agregado de almidón y κ -carragenano, encontrando que el sabor percibido sensorialmente fue mayor en muestras con leche desnatada, independientemente de la concentración de almidón y κ -carragenano. Tárrega y Costell (2006b) compararon las propiedades de postres lácteos sin grasa que contienen diferentes concentraciones de almidón con muestras de leche entera, encontrando que los postres elaborados con leche desnatada mostraron menor consistencia y menor comportamiento "shear thinning" que los correspondientes con leche entera. Asimismo, en queso, la eliminación o reducción de la grasa afectó negativamente tanto el flavor como la textura (Banks y col. 1989; Olson y Johnson, 1990; Rosenberg, 1992).

4.1.2 Reología del dulce de leche y otros productos lácteos relacionados

En la mayoría de los alimentos la textura es uno de los factores más importantes y determinantes de la calidad/aceptación por parte de los consumidores (Van Vliet y col., 2009). Además las propiedades reológicas son factores determinantes en diseño de equipos y operaciones unitarias tales como bombeo, homogeneización, mezclado, enfriamiento, pasteurización, esterilización, evaporación y deshidratación (Vélez-Ruiz y Barbosa-Cánovas, 1998).

Las propiedades de flujo definen la estructura de los alimentos durante su elaboración, preparación y consumo, esto es fisiológicamente importante en la boca, ya que es donde es percibida la estructura del alimento. Además, las propiedades reológicas son también importante para la percepción sensorial (por ejemplo, textura), estabilidad, aspectos industriales como vertido, fraccionamiento, dosificación, y características nutritivas (por ejemplo, la cinética de liberación, saciedad) (Dunkley y Jennings, 1951). Los agentes espesantes son también importante en la liberación del sabor, ya que aumentan la viscosidad que a su vez afecta la percepción del mismo (Patton y Kurtz, 1951).

El proceso de evaporación ocurrido durante la elaboración del dulce de leche (DL) provoca importantes modificaciones físicoquímicas y estructurales en la leche que se reflejan en sus propiedades de flujo. En términos generales, el comportamiento de flujo de leche concentrada cambia con el contenido de sólidos debido a que el agua es eliminada por evaporación, lo que provoca una reducción de espacio entre partículas, tales como micelas de caseína, glóbulos de grasa, proteínas de suero, lactosa y constituyentes menores (Prentice, 1992). Esas interacciones importantes entre los sólidos de leche, donde las proteínas y los lípidos son los constituyentes que resultan más alterados, y los cambios físicoquímicos en los componentes, afectan seriamente el comportamiento reológico de la leche (Vélez-Ruiz y Barbosa-Cánovas, 1998).

Sin embargo, la mayoría de los estudios se han dedicado a medir la viscosidad o propiedades reológicas de productos lácteos después de tratamientos térmicos. Con respecto a las propiedades de flujo de DL, Hough y col. (1988) estudiaron las propiedades de flujo de un producto con contenido de sólidos entre 55 y 70% y temperaturas comprendidas entre 25 y 70 °C. Empleando el modelo de Weltmann evaluaron el carácter tixotrópico de las muestras encontrando una disminución del mismo a mayor contenido de sólidos. A partir de las curvas de flujo obtenidas concluyeron que el modelo de Herschel-Bulkley era adecuado para describir el comportamiento reológico del dulce de leche. Posteriormente, Pauletti y col. (1990) ajustaron las curvas de flujo de muestras de dulce de leche mediante los modelos de Casson, Herschel-Bulkley y Michaels-Bolger.

Ares y col. (2006) encontraron que el umbral de fluencia, σ_0 , fue el parámetro más adecuado para caracterizar la textura de dulce de leche en control de calidad o desarrollo de productos, ya que mostró la mayor capacidad de discriminación además de ser un método rápido y directo. Los parámetros instrumentales que se relacionaron con la firmeza de DL (límite de elasticidad, fuerza de extrusión, dureza, módulo y adhesividad) fueron altamente correlacionados con la dureza sensorial. Ningún parámetro instrumental fue capaz de reflejar la capacidad de formar hilos (ropiness) de las muestras medidas sensorialmente. Asimismo, Pauletti y col. (1990), Navarro y col. (1999) y Pedrero y col. (2001) utilizando pruebas oscilatorias dinámicas, encontraron que el comportamiento reológico de DL resultó intermedio entre una solución concentrada y un gel, dependiendo del tipo y el contenido de sólidos. Finalmente, Corradini y Peleg (2000) evaluaron la consistencia de DL de manera alternativa estudiando el flujo por extrusión utilizando un lubricante. Los resultados obtenidos por estos autores no pudieron ser modelados con la ley de la potencia, sin embargo el comportamiento pudo ser descripto por una fórmula empírica.

4.1.3 Sustitutos de materia grasa en productos magros

Con el fin de imitar las diferentes funciones de la grasa en un producto sustancialmente reducido en la misma, debemos considerar una adecuada consistencia, el ajuste de sólidos, el impacto del tamaño de partícula en la sensación en la boca, la contribución al color, y un adecuado balance de las características del flavor percibidas del sistema. Por lo tanto, se han desarrollado muchos ingredientes y diferentes estrategias tecnológicas para el objetivo específico de sustitución de la grasa en productos alimenticios (Romeih y col., 2002). Hay varios tipos de sustitutos de grasa y en cada caso la selección depende de la composición y características de cada alimento. Cada tipo o categoría de sustitutos de grasa puede proporcionar una gama de cualidades sensoriales y funcionales en productos bajos en grasa. Así, los principales sustitutos de grasa mayormente utilizados son los basados en proteínas (concentrado de proteínas de suero lácteo, proteínas microparticuladas), carbohidratos (almidones, polidextrosa, celulosa, pectina, inulina, goma xántica, carragenanos), de creciente interés porque, además de sus propiedades fisicoquímicas, también tienen características saludables (Bayarri y col., 2010), o bien, en moléculas de naturaleza lipídica (emulsificantes, triacilgliceroles de cadena media, lípidos estructurados, lípidos acalóricos).

Goma xántica

La goma xántica es un heteropolisacárido natural producido por la bacteria *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459; es un importante biopolímero de uso industrial ampliamente

estudiado debido a sus propiedades que le permiten complementar otras gomas conocidas solubles en agua naturales y sintéticas. Su estructura primaria consiste en unidades de pentasacáridos repetidas formadas por dos glucosas, dos manosas y una molécula de ácido glucurónico, en la relación molar 2.8:2.0:2.0 (Figura 4-1).

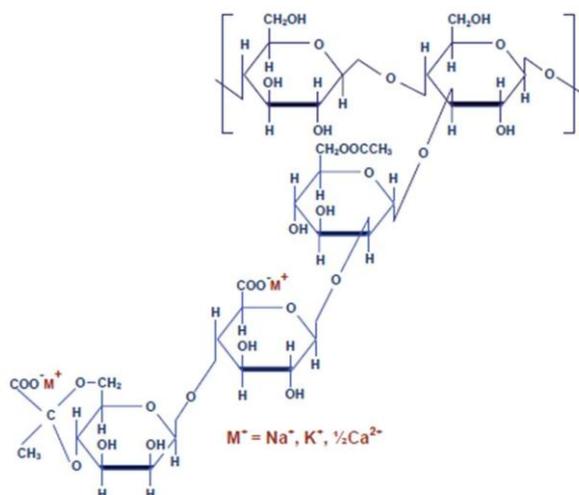


Figura 4-1. Estructura de la goma xántica.

En solución acuosa diluida, la goma xántica forma una simple o doble hélice (Iseki y col., 2001; Ross-Murphy y col., 1983; Sato y col., 1984; Rodd y col., 2000). En soluciones de fuerza iónica baja o a alta temperatura, las cadenas de goma xántica adoptan una configuración random coil (al azar), debido a que las cadenas laterales aniónicas se repelen entre sí. Sin embargo, la adición de incluso pequeñas cantidades de electrolito reduce la repulsión electrostática entre ellas, permitiendo que se acerquen alrededor de la cadena principal mediante enlaces hidrógeno. La cadena polimérica adopta una disposición de varilla helicoidal relativamente rígida, que vuelve a la configuración al azar (random coil) si la solución es muy diluida o calentada. Con el aumento de la concentración de electrolito, sin embargo, la forma de varilla se mantiene a temperaturas más altas y mayores diluciones; a fuerzas iónicas mayores a 0.15 M, se mantiene hasta 100 °C. La Figura 4-2 muestra el efecto de electrolito en la configuración molecular de la goma xántica.

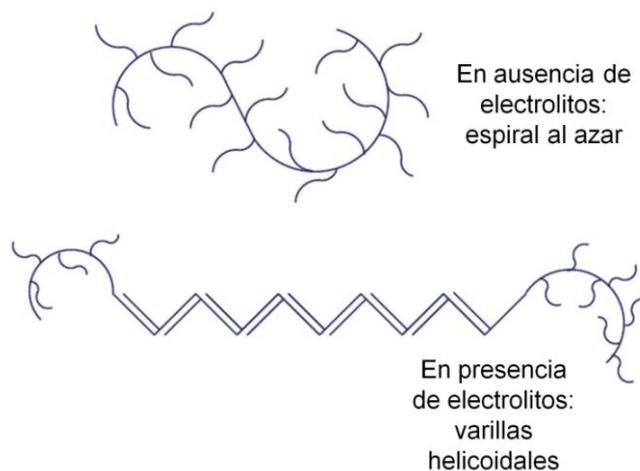


Figura 4-2. Efecto de los electrolitos en la configuración de la molécula de goma xántica.

La naturaleza de la interacción entre las moléculas de goma xántica en solución acuosa no es del todo conocida, aunque se cree que están involucrados los enlaces hidrógeno y las interacciones iónicas. En soluciones sin sales, la viscosidad se atribuye al entramado de cadenas de polímeros al azar, en la medida permitida por la repulsión mutua de la carga negativa de las cadenas laterales. En presencia de electrolitos, se forma una red coloidal mediante enlaces hidrógeno intermoleculares entre segmentos de varillas helicoidales, además de limitarse el entrecruzamiento de polímeros, como se ilustra en la Figura 4-3. Esta red de moléculas rígidas entrelazadas es la responsable de las propiedades reológicas características de las soluciones de goma xántica.

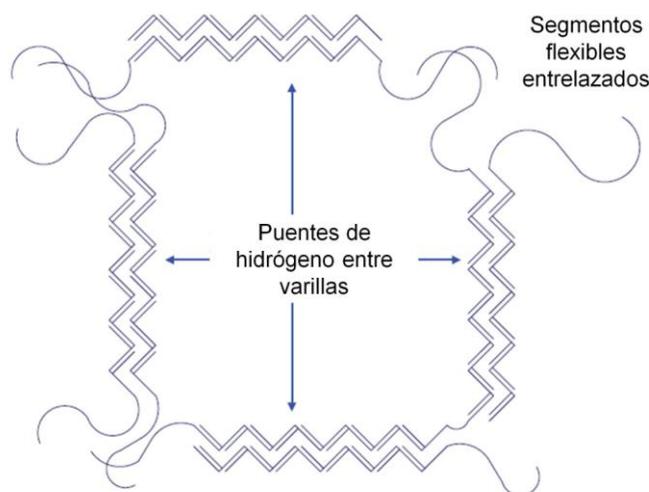


Figura 4-3. Red polimérica de goma xántica.

Las soluciones de goma xántica de baja fuerza iónica experimentan transición térmica, la cual ha sido detectada por una variedad de métodos físicos. Jeanes y col. (1961) la

demonstraron por primera vez como un cambio sigmoideo en la viscosidad de soluciones al 1% sin sales ($T_m=55\text{ }^\circ\text{C}$).

Posteriormente Morris y col. (1977) mostraron que las transiciones en rotación óptica y dicroísmo circular son coincidentes con el cambio de viscosidad, lo que indica una transición en la conformación de la molécula. Estos datos son consistentes con el desplegamiento de una estructura ordenada como una hélice en una tipo random coil, con la consecuente disminución en el volumen hidrodinámico efectivo y, por lo tanto, la viscosidad.

Las dispersiones de goma xántica son un ejemplo convencional de comportamiento característico de gel débil (Rao, 1999). La asociación intermolecular entre cadenas de polímero da como resultado la formación de una red compleja de moléculas unidas débilmente. Estos agregados se rompen progresivamente bajo la influencia de un esfuerzo de cizalla aplicado. El calentamiento de una solución de goma xántica por encima de la temperatura de transición resulta en una pérdida o disminución de la estructura ordenada. Esta estructura retorna a su estado original tras el enfriamiento, dependiendo del entorno salino y la concentración de goma xántica (Norton y col., 1984).

Según datos de rayos X, la goma xántica consiste en una estructura de doble hélice compuesta por dos moléculas de xántica enroscadas. Estudios de conformación de goma xántica en solución sugieren que posee características de varilla con cierto grado de flexibilidad (Whitcomb y Macosko, 1978). Holzwarth y Prestridge (1977) sugirieron un ensamblado doble o de múltiple hebra, mientras Norton y col. (1984) argumentaron una única entidad de hélice en solución.

La red polimérica de la goma xántica la hace un espesante muy eficiente en sistemas acuosos. Las soluciones de goma xántica son altamente viscosas incluso a bajas concentraciones (García-Ochoa y col., 2000). Concentraciones tan bajas como 0.1% en peso producen un aumento significativo de la viscosidad, mientras que superiores al 1.0% originan sistemas de muy alta viscosidad y consistencia tipo gel.

Las soluciones de goma xántica tienen características pseudoplásticas, ya que la viscosidad decrece cuando aumenta la velocidad de cizalla (Kang y Pettitt, 1993, García-Ochoa, 2000). Sin embargo, estas soluciones presentan un umbral de fluencia, que debe superarse para que fluya. En términos prácticos, sólidos, aceites y gases son atrapados y separados por la red polimérica a menos que la fuerza de la gravedad o la resistencia puedan ejercer una fuerza mayor que dicho umbral. Cuanto mayor es el valor del umbral de fluencia, más estable es la suspensión, emulsión o espuma. Otros hidrocoloides poliméricos pueden proporcionar características espesantes, pero pocos brindan el umbral de fluencia obtenido con la goma xántica.

Las soluciones de goma xántica no son tixotrópicas en forma significativa. La pseudoplasticidad es el resultado de moléculas de alto peso molecular que forman agregados moleculares complejos a través de puentes hidrógeno y entramados poliméricos. Esta red entramada altamente ordenada es responsable de la alta viscosidad a bajas velocidades de cizalla y de las propiedades de suspensión. El comportamiento pseudoplástico resulta de la desorganización de esa red y de la alineación de las moléculas poliméricas individuales en la dirección del esfuerzo (Figura 4-4). Sin embargo, cuando cesa el cizallamiento, los agregados vuelven a formarse rápidamente.

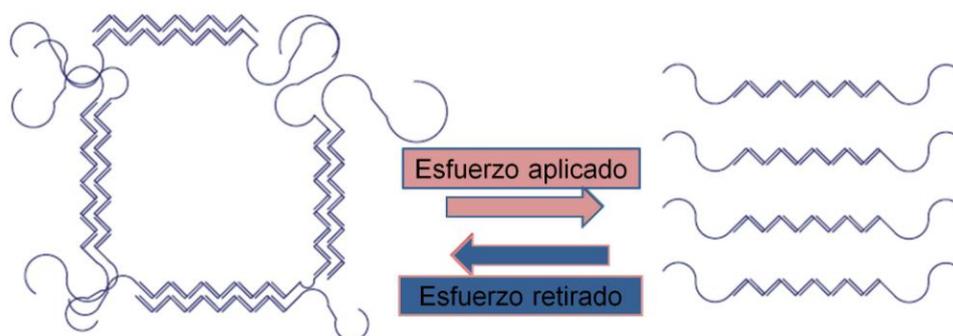


Figura 4-4. Efecto del esfuerzo aplicado sobre la red polimérica de la goma xántica.

Como resultado de su conformación helicoidal rígida la viscosidad de la goma xántica es relativamente insensible a diferencias en fuerza iónica y pH. La protección de la cadena principal de la goma xántica por las cadenas laterales resulta en una estabilidad superior en comparación con otros polisacáridos cuando son expuestos a ácidos, álcali o enzimas.

Las soluciones de goma xántica son únicas en su capacidad para conservar su viscosidad hasta alcanzar su "temperatura de melting". A esta temperatura, la viscosidad cae bruscamente debido a un cambio de conformación molecular reversible. Tras el enfriamiento, las soluciones vuelven a su alta viscosidad original (Figura 4-5).

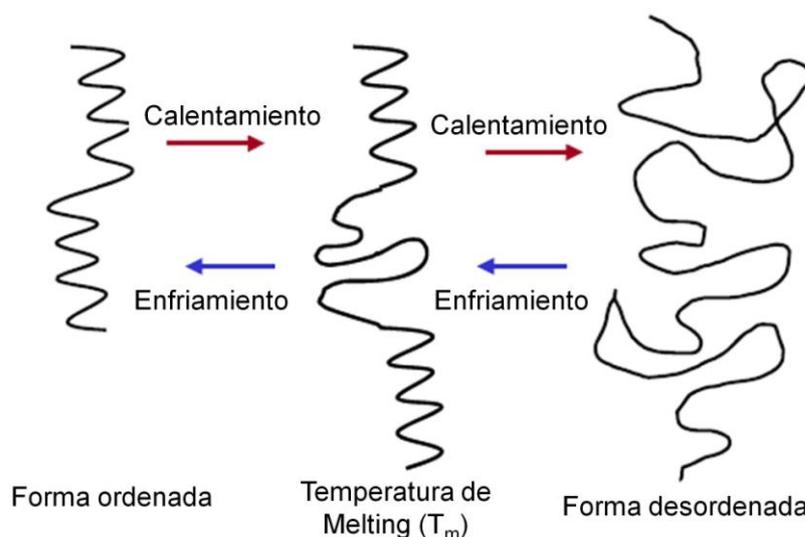


Figura 4-5. Representación esquemática de los cambios de conformación de soluciones de goma xántica con cambios de temperatura.

Este polisacárido ha sido usado en una amplia variedad de alimentos por numerosas e importantes razones, incluyendo estabilización de emulsiones, estabilidad térmica, compatibilidad con ingredientes alimentarios y sus propiedades reológicas (Katzbauer, 1998). Por lo que es la goma industrial comercialmente más producida (Caprioli y col., 2011; Fernández y col., 1997).

En cuanto a sus aplicaciones en la industria láctea, Zhao y col. (2009) encontraron una correlación positiva entre el nivel de goma xántica y la firmeza, cohesividad, o viscosidad de crema batida. Krystijan y col. (2012) estudiaron las propiedades sensoriales, reológicas y texturales de salsas de caramelo con diferentes combinaciones de almidón de papa y goma xántica. Observaron que su textura fue mejorada con el incremento en la concentración de goma, aun en las salsas almacenadas, y en la encuesta a consumidores, las salsas espesadas con 0.3% de almidón de papa y 0.02% de goma xántica recibieron el mayor puntaje.

4.1.4 Interacciones proteínas de leche-polisacáridos

En general las moléculas de polisacáridos tienen un mayor efecto que las proteínas globulares en el incremento de la viscosidad de las soluciones, ya que sus moléculas son usualmente más grandes y más extendidas ($\sim 5.0 \times 10^5$ a 2.0×10^6 Da) que las proteínas globulares ($\sim 1.0 \times 10^4$ a 1.0×10^5 Da). Por lo tanto, las moléculas de polisacáridos ocupan un mayor volumen hidrodinámico, que dan lugar a una mayor viscosidad de la solución.

Lo anterior supone la ausencia de interacciones intermoleculares o son insignificantes (por ejemplo en una solución diluida). Cuando las interacciones intermoleculares entre las

moléculas de polímero vecinos (es decir, polisacárido-polisacárido o interacciones proteína-proteína) están presentes, se puede esperar que las propiedades reológicas de los sistemas cambien significativamente.

Los cambios en las propiedades reológicas pueden surgir como resultado diversos fenómenos en el sistema, siendo el efecto global la formación de diferentes microestructuras. Los datos reológicos brindan información de la viscosidad y propiedades viscoelásticas de los sistemas mezcla. La comprensión de las interacciones a nivel molecular y coloidal proporcionan una base sólida para explotar la funcionalidad física de tales sistemas complejos en diferentes aplicaciones (por ejemplo aportando características sensoriales específicas, estabilidad de emulsiones, etc.) (Goh y col., 2009).

Tradicionalmente, los polisacáridos se han incorporado en productos lácteos para mejorar numerosas propiedades y proporcionar estabilidad, por lo que la comprensión de su comportamiento en matrices lácteas durante el procesamiento y almacenamiento permite predecir su comportamiento como ingrediente funcional para obtener una calidad óptima en términos de textura, estructura, sensación en la boca, vida útil y desempeño en la digestión (Corredig y col., 2011).

Hay tres razones para el uso de hidrocoloides en productos lácteos: mejoran su textura, dan cuerpo a formulaciones líquidas y producen geles lácteos. Este es el caso de, por ejemplo, leches saborizadas, yogurt bebible, flanes, natillas y budines. Asimismo, en helados, la retención de agua por parte de los hidrocoloides ayuda a prevenir el crecimiento de los cristales causado por la variación de temperatura durante su almacenamiento y también proporciona una fusión lenta. Por otro lado, los hidrocoloides incrementan la vida útil de productos lácteos que sufren desuerado, sedimentación de partículas dispersas, cremado o floculación de gotas de la emulsión. Un ejemplo de esto son las bebidas de fruta y leche, leche chocolatada, crema, leche evaporada y fórmulas infantiles (Syrbe y col., 1998).

Goh y col., (2009) investigaron la interacción entre la goma xántica (0-1% p/p, con propiedades conocidas de geles débiles) y diferentes tipos de proteínas de leche: caseinato de sodio (Na-CN), leche desnatada en polvo (LDP), aislado de proteína de suero (WPI) y concentrado de proteína de leche (CPL) al 5% p/p en solución acuosa a pH neutro, observando que las microestructuras de las mezclas eran diferentes dependiendo de la concentración de goma xántica y tipo de proteínas. En mezclas de goma xántica con LDP o CPL encontraron floculación por exclusión (depleción) de las micelas de caseína. El tamaño de los agregados proteicos disminuyó con el aumento de la concentración de goma xántica (la microestructura se asemejaba a una red de partículas). En mezclas de goma xántica con Na-CN o WPI no se encontró separación de fases dentro de la escala de tiempo analizada,

atribuyéndolo al mayor tamaño de las micelas de caseína (diámetro medio 0.2 μm) respecto a la escala nanométrica de WPI y Na-CN (0.05 μm) (Lucey y col., 2000; Valls y col., 1999). Sin embargo, el comportamiento reológico de las mezclas era muy similar al comportamiento reológico de la goma xántica. Las diferencias en las microestructuras de las mezclas que se observaron por microscopio de barrido confocal láser no fueron detectadas por medidas de viscosidad, probablemente porque las proteínas débilmente floculadas fueron fácilmente redispersadas por acción de cizallamiento del viscosímetro durante la medida.

4.2 Objetivos específicos

El diseño y desarrollo de un dulce de leche magro, a partir de leche libre de lípidos, hace necesario la inclusión de algún sustituto en su formulación para obtener un buen rendimiento, y en función de dicho agregado, variarán las características obtenidas. Por ello, en el presente Capítulo se propuso:

- Desarrollar productos lácteos azucarados (tipo dulce de leche) libres de materia grasa adicionados con diferentes niveles de goma xántica y distintos contenidos de humedad final, a fin de tener un amplia gama de características y composición.
- Estudiar las propiedades fisicoquímicas y reológicas de estos DL 0% lípidos, con similar metodología que la empleada para los DL comerciales (Capítulo 3), y vincularlas con la composición del producto.
- Encontrar ecuaciones predictivas que vinculen el comportamiento reológico del producto con su formulación a fin de poder diseñar el producto según finalidad deseada.

4.3 Materiales y Métodos

4.3.1 Materias primas utilizadas

Para la elaboración de las diferentes formulaciones de dulce se utilizó leche fluida esterilizada mediante ultra-alta temperatura (UAT) totalmente descremada (0% de contenido graso) (SanCor, Cooperativas Unidas Ltda., Argentina), sacarosa (Ledesma SAAI, Argentina), glucosa anhidra (Parafarm, Droguería Saporiti, Argentina), goma xántica (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), bicarbonato de sodio (Anedra, Argentina), sorbato de potasio (Anedra, Argentina).

La proporción de los ingredientes para la elaboración del dulce de leche (Patrick y Mc Sweeney, 2009) se muestran en la Tabla 4-1.

Las cantidades incorporadas de goma xántica y sorbato de potasio en la formulación contemplan los máximos permitidos (5000 mg goma xántica/kg producto y 600 mg ácido

sórbico/kg producto final) (MERCOSUR/GMC/RES. N°137/96 – CAA, 2014), teniendo en cuenta un rendimiento aproximado del 38%.

Tabla 4-1. Proporción de ingredientes para la elaboración de dulce de leche 0% lípidos.

Ingrediente	Proporción
Leche	1 L
Azúcar	172.7 g
Glucosa	28.98 g
Sorbato de potasio	280 mg
Goma xántica	1 a 3 g

Caracterización de la leche utilizada

Las partidas de leche totalmente descremada destinadas a la elaboración de los productos fueron previamente analizadas y caracterizadas mediante las siguientes determinaciones:

Densidad

Fue determinada por duplicado con lactodensímetro (AOAC 16021, 1984).

Cenizas totales (método 24.009, AOAC, 1984)

Se determinaron las cenizas pesando aproximadamente 5g de muestra en cápsulas de porcelana, carbonizando sobre mechero y calcinando en mufla a 550 °C hasta cenizas blanco-grisáceas. El contenido de cenizas se expresó como g de cenizas/100 g de producto.

Contenido de lípidos

La grasa butirométrica se determinó por duplicado mediante el método de Gerber utilizando SO₄H₂ Gerber (densidad 1.813-1.817 a 20 °C, aprox. 90%) y butirómetro para leche donde la lectura del menisco da directamente el porcentaje de grasa de la leche.

Extracto seco total y no graso

El extracto seco total (%) de la leche se determinó secando 5 g de leche en estufa a 102 ± 2 °C; hasta peso constante. El extracto seco no graso (%) se calculó por diferencia entre el total y el contenido graso.

Contenido de proteína

Se determinó según lo descripto en 3.3.2.

Acidez titulable o Dornic y neutralización

A fines de estandarizar la acidez de la leche empleada en 13 °D, acidez adecuada para favorecer el desarrollo del color característico en el producto terminado (Zamboni y Zalazar, 1994), se determinó la acidez titulable con NaOH Dornic (0.11 N) y fenolftaleína (1% en etanol-agua 60-40). Los resultados se expresaron en grados Dornic (AOAC 16023, 1984) teniendo en cuenta la relación: 1°Dornic = 0.1 ml NaOH Dornic = 1 mg ácido láctico/10 ml leche.

Cuando la acidez obtenida en la leche no se correspondía con 13 °D, se agregó la cantidad necesaria de bicarbonato de sodio hasta alcanzar dicho valor.

4.3.2 Elaboración de dulces 0% lípidos

Para la obtención de dulce de leche a escala laboratorio se utilizó un recipiente de acero inoxidable (4L de capacidad) con agitación manual constante, sobre platina calefactora (regulada a una temperatura de trabajo entre 142 y 184 °C). Se registró la temperatura del producto mediante una termocupla tipo T (cobre-constantan) sumergida en la mezcla a 0.5 cm del fondo de la olla y conectada a un tester (Palm Size Digital Multimeter, UNI-T, modelo UT30, China). Se utilizaron esferas de vidrio cubriendo la totalidad de la superficie del fondo de la olla. De esta manera, durante el tratamiento térmico el movimiento de las esferas evitó que el dulce se adhiriera al fondo del recipiente.

La sacarosa y glucosa fueron disueltas en la leche, agregándose luego el sorbato de potasio.

Para la incorporación de goma xántica en la formulación, se prepararon soluciones del hidrocoloide agregándolo progresivamente, para favorecer su disolución, en un volumen de leche (200 ó 300 ml dependiendo de la cantidad de aditivo a disolver) con agitación magnética a 50-60 °C durante aproximadamente 3 horas. La mezcla obtenida de leche y goma xántica se agregó al resto de los ingredientes mencionados para la elaboración del dulce y se comenzó con el calentamiento y agitación. El proceso duró alrededor de 3 horas, dependiendo de la temperatura y humedad ambiente.

Para la determinación del punto final se emplearon pruebas empíricas a modo de orientación y ya en las cercanías del punto final se controló con refractómetro (ver apartado 3.3.2). Una vez que el dulce llegó al punto final deseado, inmediatamente se lo trasvasó a un recipiente colocado en un baño de agua-hielo y se dejó enfriar sin agitación. Posteriormente, se envasó en frascos de vidrio y almacenado a 20 °C hasta su análisis (48 h).

Asimismo, y para evaluar la factibilidad de elaboración del producto sin agregados de hidrocoloides, se realizó el mismo procedimiento de elaboración sin agregado de goma xántica.

4.3.3 Diseño experimental

Se elaboraron 13 formulaciones de dulce de leche 0% lípidos mediante el procedimiento descrito en 4.3.2, conteniendo cada una de ellas diferente proporción de goma xántica (entre 1 y 3 g/L leche, Tabla 4-2) y de humedad en el producto final. Las diferentes proporciones de agua e hidrocoloide en las muestras fueron logradas por agregado de diferentes cantidades de goma xántica a la mezcla antes de la elaboración y variando el grado de concentración.

El producto elaborado sin goma xántica fue considerado control.

4.3.4 Evaluación de la relación °Brix-humedad

Se evaluó la relación entre el contenido de sólidos solubles determinados por refractometría (°Brix) y el contenido de agua del producto (método por secado en estufa) sobre distintas muestras de dulce de leche, a fin de analizar si es posible obtener una estima del contenido acuoso mediante un procedimiento rápido y simple como es la medición con refractómetro de °Brix y estandarizar la determinación del punto final de elaboración.

Además de los dulces 0% lípidos con goma xántica obtenidos en la forma antes descrita, se elaboró un producto sin agregado de goma xántica (idem al control), según 4.3.2, concentrado hasta 65 °Brix, fraccionado y enfriado. A cada fracción de 30 g se adicionaron entre 0 y 12 g de agua, a fin de obtener una variedad de dulces sin agregado de xántica con diferentes niveles de humedad.

Sobre cada uno de los productos se determinaron:

- Sólidos solubles (°Brix), según 3.3.2
- Humedad, según 3.3.2

A partir de estos resultados se buscó una correlación entre °Brix y contenido acuoso correspondiente a cada grupo de productos (con y sin agregado de goma xántica).

4.3.5 Caracterización de los productos obtenidos

Sobre los dulces 0% con diferentes niveles de goma xántica obtenidos se determinaron:

Rendimiento porcentual

Se calculó el rendimiento porcentual del dulce elaborado según:

$$\text{Rendimiento}(\%) = 100 \left(\frac{\text{g de DL}}{\text{g masa inicial}} \right) \quad \text{Ec.4-1}$$

Análisis fisicoquímico

Contenido de humedad: Se determinó según método descrito en 3.3.2

Actividad acuosa: Según 3.3.2

Contenido de sólidos solubles: Según 3.3.2

Caracterización reológica

Se determinaron por duplicado las curvas de flujo en estado estacionario de cada formulación según lo descrito en 3.3.3.

Modelado matemático

Se evaluó el ajuste de los modelos citados en 1.3.2 (Modelo de Casson, Ley de la Potencia y Herschel-Bulkley) a los datos experimentales obtenidos de las curvas de flujo para las diferentes formulaciones con diferentes contenidos de goma xántica mediante el software OriginPro 7.0.

Se utilizaron gráficos de residuos, donde los residuos (ε) representan la diferencia entre el dato experimental del esfuerzo (σ) y el valor estimado por el modelo matemático, para establecer cuál era el modelo más adecuado, ya que los coeficientes de correlación eran todos altamente significativos:

$$\varepsilon = \sigma_{\text{exp}} - \sigma_{\text{predicha}} \quad \text{Ec. 4-2}$$

Luego de seleccionar el modelo más adecuado, los parámetros obtenidos se modelaron en función de la composición incluyendo los términos inversos (Scheffe, 1958) utilizando el procedimiento "stepwise" (paso a paso) para eliminar los términos no significativos ($P > 0.05$):

$$y = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_3 / x_1 + a_4 / x_2 + a_{11} x_1^2 + a_{22} x_2^2 + a_{12} x_1 x_2 \quad \text{Ec. 4-3}$$

donde x_1 y x_2 corresponden al contenido de goma xántica y humedad, respectivamente.

La Ec. 4-3 fue también utilizada para describir los cambios en la viscosidad aparente en estado estacionario evaluada a 7.2 s^{-1} como función del contenido de agua y goma xántica.

Verificación del modelo elegido

Con el fin de verificar la capacidad de predicción del modelo elegido, se propuso como objetivo una curva de flujo correspondiente a un DL comercial estudiado previamente (Capítulo 3) para desarrollar un DL 0% lípidos con similares características de flujo. Una vez conocidos sus parámetros se los eligió como objetivo, utilizando el software MatLab R2012a (7.14.0.739) para predecir la formulación de DL 0% lípidos que podría presentar características de flujo similares al DL comercial elegido como objetivo a partir de la ecuación predictiva del esfuerzo en función de los contenidos de humedad y goma xántica (ver apéndice). Se empleó un procedimiento iterativo el cual minimiza la suma de las diferencias al cuadrado entre el esfuerzo experimental y predicho por el modelo HB del DL comercial de acuerdo a la expresión:

$$\text{mínimo} = \sum (\sigma_{\text{exp}} - \sigma_{\text{predicha}})^2 \quad \text{Ec.4-4}$$

La predicción del esfuerzo (σ_{pred}) en función del contenido de humedad y goma xántica se realizó considerando la funcionalidad de σ_0 , K y n con dichas concentraciones, es decir:

$$\sigma_{\text{pred}} = f(x_1, x_2) \quad \text{Ec. 4-5}$$

Posteriormente se elaboró un producto con la composición predicha para obtener la curva de flujo experimental correspondiente y ser comparada con la curva teórica obtenida a partir del modelo elegido.

4.3.6 Análisis estadístico

Para el análisis de los datos experimentales se realizaron análisis de varianza monofactoriales utilizando los procedimientos ANOVA del software SYSTAT (SYSTAT Inc., Evenston, IL, USA). Se eligió para comparaciones pareadas el test de “mínimas diferencias significativas” (test de LSD). Se consideraron diferencias estadísticamente significativas en las medias para valores de $P < 0.05$. También se utilizó el módulo Nonlin de SYSTAT para llevar a cabo las regresiones no lineales requeridas. El error estándar de la media se denota con la abreviatura SEM.

4.4 Resultados y Discusión

4.4.1 Obtención de los productos 0% lípidos

Materia prima

En la Tabla 4-2 se presentan los resultados obtenidos en la caracterización de la leche utilizada en la elaboración de los dulces. El contenido de lactosa fue calculado por diferencia entre el extracto seco total y el resto de los constituyentes (proteínas y cenizas). La densidad medida fue de 1.037g/ml.

Tabla 4-2. Composición porcentual media de la leche utilizada para la elaboración de los dulces*.

Extracto seco total (%)	Grasa (%)	Extracto seco no graso (%)	Proteínas (%)	Cenizas (%)	Lactosa (%)
9.473(0.002)	N.D**	9.473	2.72(0.01)	0.727(0.002)	6.026

*el error estándar es mostrado entre paréntesis. **N.D.: no detectado

El contenido graso de la leche utilizada como materia prima no fue detectado por el método analítico empleado, coincidiendo con lo esperado, por tratarse de leche totalmente descremada. Los resultados obtenidos para el extracto seco total, proteínas y cenizas se correspondieron a los rangos normalmente encontrados, y el valor de extracto seco no graso resultó superior al mínimo de 8.4 %m/m, establecido en el Art 560 bis del CAA para leche descremada UAT (CAA, 2015).

Estudios preliminares

La elaboración del producto sin agregado de goma xántica permitió obtener un dulce 0% lípidos, de buenas características de color y sabor, pero al compararlo con los comerciales de bajas calorías o light analizados en el Capítulo 3, se observó que para lograr una consistencia equivalente era necesario concentrar más el dulce, lo que se traduce en un mayor número de °Brix y en un aporte energético elevado (ver más adelante en Figura 4-9). Esto fue evitado al incorporar goma xántica en la formulación para aumentar la viscosidad del producto sin disminuir su rendimiento.

Correlación entre el contenido de sólidos (°Brix) y agua

A fin de relacionar los °Brix en el producto final con el contenido acuoso alcanzado en el dulce obtenido, se compararon los resultados obtenidos de ambas determinaciones.

En la Figura 4-6 se presentan los resultados obtenidos para los sólidos determinados mediante refractometría ($^{\circ}$ Brix) y el contenido de humedad por secado en estufa para las muestras de DL elaboradas sin goma xántica y llevadas a diferente porcentaje de humedad por agregado de agua, así como la ecuación de la recta de regresión obtenida y su R^2 , observándose una adecuada relación entre ambas variables en estas muestras.

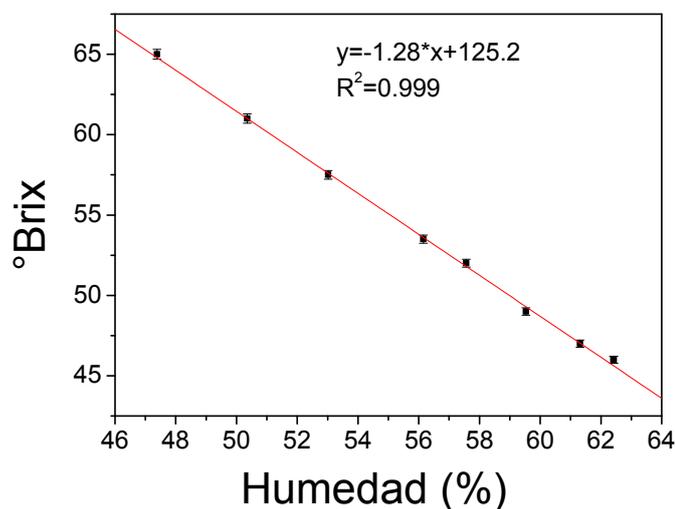


Figura 4-6. Relación entre contenido de sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) y humedad (%) para muestras de dulce de leche 0% lípidos sin agregado de goma xántica.

Asimismo, los resultados de ambas medidas correspondientes a las formulaciones de la Tabla 4-3, muestras de DL elaboradas con goma xántica y distintos contenidos de humedad, se presentan en la Figura 4-7, así como la regresión predictiva que las vincula. Dicha regresión fue calculada con 12 de los 13 dulces, ya que el producto A presentó una lectura de $^{\circ}$ Brix fuera del límite de medida del refractómetro utilizado (>78 $^{\circ}$ Brix).

Tabla 4-3. Contenido de humedad, goma xántica, °Brix, a_w , y rendimiento porcentual de los diferentes dulces 0% lípidos obtenidos*.

Producto	Humedad (%)	Goma xántica (%)	°Brix	a_w	Rendimiento (%)
Control	43.8 ^f (0.14)	0 ⁿ	58	0.900 ^f (0.002)	43.1 ^f (0.11)
A	23.7 ⁱ (0.20)	0.253 ^j	>78	0.722 ^l (0.000)	31.8 ⁱ (0.08)
B	33.4 ^h (0.11)	0.221 ^k	67	0.834 ^h (0.002)	36.4 ^h (0.06)
C	40.9 ^g (0.08)	0.392 ^e	62	0.869 ^g (0.000)	41.2 ^g (0.05)
D	43.5 ^f (0.01)	0.188 ^l	56.5	0.899 ^f (0.001)	43.0 ^f (0.01)
E	43.9 ^f (0.25)	0.555 ^a	57.25	0.900 ^f (0.001)	43.5 ^f (0.19)
F	47.4 ^e (0.22)	0.349 ^f	56	0.901 ^f (0.002)	46.2 ^e (0.20)
G	48.1 ^e (0.56)	0.173 ^m	52	0.919 ^e (0.000)	46.7 ^e (0.60)
H	50.0 ^d (0.18)	0.495 ^b	51	0.924 ^d (0.002)	48.8 ^d (0.17)
I	52.5 ^c (0.14)	0.314 ^g	52.5	0.920 ^e (0.000)	51.3 ^c (0.15)
J	53.6 ^c (0.29)	0.460 ^c	48	0.936 ^b (0.002)	52.5 ^c (0.32)
K	56.4 ^b (0.43)	0.289 ^h	50	0.931 ^c (0.000)	55.8 ^b (0.56)
L	56.8 ^b (0.06)	0.428 ^d	45.5	0.942 ^a (0.001)	56.4 ^b (0.07)
M	60.3 ^a (0.90)	0.263 ⁱ	46.5	0.942 ^a (0.001)	61.3 ^a (1.40)

*Supraíndices iguales en la misma columna indican que no hay diferencia significativa entre las medias ($P > 0.05$). SEM es mostrado entre paréntesis.

El contenido de goma xántica (%) resultante en estos productos varió entre 0.173 y 0.555 %, la humedad (%) entre 23.7 y 60.2 % y los sólidos solubles entre 45.5 y >78 °Brix. Es importante destacar que los valores más bajos de humedad derivaron en escasos rendimientos, mientras que los valores más elevados dieron como resultado muestras muy fluidas, con elevada actividad acuosa, lo que implicaría además de una consistencia no adecuada, una menor vida útil. Estos amplios rangos alcanzados permitieron evaluar las características obtenidas de este tipo de productos en valores extremos que normalmente no se utilizan, pero permiten un análisis más completo del sistema.

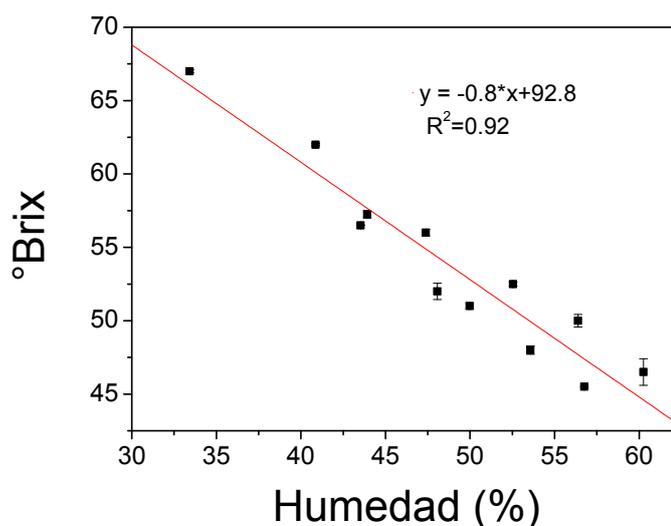


Figura 4-7. Relación entre contenido de sólidos solubles (°Brix) y humedad (%) para muestras de dulce de leche 0% lípidos con agregado de diferentes cantidades de goma xántica.

Estadísticamente las rectas que relacionan ambas variables en productos con y sin xántica presentan diferencias significativas ($P = 7.1 \times 10^{-8}$). Esto refleja que, para un mismo contenido de humedad, el refractómetro marcará diferente valor de °Brix en productos con y sin hidrocoloide. Por ejemplo, un contenido de un 50% de humedad por secado en estufa resultará en 61 °Brix para un dulce sin xántica, y 53 °Brix para productos con adición de la misma.

Estos resultados indicaron que, para un dado valor de °Brix (y utilizado como punto final), no conduciría a la obtención de productos de igual contenido acuoso si se incluye o no goma xántica en su formulación. Es decir que, la determinación de contenido de sólidos por refractometría sería, en este trabajo, donde se quiere caracterizar las propiedades reológicas de los dulces con diferentes formulaciones, solo una herramienta que indica las proximidades del punto final, pero el momento exacto en el cual debe interrumpirse el calentamiento queda establecido por pruebas empíricas y la experiencia del operario.

4.4.2 Caracterización de los productos 0% lípidos

En la Tabla 4-3 se presentan los contenidos acuosos y de goma xántica de los productos elaborados (formulaciones A-M), así como los resultados obtenidos para rendimiento, actividad acuosa (a_w), y °Brix de los dulces 0% lípidos; además se incluyen los valores correspondientes al producto elaborado sin agregado de hidrocoloide (control).

Asimismo, los resultados obtenidos para la actividad acuosa presentaron valores en el rango 0.722-0.942, también algo más amplio respecto a los obtenidos en productos comerciales (Capítulo 3, a_w entre 0.764 y 0.881). La Figura 4-8 muestra la relación entre la humedad en base seca y la actividad acuosa de los productos 0% lípidos obtenidos (A-M).

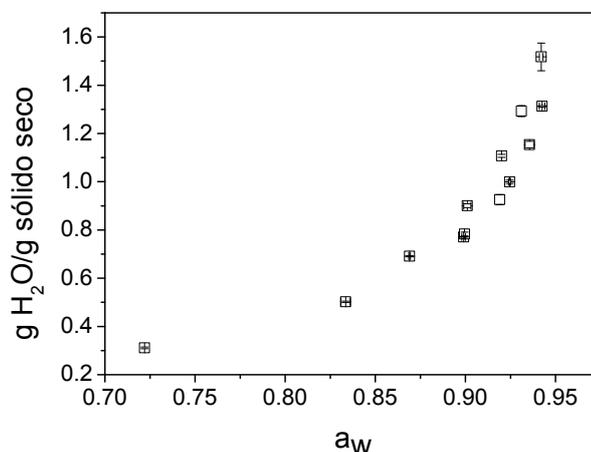


Figura 4-8. Relación entre humedad en base seca y a_w de los dulces 0% lípidos.

Caracterización reológica

Todas las curvas de flujo de los productos 0% lípidos con goma xántica obtenidos presentaron un comportamiento pseudoplástico.

En la Figura 4-9 se presentan, a modo de ejemplo, las curvas de flujo correspondientes a las formulaciones que presentaron la mayor (Formulación A) y menor (Formulación M) viscosidad en el rango de velocidades de deformación ensayado. También se presenta la curva correspondiente al dulce de leche 0% lípidos sin agregado de goma xántica (control), la del producto comercial tradicional típico (Capítulo 3, muestra M2: 7.9% grasa y 32.4% de humedad) y la de un producto comercial light (Capítulo 3, muestra M5: 1.3% grasa y 35.3% de humedad). Las viscosidades del resto de las formulaciones de dulce con goma xántica obtenidas se encuentran comprendidas entre las curvas de las formulaciones A y M mostradas, atribuido a los distintos contenidos acuosos y de goma xántica que presentaron los 13 dulces. A modo de ejemplo, la curva de flujo correspondiente a la formulación E también fue incluida en la Figura 4-9 por su contenido acuoso similar al control.

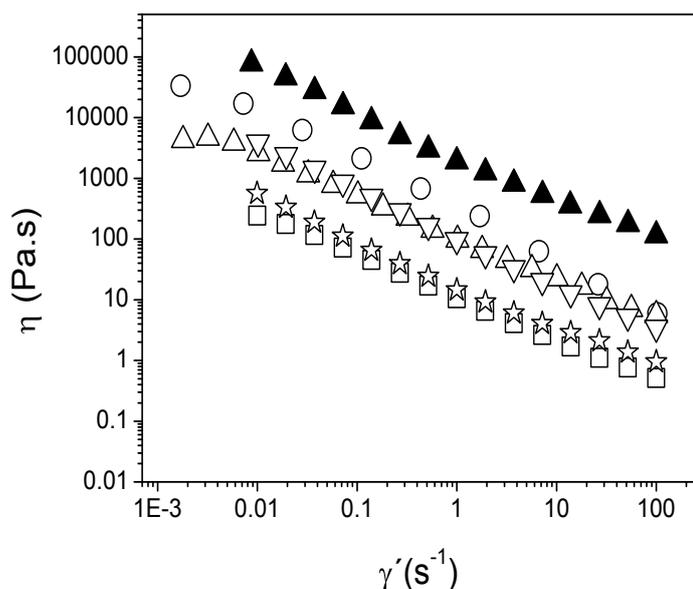


Figura 4-9. Curvas de flujo correspondientes a formulaciones de dulce 0% lípidos con goma xántica: A (\blacktriangle), M (\square), E (∇), a DL comercial tradicional M2 (O), a DL comercial light M5 (Δ), y a una formulación 0% lípidos sin goma xántica (control, \star).

Como puede observarse en la Figura 4-9, la clara diferencia en viscosidades aparentes en estado estacionario entre las muestras A a M se asoció a las diferencias en sus contenidos acuoso y de goma xántica, siendo la formulación A el producto más concentrado. Asimismo, dicha formulación presentó valores de viscosidad superiores al producto tradicional M2. El hecho de que las formulaciones de dulces resultaran con estas características demostró que es posible obtener DL 0% lípidos similares a alguno de los diferentes dulces comerciales mediante la adecuada combinación de goma xántica y humedad en el mismo. La viscosidad del dulce 0% lípidos control (43.8% de humedad, sin agregado de goma xántica) estuvo por debajo de curvas correspondientes a productos de similar contenido acuoso pero con agregado de goma xántica (formulación E), lo cual pone de manifiesto el efecto del hidrocoloide en el aumento de la viscosidad y su importante rol en el comportamiento reológico del sistema y, por lo tanto, en la textura de dulce del producto.

Bryant y McClements (2000) mostraron que las proteínas de suero de leche tienen implicaciones importantes en su aplicación como ingredientes por la utilización de las interacciones beneficiosas entre dichas proteínas y la goma xántica, ya que es posible formular alimentos que exhiben una amplia variedad de características de textura y apariencia. Una pequeña cantidad de goma xántica como 0.1% añadida a una solución de WPI desnaturizada por calor puede causar un aumento apreciable de opacidad, velocidad de gelificación y rigidez final. El mecanismo fisicoquímico propuesto responsable de este efecto es la incompatibilidad termodinámica entre goma xántica y WPI desnaturizada por

calor, que conduce a la separación de fases y la formación de una emulsión agua en agua. En ausencia de sal, la separación de fases conduce eventualmente a la formación de un sistema de dos capas que puede ser perjudicial para la calidad del producto, en presencia de sal, la separación de fases conduce a la formación de regiones ricas en xántica incrustadas en un gel de proteínas de suero y así se evita la formación de un sistema de dos capas.

Las viscosidades aparentes en estado estacionario de los productos comerciales (tradicional y light) analizadas en el Capítulo 3 y comparadas con los dulces 0% lípidos obtenidos, estuvieron comprendidas dentro de la zona estudiada para todo el rango de velocidades de deformación considerado. Este resultado coincidió con lo esperado según la diversidad de formulaciones incluidas (A-M) debido a que estos estudios apuntan a abarcar la mayor parte de los comportamientos de distintos tipos de dulces de leche disponibles en el mercado (tradicional, light, etc.).

Modelado matemático (Casson, Ley de la Potencia y Herschel-Bulkley).

Los tres modelos ensayados han sido previamente usados para modelar curvas de flujo de dulce de leche por otros autores como se discutió en el Capítulo 3. Al aplicar dichos modelos a las formulaciones 0% lípidos con goma xántica obtenidas (A - M), en todos los casos se obtuvieron valores de $P < 0.05$. Por ello y para discernir cuál de ellos era realmente el más adecuado, se analizaron los gráficos de residuos ε (diferencia entre esfuerzos experimentales y esfuerzos predichos a distintas velocidades de deformación) para los tres modelos (Casson, Ley de la Potencia y Herschel-Bulkley), encontrándose importantes diferencias. En la Figura 4-10 se presentan los ajustes de los modelos a los datos obtenidos para la formulación C, así como los gráficos de residuos asociados, a modo de ejemplo.

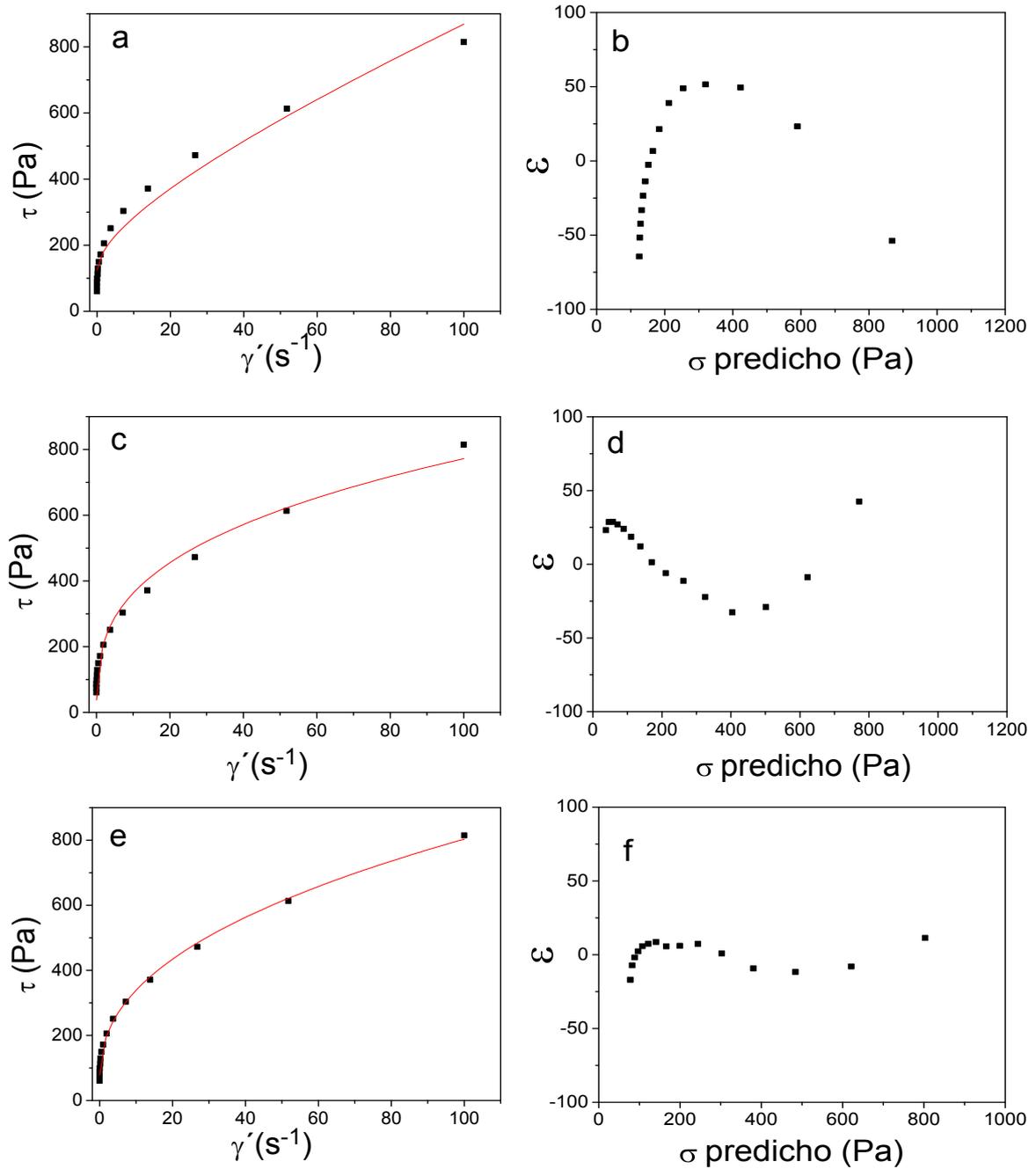


Figura 4-10. Curva de flujo experimental correspondiente a la formulación C de dulce de leche 0% lípidos con goma xántica y ajuste de los modelos de Casson (a), Ley de la Potencia (c), y Herschel-Bulkley (e) a los datos experimentales, y sus correspondientes gráficos de residuos (b, d y f).

De los tres modelos ajustados a los datos experimentales, el modelo de Herschel-Bulkley (HB) presentó una mejor distribución de errores para todos los dulces analizados (A-M), ya que los mismos resultaron en forma de banda, mientras que los modelos de Casson y Ley de la Potencia mostraron tendencias evidentes. Asimismo, los errores porcentuales

promedio fueron 12.0% para la Ley de la Potencia, 7.4% para el modelo de Casson y 1.1% para el modelo de Herschel-Bulkley, lo que demostró el mejor ajuste de este último a los datos experimentales respecto a los otros dos modelos. En la Tabla 4-4 se presentan los parámetros obtenidos del modelo de HB para las distintas formulaciones estudiadas y el R² correspondiente para cada una.

Tabla 4-4. Parámetros del modelo de Herschel-Bulkley para formulaciones de dulce 0% lípidos con distinto contenido de goma xántica y humedad*.

Formulación	σ_0 (Pa)	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
A	647(8) ^a	1157(155) ^a	0.47(0.01) ^a	0.998
B	201(14) ^b	246(12) ^b	0.34(0.01) ^e	0.990
C	65(1) ^c	111(9) ^{bc}	0.43(0.01) ^b	0.999
D	40.6(0.4) ^d	52(1) ^c	0.38(0.01) ^{cd}	0.996
E	22.10(0.06) ^e	63(4) ^c	0.33(0.01) ^{ef}	0.997
F	21.8(0.5) ^e	52(6) ^c	0.41(0.01) ^{bc}	0.998
G	14.6(0.3) ^{ef}	28.3(0.4) ^c	0.39(0.01) ^{cd}	0.996
H	10.6(0.2) ^{ef}	28.8(0.3) ^c	0.34(0.01) ^e	0.998
I	8.8(0.9) ^{ef}	29.6(0.3) ^c	0.38(0.01) ^d	0.999
J	7.0(0.7) ^f	21(2) ^c	0.33(0.01) ^{ef}	0.999
K	4.1(0.2) ^f	16(2) ^c	0.38(0.01) ^d	0.998
L	3.8(0.5) ^f	13.9(0.6) ^c	0.31(0.01) ^f	0.999
M	2.48(0.01) ^f	7.3(0.1) ^c	0.41(0.01) ^{bcd}	0.998

*Supraíndices iguales en cada columna indican que no hay diferencia significativa entre los parámetros (P>0.05). Entre paréntesis se presentan el error estándar de los parámetros.

Los parámetros de HB obtenidos para las formulaciones de DL 0% lípidos estudiadas se modelaron en función de su contenido de goma xántica y de humedad mediante el modelo de Scheffé incluyendo los términos inversos; las ecuaciones y coeficientes de correlación obtenidos se presentan a continuación:

$$\sigma_0 = -2.8 \cdot 10^3 + 43.7 \cdot x_2 + 6.1 \cdot 10^4 / x_2 - 2.9 \cdot 10^2 \cdot x_1^2 - 0.23 \cdot x_2^2 + 3.9 \cdot x_1 \cdot x_2 \quad (R=0.999, P < 10^{-3}) \text{ Ec. 4-6}$$

$$K = -1.0 \cdot 10^4 + 2.6 \cdot 10^3 \cdot x_1 + 188 \cdot x_2 + 45 / x_1 + 1.6 \cdot 10^5 / x_2 - 1.8 \cdot 10^3 \cdot x_1^2 - 1.2 \cdot x_2^2 - 17 \cdot x_1 \cdot x_2 \quad (R=0.990, P<10^{-3}) \text{ Ec. 4-7}$$

$$n = -3.3 + 6.5 \cdot x_1 + 0.05 \cdot x_2 + 0.10 / x_1 + 28.1 / x_2 - 4.6 \cdot x_1^2 - 3.1 \cdot 10^{-4} \cdot x_2^2 - 0.051 \cdot x_1 \cdot x_2 \quad (R=0.950, P<10^{-5}) \text{ Ec. 4-8}$$

donde x_1 y x_2 representan el porcentaje de goma xántica y humedad, respectivamente.

En las expresiones obtenidas se puede observar que el contenido acuoso tuvo una mayor influencia en la variación de los parámetros σ_0 y K respecto al contenido de goma xántica. En el caso del umbral de fluencia, se observó un continuo aumento del mismo con la disminución del contenido acuoso, mientras que para la variación de la consistencia, la humedad tuvo su mayor efecto entre 20 y 40% de humedad (Tabla 4-4), produciendo una variación de K más atenuada entre 40 y 60%.

Esto podría explicarse por un aumento en el número de interacciones entre las macromoléculas presentes en el producto, provocado por una mayor concentración de los componentes en la muestra.

Heimlich y col. (1994) empleando el modelo de HB encontraron valores de σ_0 de 13.41 y 9.25 Pa para dulces comerciales argentinos y chilenos, respectivamente, y entre 10.36 y 12.45 Pa para dulces elaborados con leche o con leche y proteína de suero lácteo. Asimismo, informaron valores medios de K entre 30.2 y 62.2 Pa.sⁿ en muestras comerciales, y entre 10.6 y 16.5 Pa.sⁿ para los dulces elaborados. Estos datos publicados por Heimlich y col. (1994) se encontraron dentro del rango de los parámetros expuestos en la Tabla 4-4.

El índice de comportamiento de flujo (n) fue, en todos los casos, menor que la unidad, indicando que todos los dulces resultaron fluidos pseudoplásticos, comportamiento característico de este tipo de producto (Rovedo y col., 1991). Valores de n menores a 1 también fueron encontrados por Doublier y Durand (2008) en muestras de dispersiones de almidón entrecruzado en leche entera, y por Penna y col. (2001) para muestras de bebidas lácteas con un porcentaje de sólidos cercano a 20. Hough y col. (1988) obtuvieron un índice de comportamiento de flujo casi constante, con un valor promedio de 0.748, excepto para un DL más concentrado y la temperatura más baja estudiada, demostrando también el comportamiento pseudoplástico de este tipo de productos. Asimismo informaron una disminución del umbral de fluencia y del índice de consistencia con el aumento de temperatura y de contenido de sólidos.

Predicción de la composición a partir de una curva de flujo objetivo y validación del procedimiento

A partir de las expresiones obtenidas para los parámetros del modelo de HB en función del contenido de humedad y xántica de los productos 0% lípidos (Ec. 4-6, 4-7 y 4-8) fue posible predecir la composición más adecuada para obtener dulce de leche 0% lípidos con las características de flujo deseadas de acuerdo a su posible aplicación.

En primer lugar se determinó la curva σ vs γ' experimental de un dulce de leche comercial de primera marca como objetivo (Producto M2 analizado en el Capítulo 3), el cual se tomó como referencia ya que es bien aceptado por el consumidor. Luego combinando las Ec. 4-6, 4-7 y 4-8 en la Ec. 1-11, y empleando un procedimiento iterativo, se predijo simultáneamente el contenido acuoso y de goma xántica que permitían simular curvas de flujo de manera de minimizar las diferencias entre los esfuerzos experimentales del DL comercial M2 y los predichos (ver Apéndice). Con este procedimiento se pudo encontrar que los contenidos de humedad y xántica necesarios para que el dulce cumpla las características buscadas serían de 35.4 y 0.18%, respectivamente. Para dichos contenidos, los valores teóricos de los parámetros del modelo de HB resultaron: $\sigma_0=153.5$ Pa, $K=173.3$ Pa.sⁿ y $n=0.34$.

Se elaboró entonces un dulce de leche 0% lípidos con dichos contenidos de humedad y goma xántica como objetivos. Experimentalmente se logró obtener un dulce 0% lípidos con 31.9% de humedad y 0.23% de goma xántica.

En la Figura 4-11 se muestra la buena concordancia entre la curva de flujo del DL comercial M2 elegido como objetivo y la del DL 0% elaborado según la composición predicha, con el fin de verificar la utilidad de las ecuaciones predictivas. Para una visualización más clara, los resultados son mostrados en términos de viscosidad aparente, la misma se obtiene dividiendo el esfuerzo por la velocidad de deformación, el modelo de HB en términos de viscosidad queda expresado según la siguiente expresión:

$$\eta = \frac{\sigma}{\gamma'} = \frac{\sigma_0}{\gamma'} + K \cdot \gamma'^{(n-1)} \quad \text{Ec. 4-9}$$

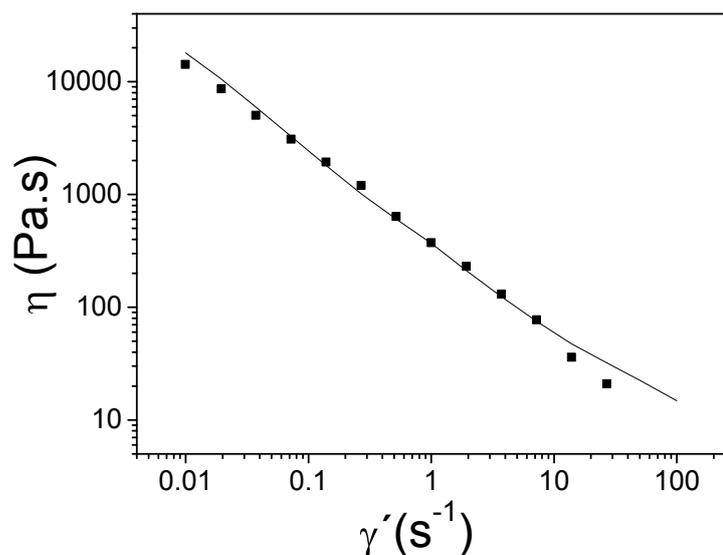


Figura 4-11. Curvas de flujo en estado estacionario para dulce de leche comercial M2 (■) y para un DL 0% lípidos elaborado con 31.9% de humedad y 0.23% de goma xántica (—).

El error porcentual absoluto entre los valores experimentales de viscosidad aparente y la curva predicha por los parámetros del modelo de Herschel-Bulkley fue del 12.1%, atribuible a la dificultad en elaborar un DL con las concentraciones predichas exactamente (por la imprecisión en el punto final en la elaboración). Por lo tanto, podemos concluir que las ecuaciones predictivas encontradas y el procedimiento descrito son adecuados para predecir la formulación necesaria para obtener un dulce de leche 0% lípidos con las características de flujo deseadas según su aplicación.

Predicción de la composición buscada a partir de viscosidad a una velocidad de deformación

Dado que el procedimiento descrito anteriormente implica la utilización de un software matemático sofisticado, también fue investigado un modo simplificado para predecir la viscosidad de este tipo de producto con un determinado comportamiento de flujo teniendo como objetivo el valor de la viscosidad aparente a una determinada velocidad de deformación. El valor de la viscosidad aparente en un punto se utiliza a veces como medida de la sensación en la boca de alimentos fluidos (Steffe, 1996), como fue analizado previamente en el Capítulo 3.

Dado que las medidas experimentales no correspondieron exactamente a $\gamma' = 10 \text{ s}^{-1}$, y a fin de obtener viscosidades aparentes determinadas lo más cercano a ese valor, se eligió trabajar con los datos experimentales determinados a 7.2 s^{-1} . En la Tabla 4-5 se muestran las viscosidades aparentes experimentales obtenidas.

Tabla 4-5. Viscosidad aparente en estado estacionario obtenida a $\dot{\gamma} = 7.2 \text{ s}^{-1}$ para las diferentes formulaciones de dulce de leche 0% lípidos elaboradas con agregado de goma xántica*.

Formulación	η a $\dot{\gamma} = 7.2 \text{ s}^{-1}$
A	485.25 (46.95)
B	90.06 (3.76)
C	45.16 (2.98)
D	20.48 (0.19)
E	20.02 (0.84)
F	19.11 (1.87)
G	10.43 (0.12)
H	9.28 (0.11)
I	10.08 (0.52)
J	6.02 (0.05)
K	5.24 (0.39)
L	4.01 (0.02)
M	2.59 (0.02)

*entre paréntesis se muestra el error estándar de las medias.

Pudo verse, coincidiendo con los parámetros de HB umbral de fluencia y consistencia, que la viscosidad evaluada a $\dot{\gamma} = 7.2 \text{ s}^{-1}$ disminuyó con el aumento de la humedad de los productos, es decir, con la disminución del contenido de sólidos.

El modelo de Scheffé también fue ajustado a los datos de viscosidad aparente a $\dot{\gamma} = 7.2 \text{ s}^{-1}$ experimentales (Akay, 2007), obteniéndose la superficie de respuesta correspondiente a su variación en función del porcentaje de goma xántica y humedad de los dulces (Figura 4-12), cuya expresión es la siguiente:

$$\ln \eta_{\dot{\gamma}=7.2 \text{ s}^{-1}} = -1.2 - 2.0 \cdot x_1 + 0.22 \cdot x_2 - \frac{0.51}{x_1} + \frac{159}{x_2} - 2.7 \cdot 10^{-3} x_2^2 - 0.07 \cdot x_1 x_2 \quad \text{Ec. 4-10}$$

donde η es la viscosidad aparente, x_1 es el contenido de goma xántica (%) y x_2 el porcentaje de humedad de las formulaciones analizadas ($R=0.998$).

En la Figura 4-12 puede observarse que la viscosidad aumentaba cuando la concentración de xántica en la formulación se incrementaba, y cuando el porcentaje de humedad

disminuía, observándose una mayor influencia del contenido de agua que del hidrocoloide, en los rangos de concentración analizados.

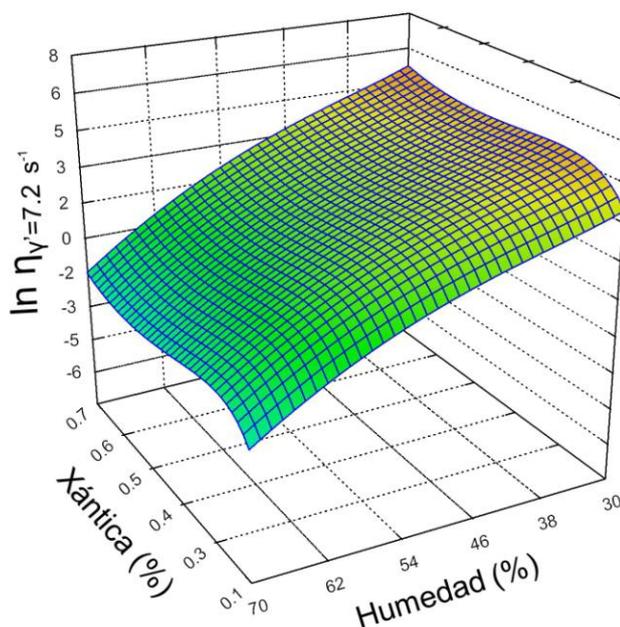


Figura 4-12. Superficie de respuesta obtenida para el $\ln \eta_{7.2 \text{ s}^{-1}}$ en función del contenido acuoso y de goma xántica en los productos estudiados.

En base a estos resultados se puede concluir que cuando no es posible conocer la curva de flujo de un producto, no se cuenta con el soporte informático adecuado, o el único interés es la viscosidad correspondiente a la sensación en la boca, la Ec. 4-10 podría ser utilizada para una estimación rápida de los contenidos más adecuados de sus componentes. En este caso, para el producto comercial elegido, la viscosidad aparente a $\gamma'=7.2 \text{ s}^{-1}$ fue 68 Pa.s; si consideramos un contenido acuoso de 32%, la Ec. 4-10 predice una concentración de goma xántica de 0.17%, cuyo valor es similar al estimado anteriormente.

La sencillez del procedimiento descrito nos permite graficar en la Figura 4-13 curvas de isoviscosidad a $\gamma'=7.2$ predichas por la Ec. 4-10 en función del contenido acuoso y de goma xántica. Dichas curvas podrían ser de suma utilidad cuando se persigue como objetivo una viscosidad aparente determinada.

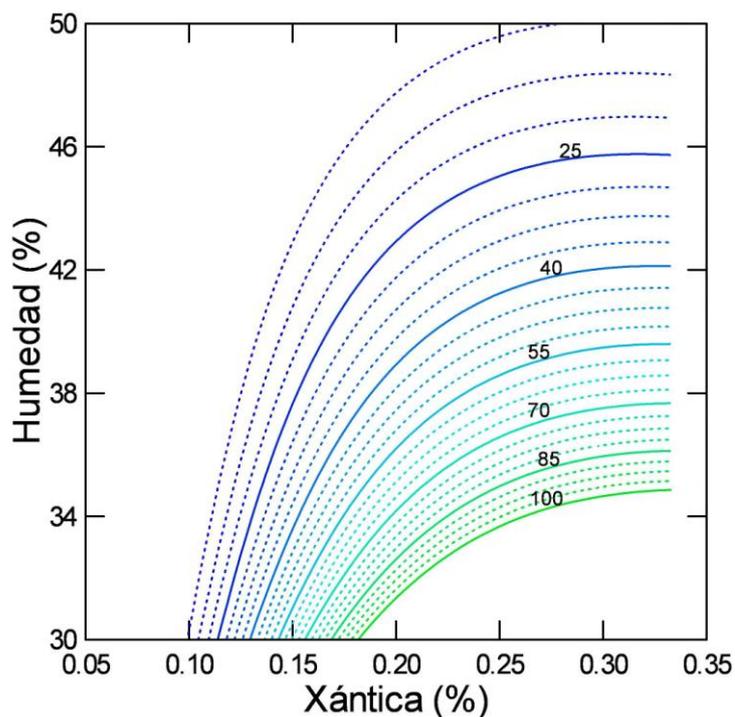


Figura 4-13. Curvas de isoviscosidad predichas por la Ec. 4-10, expresadas como viscosidad aparente a $\dot{\gamma}'=7.2 \text{ s}^{-1}$ para diferentes combinaciones de goma xántica (%) y humedad (%) en los dulces de leche.

Mediante este estudio, pudieron obtenerse dulces de leche 0% lípidos con un amplio rango de niveles de humedad y goma xántica, lo que permitió el estudio de un conjunto de formulaciones de características reológicas muy variado. Con la metodología propuesta fue posible seleccionar las relaciones entre diferentes parámetros reológicos y contenidos de humedad y goma xántica en los productos para obtener un producto libre de grasa con características similares a productos comerciales, aceptados por los consumidores.

4.5 Conclusiones parciales

✓ La correlación entre el contenido de sólidos por refractometría y la humedad varió significativamente entre dulces con y sin agregado de goma xántica, por lo que la determinación de contenido de sólidos por refractometría sería, en este trabajo, solo una herramienta que indica las proximidades del punto final, resultando un método no confiable para la decisión del momento exacto en el cual interrumpir el calentamiento.

✓ Las curvas de flujo en estado estacionario de las muestras de DL 0% lípidos presentaron un comportamiento pseudoplástico, con características intermedias entre una solución concentrada y un gel.

- ✓ El modelo de Herschel-Bulkey fue el más adecuado para predecir las curvas de flujo en estado estacionario de los dulces 0% lípidos elaborados con agregado de goma xántica.
- ✓ Los parámetros de HB umbral de fluencia (σ_0) y consistencia (K) se incrementaron con el mayor contenido de sólidos (menor humedad), atribuible a una mayor interacción entre macromoléculas, mientras que el parámetro n resultó inferior a la unidad en todos los casos.
- ✓ Se modelaron matemáticamente los parámetros del modelo de Herschel-Bulkley y la viscosidad aparente a $\dot{\gamma}=7.2 \text{ s}^{-1}$ en función del contenido de goma xántica y humedad de los productos de acuerdo al modelo de Scheffé incluyendo los términos inversos, encontrando correlaciones que permiten vincular el comportamiento de flujo con la composición de los dulces.
- ✓ Las correlaciones obtenidas se utilizaron para seleccionar la combinación correcta de humedad y goma xántica necesarias para elaborar un dulce de leche 0% lípidos con características reológicas similares a las muestras comerciales de primera marca, que son bien aceptadas por los consumidores. Dichos niveles correspondieron a 35.4% de agua y 0.18% de goma xántica; asimismo, se validó satisfactoriamente la curva de flujo predicha por el modelo.
- ✓ Mediante la determinación de la viscosidad aparente a $\dot{\gamma}=7.2 \text{ s}^{-1}$ de los diferentes dulces de leche 0% lípidos con diferentes niveles de humedad y goma xántica, y su ajuste según Scheffé, se calcularon curvas de isoviscosidad que también podrían emplearse para predecir los valores de composición que permitirían obtener un producto con la viscosidad aparente deseada.

Apéndice

La predicción del esfuerzo (σ_{pred}) en función de las concentraciones de humedad y goma xántica se realizó considerando la funcionalidad del σ_0 , K y n con dichas concentraciones:

$$\sigma = (-2857.674 + 43.686 * x_2 + 61460.545/x_2 - 290.271 * x_1^2 - 0.23 * x_2^2 + 3.947 * x_2 * x_1) + (-10217.875 + 2640.516 * x_1 + 188.657 * x_2 + 45.21/x_1 + 164754.402/x_2 - 1840.227 * x_1^2 - 1.194 * x_2^2 - 17.799 * x_2 * x_1) * \gamma^{(-3.300382 + 6.521059 * x_1 + 0.056716 * x_2 + 0.095914/x_1 + 28.095421/x_2 - 4.623491 * x_1^2 - 0.000315 * x_2^2 - 0.051441 * x_2 * x_1)}$$

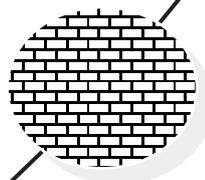
A continuación se muestran las sentencias utilizadas para el programa de cálculo del esfuerzo para el modelo de Herschel-Bulkley:

```
clear
x1min=23.7;
x1max=60;
x2min=.173;
x2max=.555;
p=100 ;
errmin=1e26;
xexp=[.009981 .01919 .03712 .07183 .139 .268 .518 .999 1.93 3.725 7.189 13.87 26.78 51.69 99.78];
jexp=[179.4 205.6 222 236.8 251.7 272 313.3 369.6 409.5 462.5 542.4 657.9 862.5 1142 1479];
for n=0:1:p
  for m=0:1:p
    x1=x1min+n*(x1max-x1min)/p;
    x2=x2min+m*(x2max-x2min)/p;
    y1=-2857.674+43.686*x1+61460.545/x1-290.271*x2^2-0.23*x1^2+3.947*x1*x2;
    y2=-10217.875+2640.516*x2+188.657*x1+45.21/x2+164754.402/x1-1840.227*x2^2-1.194*x1^2-
    17.799*x1*x2;
    y3=-3.300382+6.521059*x2+0.056716*x1+0.095914/x2+28.095421/x1-4.623491*x2^2-
    0.000315*x1^2-0.051441*x1*x2;
    for k=1:1:length(jexp);
      j(k)=y1+y2*xexp(k).^y3;
    end
    err=sum((j-jexp).^2);
    if (err<errmin)
      errmin=err;
      x1sol=x1;
      x2sol=x2;
    else
```

```
end
end
end
x=0:(fix(max(xexp))+1)/1000:(fix(max(xexp))+1);
y1=-2857.674+43.686*x1sol+61460.545/x1sol-290.271*x2sol^2-0.23*x1sol^2+3.947*x1sol*x2sol;
y2=-10217.875+2640.516*x2sol+188.657*x1sol+45.21/x2sol+164754.402/x1sol-1840.227*x2sol^2-
1.194*x1sol^2-17.799*x1sol*x2sol;
y3=-3.300382+6.521059*x2sol+0.056716*x1sol+0.095914/x2sol+28.095421/x1sol-4.623491*x2sol^2-
0.000315*x1sol^2-0.051441*x1sol*x2sol;
j=y1+y2.*x.^y3;
plot(x,j);
hold on
stem(xexp,jexp);grid
x1sol
x2sol
```

**Cambios durante el almacenamiento de dulce de leche 0%
lípidos**

Capítulo 5



5.1 Introducción

El problema que se presenta más a menudo en productos lácteos en general, y cuya solución tecnológica presenta muchas dificultades, es el referido a la cristalización de la lactosa durante el almacenamiento, siendo causa del deterioro de las características sensoriales, que los hace desagradables y rechazados por el consumidor debido a la textura arenosa percibida. Dicho inconveniente tiene origen en diferentes causas, como por ejemplo excesiva concentración de sólidos solubles, velocidad lenta de enfriamiento, almacenamientos prolongados (en particular a bajas temperaturas), o bien utilización de envases inadecuados.

5.1.1 Cristalización de lactosa

Según Jenness y Patton (1959), la lactosa existe en dos formas isoméricas en la leche que se designan como α - y β -lactosa. Estas formas de lactosa rotan su estructura cuando están en soluciones acuosas y buscan establecer un equilibrio en las cantidades presentes de cada una. A 20 °C y en equilibrio rotacional, una solución de lactosa estará compuesta de 62.25% de β -lactosa y 37.75% de α -lactosa. La solubilidad de cada una de las formas de lactosa varía mucho, siendo la forma β - mucho más soluble que la forma α -. A 15 °C, la solubilidad de α -lactosa es aproximadamente 7 g/100 g de agua y la de β -lactosa 50 g/100 g. Por lo tanto, en soluciones de lactosa, aunque se presente equilibrio rotacional entre las dos formas, la forma α - cristalizará debido a su baja solubilidad. La α -lactosa tiende a cristalizarse en productos como helados, leche condensada y dulce de leche. Se forman cristales grandes porque la nucleación y el crecimiento de los cristales es lento (Walstra y col., 1999).

En helados, la lactosa puede cristalizar porque gran parte del agua está congelada y por tanto, no disponible para mantenerla en solución; en leche condensada, lo hace por la pequeña cantidad de agua remanente después del proceso de evaporación.

El dulce de leche presentará aproximadamente un 30% de humedad final, la cual deberá mantener en solución no sólo la totalidad de los azúcares agregados durante el proceso, sino también la lactosa de la leche empleada como materia prima, que durante la evaporación se habrá ido concentrando. Debido a su baja solubilidad, la lactosa en este producto ya se encuentra en solución supersaturada. Esta solución también es afectada por la cantidad de sacarosa agregada que disminuye sustancialmente la solubilidad de lactosa. Bajo estas condiciones, la cristalización de lactosa es inevitable en el dulce de leche (Hough y col., 1990).

Respecto a la sacarosa, la lactosa es relativamente poco soluble (aproximadamente 10 veces menos, Tabla 5-1).

Tabla 5-1. Solubilidad de lactosa y sacarosa en agua.

Solubilidad g/100 g agua	Temperatura (°C)				
	0	10	20	30	50
Sacarosa	179.5	190.5	203.9	219.5	260.4
Lactosa	11.9	15.1	19.2	24.8	43.7

A 55 °C el dulce presenta una solución de lactosa ya en su punto de saturación. Durante el comienzo del enfriamiento la cantidad de lactosa en exceso, como sobresaturación, es muy pequeña, pero a medida que el dulce se enfría la sobresaturación aumenta. Con el tiempo, este azúcar cristalizará, presentando el defecto conocido como “cristalización” o “azucaramiento”, perceptible al paladar generalmente en dulces relativamente envejecidos (un mes o más), cuando los cristales alcanzan un cierto tamaño mínimo.

El fabricante debe tratar de evitar o bien demorar este proceso. El perfil de temperaturas seguido durante el enfriamiento del producto influye en el desarrollo del mismo, como ya se mencionó. Se formarán cristales más grandes cuando más lento es el enfriamiento. La velocidad de cristalización aumenta a medida que la temperatura desciende, alcanzando un máximo alrededor de los 30°C; a temperaturas menores, el aumento de viscosidad comenzará a dificultar la formación de cristales. Esta temperatura de máxima cristalización varía con la proporción lactosa-agua, la cual depende del total de sólidos.

Sabioni y col. (1984) elaboraron dulce de leche con mezclas de leche y leche con lactosa hidrolizada por microorganismos, que almacenaron durante 120 días a temperatura ambiente para ser evaluados sensorialmente. Estos autores no encontraron cristalización de lactosa en ninguna de las formulaciones, excepto en la muestra control (sin lactosa hidrolizada). De cualquier manera, la cristalización irremediablemente sobrevendrá después de un cierto tiempo de almacenamiento, evitarla o postergarla será fundamental para mejorar la calidad del producto y prolongar su vida útil (Zamboni y Zalazar, 1994). Martínez y col. (1990) demostraron que si el contenido de lactosa no es reducido, su cristalización en el dulce de leche es inevitable.

5.1.2 Métodos para prevenir la cristalización de lactosa

Varios métodos tecnológicos se han desarrollado e investigado para prevenir la cristalización de lactosa en productos que tienen este problema. Pero la mayoría de estos métodos se han investigado para leche condensada y helados.

Uno de los métodos más usados en la elaboración de dulce de leche es el reemplazo de parte de la sacarosa por glucosa (Martínez y col., 1990; Hynes y Zalazar, 2009). El

reemplazo de la sacarosa hasta un 40 % p/p por mono o disacáridos está contemplado por la RESOLUCION GMC N° 137/96 del Código Alimentario Argentino (CAA, 2015).

Un factor importante que se puede controlar durante la elaboración del dulce de leche es la velocidad de enfriamiento. Una disminución lenta de la temperatura del producto favorece la formación de cristales grandes, de tamaño mayor a 0.03 mm, y duros, y el producto se identifica como “arenoso”, provocando el rechazo del consumidor. Lo contrario ocurre cuando el descenso de la temperatura es rápido porque esto facilita la formación de muchos cristales de tamaño pequeño que no son percibidos; estas condiciones deben ser estandarizadas para favorecer la formación de cristales pequeños (con un tamaño menor a 0.01 mm) (Alais, 2003; Zavala, 2005). Asimismo, a temperaturas menores la viscosidad del dulce de leche dificulta la formación de cristales de lactosa por reducción en la movilidad de las moléculas.

Otra de las técnicas más empleadas es la siembra de microcristales de lactosa. El objetivo es favorecer la formación de numerosos cristales pequeños que no sean percibidos por el consumidor (Hough y col. 1990; Alais, 2003; Zavala, 2005). En el caso del dulce de leche, la siembra consiste en agregar lactosa en polvo cristalizada en un 0.04-2% en la formulación. Se disuelve el polvo de lactosa en una cantidad pequeña para mejorar su distribución y se agrega al resto de producto cuando tiene una temperatura alrededor de 30 °C. Según Hough y col. (1990), el tamaño de los cristales del polvo de lactosa no debe exceder los 8 µm para así dar lugar a la formación de cristales de lactosa que no excedan los 45 µm, umbral de percepción de los cristales por el consumidor. Si bien la siembra de microcristales es una buena opción para forzar la cristalización de lactosa en leche condensada (Buyze, 1952), según Sabioni y col. (1984) y Martínez y col. (1990) los fabricantes enfrentan ciertas dificultades técnicas en su aplicación. Además, aumenta el tiempo total de operación, induce la formación de burbujas de aire en el producto debido a la agitación y ocasiona contaminación del producto.

Hunziker (1946) recomendaba forzar la cristalización con agitación a 30 °C para fomentar la nucleación o aumentar la tasa de formación de numerosos cristales de lactosa. Sin embargo, a esta temperatura, el dulce de leche es bien viscoso y los requerimientos del bombeo mecánico y la agitación son altos. Al igual que en el caso de la siembra con microcristales, otra de las dificultades es la contaminación con hongos y levaduras cuando se agita el producto, ya que la actividad de agua del dulce de leche no es lo suficientemente baja para prevenir el crecimiento de este tipo de microorganismos.

Carić (1994) informó que también la ultrafiltración (UF) puede ser usada para prevenir la cristalización de lactosa, sin embargo, hay solamente dos informes (Christiansen y col., 1987; Edelsten y col., 1987) donde se la utiliza como método para reducir la arenosidad en

dulce de leche. Al respecto, Martínez y col. (1990) informaron que esta tecnología no es económicamente factible en Argentina.

Por otro lado, Smith (1991) describe el uso de la enzima β -D-galactosidasa (lactasa), enzima del grupo de las hidrolasas que rompe el enlace entre galactosa y glucosa, azúcares que forman la lactosa. La lactosa no es fácilmente hidrolizada en condiciones de bajo pH y altas temperaturas (Walstra y col., 1999), pero sí con esta enzima. El objetivo principal de utilizarla en dulce de leche es reducir el contenido de lactosa y así retrasar su cristalización.

La hidrólisis de lactosa sin embargo origina varios cambios en el producto final:

- La dulzura del producto aumenta debido a que la mezcla de galactosa y glucosa es 2 a 3 veces más dulce que la lactosa.
- La galactosa y glucosa generan una viscosidad menor a la de la lactosa, esto permite una concentración mayor de sólidos sin que ocurra cristalización.
- La reacción de Maillard es más acentuada porque la glucosa y galactosa son más reactivas en estas condiciones que la lactosa (Lamothe, 2006).

Las industrias lácteas fabrican distintos productos en los que la lactosa ha sido hidrolizada a galactosa y glucosa mediante la adición de lactasa a fin de evitar su cristalización. Esta digestión enzimática de la lactosa es paralelamente conveniente si se realiza en forma total, para cierto grupo poblacional, particularmente adultos, debido a una frecuente deficiencia en esta enzima, que se manifiesta por intolerancia a la lactosa. En el caso del dulce de leche, se suele realizar la hidrólisis parcial de la lactosa por un problema tecnológico y no de salud, para evitar o retardar la formación de cristales mediante la utilización de la enzima β -D-galactosidasa (lactasa). Esto está contemplado en la RESOLUCIÓN GMC N° 137/96 (CAA, 2015), donde se menciona el empleo de la enzima lactasa como coadyuvante de tecnología /elaboración según buenas prácticas de fabricación.

5.2 Objetivos específicos

Sobre formulaciones de dulce de leche elaboradas con leche descremada (0% de contenido lipídico) los objetivos que se plantearon fueron:

- Caracterizar y estudiar las propiedades físico-químicas de dulces de leche 0% elaborados con leche de contenido de lactosa normal o reducido, y diferentes contenidos de humedad.
- Evaluar los cambios producidos durante 6 meses de almacenamiento a 20 °C en envases de vidrio de formulaciones de dulce de leche 0% lípidos, elaborados con leche de contenido de lactosa normal como reducido. Las variables analizadas fueron: cristalización de lactosa, variación de pH, calidad microbiológica, comportamiento reológico.

➤ Modelar el comportamiento reológico de los dulces durante su almacenamiento, calcular funciones materiales asociadas, y evaluar la magnitud de los cambios producidos.

5.3 Materiales y Métodos

5.3.1 Diseño Experimental y elaboración de los productos

Teniendo en cuenta que el producto 0% lípidos desarrollado hasta aquí, además de poder consumirse como tal, es diseñado a fin de ser empleado como fase continua de un producto donde se desea incorporar aceite vegetal (en forma de emulsión, temática que será abordada en el Capítulo siguiente), y se pretende que la matriz sea capaz de mantener estables a las gotas de aceite, se tomaron como base datos obtenidos por Quintana y col. (2004), quienes estudiaron la estabilidad de emulsiones con fases continuas de diferentes características reológicas. A partir de dichos resultados, se seleccionó en los diagramas de flujo una región donde la matriz o fase continua resultaba capaz de mantener estables gotas de 2-3 μm de diámetro, y, a partir de los datos obtenidos para el sistema en estudio en el Capítulo 4, se seleccionó un máximo contenido de humedad en el producto a elaborar, cuyas curvas de flujo concordaban con las mencionadas anteriormente. Se fijó entonces dicho máximo en 40% de humedad, el cual abarca una zona relativamente amplia de trabajo.

Se elaboraron cuatro tipos de dulces 0% lípidos (Tabla 4-2), incorporando siempre 1 g/L leche de goma xántica. Los dulces se elaboraron empleando leche descremada con o sin tratamiento previo con lactasa, es decir, dos con leche de contenido de lactosa normal (L) y dos con contenido reducido (I). A su vez, el proceso de elaboración seguido (según metodología 4.3.2) resultó en dos niveles de humedad (alto, H o bajo, h) para cada nivel de lactosa usado. Por ello, el contenido del hidrocoloide alcanzado en cada producto resultó ser consecuencia del grado de concentración de sólidos. La nomenclatura empleada en los dulces obtenidos se esquematiza en la Tabla 5-2.

Tabla 5-2. Nomenclatura empleada en los dulces de leche 0% lípidos elaborados.

		Humedad	
		Alta	Baja
Lactosa	Normal	LH	Lh
	Reducida	IH	Ih

Para disminuir el contenido de lactosa en la leche totalmente descremada empleada como materia prima (leche 0% lípidos, UAT, Sancor, Cooperativas Unidas Ltda., Sunchales, Santa Fe) destinada a la elaboración de los productos de contenido de lactosa reducido (IH y Ih),

se realizó un tratamiento enzimático con β -galactosidasa (lactasa Hansen, 125 NLU/L) previo a la elaboración de los mismos. La dosis necesaria de enzima depende de la temperatura, tiempo y grado de hidrólisis deseado. En base a recomendaciones del fabricante, se incubó la leche con 2.6×10^{-2} g/L de enzima a 4°C durante 24 h, a fin de lograr aproximadamente un 40% de hidrólisis de lactosa. Posteriormente, la enzima fue inactivada por calor al iniciar el tratamiento térmico durante la elaboración del producto.

Los dulces se elaboraron según 4.3.2 y una vez finalizada la etapa de calentamiento, los productos obtenidos fueron fraccionados en caliente en frascos de vidrio de 150 ml, previamente esterilizados en autoclave. Los productos así envasados fueron almacenados durante 6 meses en un cuarto de temperatura controlada a 20°C.

5.3.2 Caracterización de los productos obtenidos

Sobre los cuatro dulces de leche 0% lípidos obtenidos (tiempo inicial) se realizaron las siguientes determinaciones:

- ✓ Humedad (según apartado 3.3.2)
- ✓ Contenido de sólidos por refractometría (según apartado 3.3.2)
- ✓ Rendimiento porcentual (según apartado 4.3.6)
- ✓ Actividad acuosa (según apartado 3.3.2)

5.3.3 Parámetros de calidad de los productos durante el almacenamiento

A fin de evaluar los cambios en los principales parámetros que afectan la calidad de los dulces de leche obtenidos, se realizaron los siguientes ensayos a lo largo de su almacenamiento a 20 °C:

Cristales de lactosa por microscopía óptica

Para evaluar el posible proceso de cristalización en los dulces se investigó la presencia de cristales, según Giménez y col. (2008). A distintos tiempos durante el almacenamiento, se pesaron aproximadamente 0.01 g de dulce de leche en un portaobjetos previamente pesado. Posteriormente se le colocó un cubreobjetos y se hizo una pequeña presión en el centro del mismo a fin de lograr la expansión de la muestra en una apariencia circular sin aplastar los posibles cristales presentes. La observación fue realizada en microscopio óptico (Leica DMLB, Wetzlar, Alemania) con 1000x de aumento, utilizando polarizadores para una mejor visualización. Asimismo, se tomaron imágenes con una cámara fotográfica.

En caso de encontrar cristales, el cálculo del número de los mismos, por gramo de producto, responde a la siguiente expresión:

$$N = \frac{na \cdot \pi \cdot R^2}{A \cdot P} \quad \text{Ec. 5-1}$$

donde:

N = número de cristales por gramo de dulce de leche

A = área de campo observada (mm)

na = número promedio de cristales observados en A

R = radio de la muestra (mm)

P = peso de muestra

Medida de pH

La determinación del pH de los productos se efectuó mediante un pHmetro Hach sensION+pH3 (Hach, Loveland, USA). Las determinaciones se realizaron por duplicado, a distintos tiempos durante el almacenamiento.

Calidad microbiológica

Con intervalos de 30 días se realizaron los recuentos microbianos de los dulces obtenidos y almacenados a 20°C con el fin de evaluar su aptitud sanitaria, la cual es condicionada por el proceso de elaboración, sobre todo el envasado y condiciones en las cuales se encuentran los recipientes destinados a su almacenamiento, siguiendo los criterios microbiológicos que establece la RESOLUCIÓN GMC N°137/96 (CAA, 2015) para este tipo de productos.

Para cada producto, se tomaron 10 g de muestra, por duplicado, y se homogeneizaron en 90 ml de peptona 0.1% mediante Stomacher durante 60 segundos a velocidad normal. Se realizaron adecuadas diluciones seriadas en tubos con peptona 0.1%. Se efectuaron recuentos en placa de:

➤ *Hongos y levaduras*: en Agar YGC (Cloranfenicol, Extracto de levadura, Glucosa) (YGC, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) sembrando en profundidad 1 ml de las diluciones correspondientes e incubando a 25 – 30 °C durante 5 días.

➤ *Estafilococos coagulasa positiva*: en Agar Baird Parker (Biokar, Beauvais, Francia) sembrando en superficie 0.1 ml de cada dilución e incubando 24-48 hs a 35-37 °C, en aerobiosis.

Determinaciones reológicas:

Curvas de flujo en estado estacionario

Para cada producto obtenido y a diferentes tiempos de almacenamiento se obtuvieron las curvas de flujo en estado estacionario según metodología 3.3.3, por duplicado. En los

tiempos extremos del almacenamiento (0 y 6 meses) las medidas se realizaron por cuadruplicado a fin de disminuir el error.

Ensayos de esfuerzo oscilatorio

Fueron realizados según metodología 3.3.3, por duplicado, para todos los productos obtenidos. En los tiempos extremos del almacenamiento (0 y 6 meses) las medidas se realizaron por cuadruplicado para disminuir el error.

Modelado matemático de las características reológicas de los productos

Se ajustó el modelo de Herschel-Bulkley a las curvas de flujo experimentales obtenidas para cada dulce de leche a los diferentes tiempos de almacenamiento. Asimismo, la variación de sus parámetros fue analizada en función del tiempo de almacenamiento.

Los barridos de frecuencia obtenidos en el rango lineal fueron modelados con la Ley de la Potencia (empleando el software OriginPro7.0), y empleando el modelo generalizado de Maxwell (Ec. 1-28 y 1-29, mediante la utilización del software IRIS y la herramienta “solver” del Excel 2007).

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos experimentales se realizaron análisis de varianza bifactoriales utilizando los procedimientos ANOVA del software SYSTAT (SYSTAT Inc., Evenston, IL, USA), siendo los factores considerados la composición del producto y el tiempo de almacenamiento. Las comparaciones pareadas y las regresiones no lineales se realizaron según 3.3.5.

5.4 Resultados y Discusión

5.4.1 Caracterización de los productos obtenidos

La humedad de los dulces 0% lípidos obtenidos con leche con lactosa normal o reducida, estuvo comprendida entre 35.9% y 40.4%, valores dentro de la zona de trabajo deseada (máximo 40% de humedad). Esto resultó en concentraciones de goma xántica entre 0.198% y 0.213% en los productos terminados (Tabla 5-3). Asimismo, presentaron valores de a_w entre 0.845 y 0.881, en el rango de los productos comerciales analizados en el Capítulo 3 (0.764-0.882), aunque sus °Brix resultaron algo inferiores.

Los rendimientos porcentuales obtenidos en los productos estuvieron comprendidos entre 37.9% y 40.7%, respectivamente.

Tabla 5-3. Productos elaborados a partir de leche descremada (LH y Lh) y de leche descremada tratada con lactasa (IH y lh)*.

	Lactosa normal (L)		Lactosa reducida (I)	
	Alta humedad (LH)	Baja humedad (Lh)	Alta humedad (IH)	Baja humedad (lh)
Humedad (%)	40.4 ^a	35.9 ^c	40.3 ^a	37.8 ^b
Goma xántica (%)	0.198 ^c	0.213 ^a	0.198 ^c	0.207 ^b
Rendimiento (%)	40.76 ^a	37.90 ^c	40.73 ^a	39.07 ^b
°Brix	62	65.5	62	64.5
a _w	0.881 ^a	0.845 ^d	0.874 ^b	0.865 ^c

*Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (P<0.05).

Los contenidos de lactosa en los diferentes productos fueron calculados teniendo en cuenta el contenido de lactosa de la leche empleada en su elaboración, el rendimiento obtenido en los productos, y en el caso de los dulces elaborados con leche tratada con lactasa, el porcentaje de hidrólisis deseado (40%). Dichos valores correspondieron aproximadamente a un 10 y 6% de lactosa para el producto de contenido normal y reducido, respectivamente.

5.4.2 Cambios durante el almacenamiento

pH

En los cuatro dulces analizados los valores de pH estuvieron comprendidos entre 6.01 y 6.26. Su variación con el tiempo de almacenamiento es presentada en la Tabla 5-4.

Tabla 5-4. Valores de pH correspondientes a dulces elaboradas a partir de leche descremada (LH y Lh) y de leche descremada tratada con lactasa (IH y lh) durante su almacenamiento a 20 °C*.

Tiempo (meses)	Lactosa normal (L)		Lactosa reducida (I)	
	LH	Lh	IH	lh
0	6.14 ^{ghij}	6.24 ^{abc}	6.24 ^{ab}	6.04 ^{kl}
1	6.22 ^{abcd}	6.11 ^j	6.13 ^{ij}	6.13 ^{hij}
2	6.25 ^{ab}	6.23 ^{abc}	6.19 ^{defg}	6.17 ^{fgh}
3	6.18 ^{defg}	6.21 ^{bcde}	6.15 ^{fghi}	6.04 ^{kl}
4	6.19 ^{cdef}	6.17 ^{efgh}	6.10 ^j	6.11 ^j
5	6.19 ^{defg}	6.20 ^{bc}	6.12 ^j	6.05 ^k
6	6.11 ^j	6.26 ^a	6.12 ^j	6.01 ^l

*Supraíndices iguales indican que no hay diferencia significativa entre las medias (P>0.05).

Los valores de pH para las muestras con mayor contenido acuoso (LH y IH) mostraron una tendencia a disminuir durante el almacenamiento, mientras que en las de menor porcentaje de humedad los cambios de pH no presentaron tendencias claras. A pesar de las pequeñas variaciones, todos se encontraron dentro de los rangos esperados y hallados en este tipo de producto (5.70-6.15, Capítulo 3, apartado 3.4.1).

Cristalización de lactosa

En la observación microscópica de los diferentes dulces no se observaron cristales de lactosa en ninguno de los productos analizados durante todo el período de almacenamiento considerado. Al no presentar diferencias entre los dulces de contenido de lactosa normal (LH y Lh) y reducido (IH y lh), no puede atribuirse la ausencia de cristales al tratamiento enzimático previo por lo que se concluye que la velocidad de enfriamiento al final del proceso fue adecuada.

Los resultados obtenidos se corresponden con lo establecido en la RESOLUCIÓN GMC N°137/96 (CAA, 2015), que dispone como requisito de característica sensorial una consistencia cremosa o pastosa, sin cristales perceptibles sensorialmente.

Calidad microbiológica

Los recuentos de hongos y levaduras, microorganismos capaces de proliferar en este tipo de sistemas, en todos los productos analizados estuvieron siempre por debajo del límite de detección del método ($< 2 \log$ UFC/g). Asimismo, tampoco fueron detectados microorganismos *Estafilococos coagulasa positiva*, principal patógeno a evaluar en el producto, según el criterio microbiológico establecido en la RESOLUCIÓN GMC N° 137/96 (CAA, 2015). Por lo tanto la calidad microbiológica de los productos resultó satisfactoria durante los 6 meses de almacenamiento. Esto también indicó adecuadas condiciones de elaboración y envasado de los productos.

Medidas reológicas

Curvas de flujo

El comportamiento de flujo observado en todos los dulces coincidió, como era esperado, con los dulces 0% lípidos estudiados previamente (Capítulo 4), mostrando el comportamiento pseudoplástico característico. Dichas curvas en estado estacionario fueron modeladas con la ecuación de Herschel-Bulkley (HB) para cada una de los dulces, obteniéndose los parámetros correspondientes σ_0 , K y n, a lo largo del almacenamiento a 20 °C. La Figura 5-1 muestra, a modo de ejemplo, algunas de las curvas obtenidas experimentalmente. Son

ilustrados los datos correspondientes a 0, 3 y 6 meses de almacenamiento de los dulces LH, Lh, IH y lh con el respectivo ajuste del modelo de HB a dichos datos.

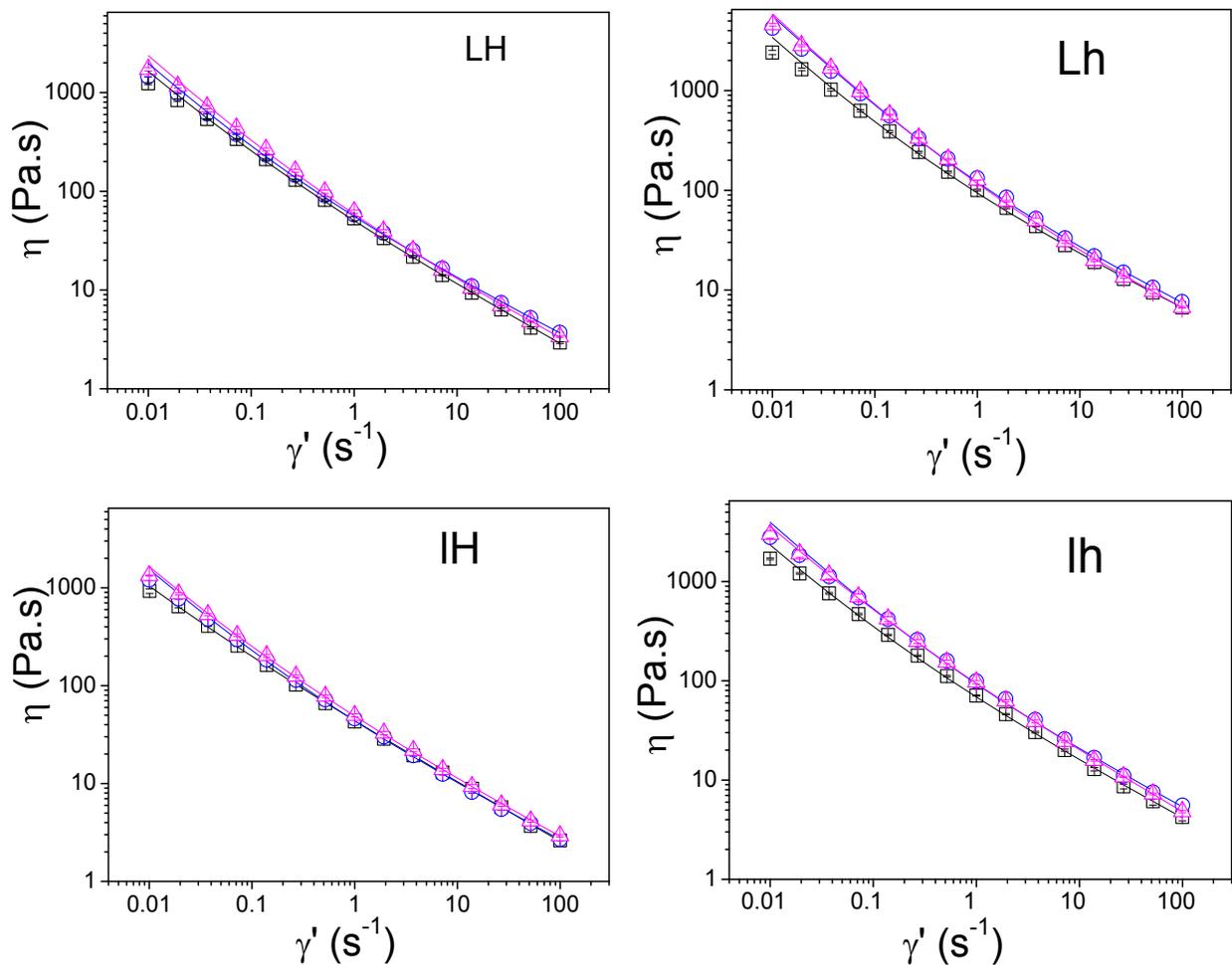


Figura 5-1. Curvas de flujo obtenidas experimentalmente, correspondientes a 0 (\square), 3 (\circ) y 6 (\triangle) meses de almacenamiento de los dulces LH, Lh, IH y lh; con línea continua se indica el respectivo ajuste del modelo de HB a los datos experimentales. Las barras verticales corresponden al error estándar de las mediciones.

En todos los productos obtenidos y tiempos de almacenamientos analizados, se obtuvieron adecuados ajustes del modelo HB a los datos experimentales, según puede observarse en la Figura 5-1.

Por comparación de las curvas obtenidas a distintos tiempos, se observó un pequeño aumento de la viscosidad a lo largo del almacenamiento a 20 °C, efecto que fue más marcado para las formulaciones de baja humedad, Lh y lh. La mayor concentración de sólidos (proteínas de leche, azúcares y polisacárido) alcanzada en estos productos podría

favorecer una mayor interacción entre los mismos durante su almacenamiento, aumentando su resistencia al flujo, es decir su viscosidad. Asimismo, Zunino (1998) observó un ligero espesamiento en dulces de leche elaborados con agregado de suero de queso, almacenados 6 meses a 5 °C, pero que fueron bien aceptados mediante panel sensorial. Rovedo y col. (1991) también encontraron un aumento de la viscosidad aparente de dulce de leche durante 120 h de almacenamiento, atribuyendo este comportamiento a que probablemente es necesario un determinado periodo de tiempo para que las proteínas de leche adquieran una configuración equilibrada. Un aumento en la viscosidad aparente también fue informado durante el almacenamiento de leche condensada azucarada por Higgs y Norrington (1971).

Los valores de los parámetros del modelo de HB y su variación con el tiempo de almacenamiento para los dulces de leche LH, Lh, IH y lh son mostrados en la Tabla 5-5.

Del análisis de los resultados pudo observarse que el umbral de fluencia (parámetro σ_0) varió significativamente con la composición del producto y con el tiempo de almacenamiento ($P < 0.05$), no siendo significativa la interacción.

En general, a mayor contenido de humedad en el producto (dulces LH y IH, de menor porcentaje de goma xántica) menor σ_0 . A su vez, si comparamos los resultados obtenidos para estos dulces que resultaron de contenidos de humedad y xántica estadísticamente iguales, el umbral de fluencia resultó significativamente mayor para el producto LH, de mayor contenido de lactosa por no haber recibido la leche el pretratamiento con lactasa.

El parámetro σ_0 presentó un marcado aumento con el tiempo de almacenamiento, siendo este aumento más marcado entre el tiempo 0 y el primer mes a 20 °C, para los dulces de menor contenido acuoso. Esto indicó una reestructuración de las macromoléculas del sistema, ya que el umbral de fluencia es una medida de la fuerza de la red formada por interacción entre partículas. Por esto, los productos analizados requirieron mayor esfuerzo de corte para comenzar a fluir a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento. Luego del primer mes, dicho parámetro se mantuvo prácticamente constante. Esto podría explicarse de acuerdo a lo sugerido por Rovedo y col. (1991), por lo cual este tiempo sería el requerido para que las proteínas de leche adquieran la configuración equilibrada.

Tabla 5-5. Parámetros σ_0 (Pa), K (Pa.sⁿ) y n del modelo de Herschel-Bulkley correspondientes a los distintos dulces 0% lípidos elaboradas a partir de leche descremada (LH y Lh) y de leche descremada tratada con lactasa (IH y lh), y alta (H) o baja humedad (h) en función del tiempo de almacenamiento a 20 °C*.

Parámetros	Tiempo (meses)	Lactosa normal		Lactosa reducida	
		LH	Lh	IH	lh
σ_0 (Pa)	0	10.61 ^{ij}	26.91 ^e	4.17 ^j	16.46 ^{ghi}
	1	14.10 ^{ghi}	43.04 ^{bc}	11.31 ^{ij}	24.33 ^{ef}
	2	15.24 ^{ghi}	44.88 ^{abc}	11.99 ^{hi}	22.46 ^{efg}
	3	15.08 ^{ghi}	48.56 ^{ab}	11.34 ^{ij}	32.33 ^{de}
	4	17.53 ^{fghi}	41.53 ^{bc}	13.42 ^{hi}	22.27 ^{efg}
	5	17.72 ^{fghi}	39.46 ^{cd}	9.61 ^{ij}	25.64 ^e
	6	18.43 ^{fgh}	51.86 ^a	11.36 ⁱ	25.64 ^e
K (Pa.sⁿ)	0	39.80 ^{hijkl}	67.17 ^{bcd}	39.75 ^{hijkl}	52.18 ^{ef}
	1	33.54 ^{klm}	61.00 ^d	32.97 ^{klm}	45.62 ^{fgh}
	2	48.44 ^{fg}	65.09 ^{cd}	30.08 ^m	66.97 ^{bcd}
	3	40.60 ^{ghijk}	72.01 ^{bc}	32.36 ^{lm}	60.47 ^{de}
	4	44.49 ^{ghi}	74.46 ^b	34.83 ^{ijklm}	81.88 ^a
	5	43.11 ^{ghij}	62.29 ^{cd}	35.28 ^{ijklm}	64.49 ^{cd}
	6	40.21 ^{hijk}	65.18 ^{cd}	37.51 ^{ijklm}	68.43 ^{bcd}
n	0	0.422 ^{ef}	0.489 ^{ab}	0.402 ^f	0.443 ^{cdef}
	1	0.481 ^{abcd}	0.502 ^{ab}	0.457 ^{abcdef}	0.474 ^{abcd}
	2	0.426 ^{def}	0.511 ^a	0.474 ^{abcd}	0.413 ^f
	3	0.469 ^{abcde}	0.494 ^{ab}	0.449 ^{bcdef}	0.462 ^{abcdef}
	4	0.457 ^{abcdef}	0.467 ^{abcde}	0.441 ^{cdef}	0.408 ^f
	5	0.456 ^{abcdef}	0.458 ^{abcdef}	0.399 ^f	0.444 ^{cdef}
	6	0.445 ^{cdef}	0.488 ^{abc}	0.435 ^{def}	0.412 ^f

*Supraíndices iguales indican que no hay diferencia significativa entre los parámetros ($P > 0.05$).

El índice de consistencia (K) es una medida de la viscosidad (Sun y col., 2007). Dicho parámetro, relacionado con la viscosidad en la zona de alta velocidad de deformación, varió significativamente con la composición de los dulces, el tiempo de almacenamiento y la interacción composición x tiempo. Se observó que, los productos con menor contenido de humedad y mayor proporción de xántica (Lh y lh) presentaron los mayores valores de K. Por otra parte, a un mismo contenido de humedad ($P > 0.05$) (dulces LH y IH), la mayor

concentración de lactosa en el producto LH se correspondió con mayores valores de K. El efecto de la interacción composición x tiempo se reflejó en el mayor cambio en el parámetro K con el tiempo de almacenamiento en los dulces de menor contenido acuoso (Tabla 5-5). Pavón y col. (2014) encontraron también un aumento en el parámetro K durante el almacenamiento de yogurt con gelatina y goma espina corona.

El parámetro n no mostró tendencias claras ni con la composición ni con el tiempo de almacenamiento para ninguno de los productos elaborados, oscilando entre 0.399 y 0.511, siendo estos valores, inferiores a la unidad, acordes al tipo de producto estudiado.

Long y col. (2012) ajustaron el modelo de HB a los datos experimentales de curvas de flujo de crema de leche sometidas a diferentes presiones de homogeneización y almacenadas durante 30 días a 4 °C, encontrando un aumento del parámetro K con el tiempo de almacenamiento, relacionado con una reestructuración del sistema o formación de gel.

Vélez-Ruiz y Barbosa-Cánovas (1998) estudiaron el efecto de la concentración, la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre el comportamiento de flujo de leche concentrada (12.6 a 48.6% de sólidos), encontrando que, además de estos factores, existirían cambios físico-químicos durante el almacenamiento, que afectaron su comportamiento reológico. En la mayoría de los casos, el índice de comportamiento de flujo del modelo de HB disminuyó con el tiempo de almacenamiento, mientras que el coeficiente de consistencia aumentó, según Patil y Patel (1992), quienes estudiaron propiedades viscoelásticas de leche condensada azucarada, ambas tendencias exhibidas por el índice de flujo y coeficiente de consistencia pueden ser explicadas por refuerzo estructural o formación de gel desarrollados durante el almacenamiento. Estos cambios también fueron reportados por Alvarez de Felipe y col. (1991) para diferentes muestras de leche condensada azucarada, encontrando mediante microscopia electrónica que la agregación micelar y la asociación de micelas caseínicas con glóbulos grasos aumentaba durante el almacenamiento a temperaturas que favorecen la gelificación (37 y 45 °C). Las proteínas de suero parecen tener un importante papel en el proceso de espesamiento.

A partir de las curvas de flujo obtenidas, se evaluó también la viscosidad aparente a velocidad de deformación de 7.2 s^{-1} ($\eta_{\dot{\gamma}=7.2 \text{ s}^{-1}}$), para estudiar el efecto del tiempo de almacenamiento sobre esta característica específica de los productos. Dichos resultados se presentan en la Figura 5-2.

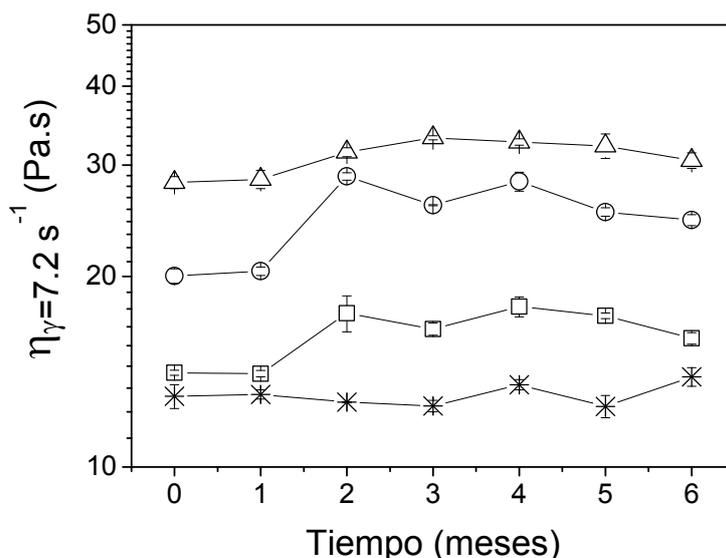


Figura 5-2. Viscosidad aparente en estado estacionario medida a $\dot{\gamma}' = 7.2 \text{ s}^{-1}$ de los productos LH (□), Lh (Δ), IH (*) y lh (○) en función del tiempo de almacenamiento a 20 °C. Barras verticales indican el error estándar.

En el caso de la viscosidad aparente a $\dot{\gamma}' = 7.2 \text{ s}^{-1}$, la composición, el tiempo y la interacción resultaron significativos. Se observó (Figura 5-2) que la $\eta_{\dot{\gamma}' = 7.2 \text{ s}^{-1}}$ del dulce IH (*) fue la más baja y prácticamente se mantuvo constante a lo largo del tiempo, mientras que el aumento más significativo se evidenció en la viscosidad del dulce lh (○), siendo más importante este efecto entre el primer y segundo mes de almacenamiento. Asimismo, considerando los dulces con 40.4% de humedad (LH y IH) un mayor contenido de lactosa presentó mayor viscosidad aparente y mayor variación con el tiempo de almacenamiento.

Los cambios de $\eta_{\dot{\gamma}' = 7.2 \text{ s}^{-1}}$ durante el almacenamiento en algunos de los dulces analizados (Figura 5-2) podrían estar relacionados con los aumentos de viscosidad observados por otros autores en leches tratadas por UAT almacenadas (Kocak y Zadow, 1985; Mckellar y col., 1984). Según Datta y Deeth (2001) pueden ocurrir varios cambios durante el almacenamiento en estos sistemas. Uno de los más importantes se da en su estado físico, que se manifiesta por un aumento en la viscosidad de más de 10 mPa.s (a 20 °C) inmediatamente antes de la formación de un gel y pérdida de fluidez. Este fenómeno es irreversible y se conoce como "gelificación por envejecimiento" ("age gelation"). Un posible mecanismo de este fenómeno es basado en un proceso de dos etapas. En el primer paso los complejos β -lactoglobulina/ κ -caseína se disocian de las caseínas debido a la desestabilización de varios sitios de anclaje a la κ -caseína, y en el segundo paso, estos complejos se agregan en una matriz tridimensional. Cuando se alcanza una concentración crítica de dichos complejos, se forma un gel de consistencia similar a la natilla. Los factores

que influyen en el inicio de la gelificación incluyen la naturaleza del tratamiento térmico, la proteólisis durante el almacenamiento, composición de la leche y su calidad, y la temperatura de almacenamiento.

Es posible que los cambios ocurridos en la viscosidad de las muestras de dulce de leche durante el almacenamiento, tengan alguna relación con el fenómeno descrito por Datta y Deeth (2001) para leche UAT. Sin embargo, existen diferencias importantes entre el dulce de leche y las leches UAT en cuanto a concentración y componentes presentes, por lo cual es posible que no sea el único fenómeno responsable de los cambios reológicos. La goma xántica presente en los productos también podría influir en dichos cambios. Numerosos autores observaron una agregación dependiente del tiempo (procesos de equilibrio a largo plazo) de xántica en agua deionizada, que podría estar relacionada con la tendencia a la agregación de las moléculas de xántica (Bezemer y col., 1993; Carnali, 1991; Hacche y col., 1987; Southwick y col., 1980; Holzwarth, 1976).

En cuanto al efecto de la hidrólisis de la lactosa en la viscosidad del producto final, Shah y Nickerson (1978) estudiaron la viscosidad de jarabes equivalentes a lactosa hidrolizada al 70, 90 y 100% en un rango de temperaturas de 10 a 60 °C y porcentaje de sólidos entre 10 y 80%, encontrando que, en general, los jarabes hidrolizados al 70 y 90 % presentaron viscosidades mayores que el hidrolizado al 100%. Por otro lado, Guy y Edmondson (1978) analizaron la variación de la viscosidad en jarabes de lactosa hidrolizados entre 75 y 95% con β -galactosidasa, conteniendo entre 60 y 66% de sólidos totales, coincidiendo con los autores mencionados previamente en que las viscosidades se incrementaron cuando disminuyó el grado de hidrólisis para todos los porcentajes de sólidos ensayados.

Ensayos dinámicos de barrido de esfuerzo

El límite de la región viscoelástica lineal (RVL) en la cual las propiedades reológicas son independientes del esfuerzo aplicado se determinó a través de experimentos de barrido de esfuerzo. La Figura 5-3 muestra, como ejemplo, gráficos típicos de barrido de esfuerzo obtenidos para los cuatro dulces estudiados (LH, Lh, IH y lh) a los 0, 3 y 6 meses de almacenamiento.

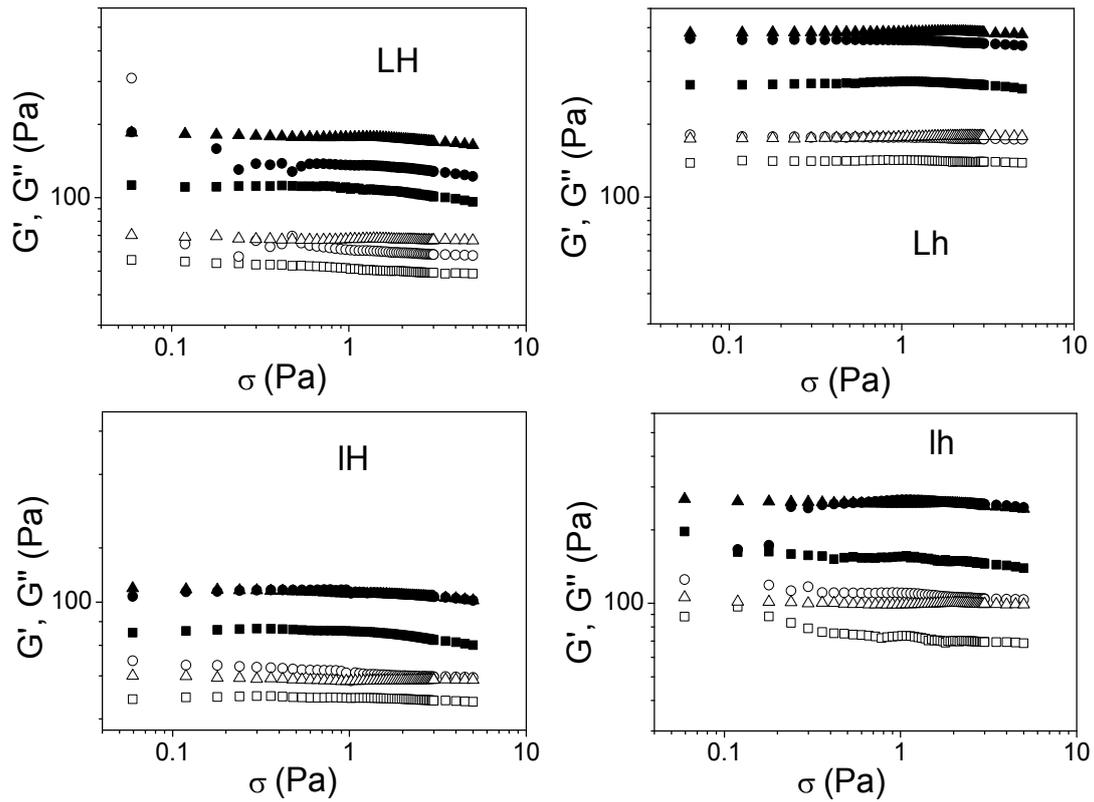


Figura 5-3. Módulos elástico (G') y viscoso (G'') en función del esfuerzo (σ) para formulaciones de dulce de leche (LH, Lh, IH y lh) con diferentes tiempos de almacenamiento: 0 ($\blacksquare G'$, $\square G''$), 3 meses ($\bullet G'$, $\circ G''$), 6 meses ($\blacktriangle G'$, G'') a 20 °C.

Los sistemas tipo gel muestran generalmente una dependencia de sus módulos con el esfuerzo oscilatorio en la que G' sigue siendo independiente hasta un valor crítico de esfuerzo, y luego disminuye cuando la muestra comienza a fluir (Manoj y col., 1996; Zimeri y Kokini, 2003). En todos los dulces de leche analizados, tanto G' como G'' se mantuvieron prácticamente constantes en el rango de esfuerzo ensayado. Como se esperaba, los dulces de menor contenido acuoso (Lh y lh) presentaron valores de G' y G'' más elevados respecto de los menos concentrados (LH y IH) para todos los tiempos de almacenamiento, debido a su mayor concentración de sólidos, entre ellos la goma xántica.

Analizando los cambios de cada dulce durante el almacenamiento, se observó en todos los casos un aumento de ambos módulos (G' y G'') con el tiempo, siendo más pronunciado para el módulo de almacenamiento G' , lo cual indicaría un refuerzo de la estructura del sistema. Los productos que presentaron mayor variación con el tiempo de almacenamiento fueron los de menor contenido de humedad (Lh y lh), concordando con el comportamiento de flujo mostrado. Esto podría explicarse ya que la reestructuración o el refuerzo de estructura que es posible que ocurra durante el almacenamiento, se verían favorecidos en sistemas más concentrados, donde las macromoléculas tienen mayores posibilidades de interactuar.

Ensayos de esfuerzo oscilatorio

Los ensayos oscilatorios dinámicos mostraron para todos los dulces estudiados, que los valores de G' fueron superiores a G'' en todo el rango de frecuencias ensayado, sin embargo no se observó la aparición de un mínimo en G'' ; este tipo de comportamiento se lo suele designar como estructura tipo gel débil, el cual es característico de las dispersiones de goma xántica.

A altas frecuencias, los dulces fueron más firmes, debido probablemente al hecho de que es necesario algún grado de relajación para el reordenamiento estructural de los hidratos de carbono y proteínas (Kulmyrzaev y McClements, 2000). A bajas frecuencias, las moléculas tienen tiempo suficiente para reorganizarse a sí mismas y por lo tanto el sistema se comporta más como un fluido, mientras que a frecuencias más altas, las moléculas no disponen de tiempo suficiente para el reordenamiento, lo cual resulta en una estructura más similar a un sólido (Ahmed y col., 2006).

Con el fin de comparar los dulces 0% lípidos elaborados y analizados en este Capítulo con los dulces comerciales estudiados en el Capítulo 3, a modo de ejemplo se presentan en la Figura 5-4 los barridos de frecuencia correspondientes al dulce 0% lípidos (dulce Lh), a un dulce comercial light (M5) y a otro tradicional (M2). Puede observarse que, si bien, el dulce elaborado Lh presentó un comportamiento diferente al producto tradicional, sus características viscoelásticas son similares al producto comercial light.

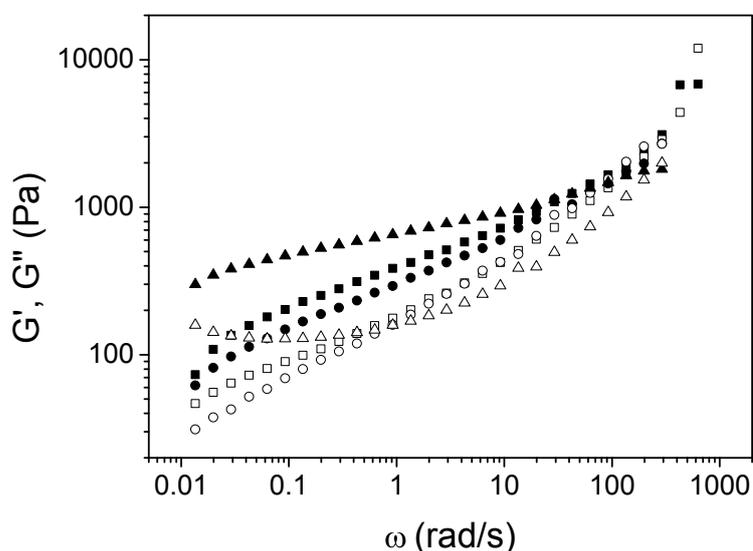


Figura 5-4. Barridos de frecuencia correspondientes al dulce de leche 0% lípidos Lh ($\blacksquare G'$, $\square G''$), y dulces comerciales light M5 ($\bullet G'$, $\circ G''$) y tradicional M2 ($\blacktriangle G'$, $\triangle G''$).

Modelado de los barridos de frecuencia. Ley de la potencia

El modelo de la ley de la potencia es frecuentemente utilizado para modelar la dependencia de G' y G'' con la frecuencia. Diferentes autores lo han utilizado ajustándolo a los datos experimentales de dichos módulos correspondientes a diferentes muestras. Así, Ahmed y col., (2006) ajustaron satisfactoriamente el modelo de la ley de la potencia a barridos de frecuencia de caramelo (producto a base de jarabe de maíz, sacarosa, leche evaporada, aislado de proteína de suero y aceite de palma), mientras que Miccolo y col. (2009) lo ajustaron a datos experimentales obtenidos en suspensiones de proteínas de suero y geles con agregado de hidratos de carbono. Asimismo, Navarro y col. (1999) aplicaron ecuaciones del tipo ley de la potencia para modelar los comportamientos de G' y G'' de dulce de leche con la frecuencia.

Las expresiones correspondientes al modelo de la ley de la potencia para los módulos de almacenamiento y pérdida son:

$$G' = a\omega^x \quad \text{Ec. 5-3}$$

$$G'' = b\omega^y \quad \text{Ec. 5-4}$$

donde los coeficientes **a** y **b** representan la magnitud de G' y G'' , respectivamente, a una frecuencia dada, y los exponentes **x** e **y** representan la pendiente de la relación entre los módulos y la frecuencia. Así, un exponente **x** cercano a 0 significa que G' no cambia con la frecuencia, lo que representa un comportamiento característico de gel puro (Meza, 2009).

La ley de la potencia fue ajustada a los datos experimentales de G' y G'' obtenidos de los dulces analizados en este Capítulo. En la Figura 5-5 se muestran, a modo de ejemplo, los valores experimentales de G' y G'' de los dulces LH y lh (ambos con 4 meses de almacenamiento), y el ajuste de los mismos con las Ec. 5-3 y 5-4. Si bien este modelo es matemáticamente sencillo y se compone sólo de dos parámetros, los errores porcentuales resultaron elevados y de la observación de los datos es evidente que el ajuste es apenas adecuado a valores altos de los módulos y fracasa completamente a valores bajos. En consecuencia, se continuó trabajando con el modelo de Maxwell para ajustar los datos experimentales de los barridos de frecuencia.

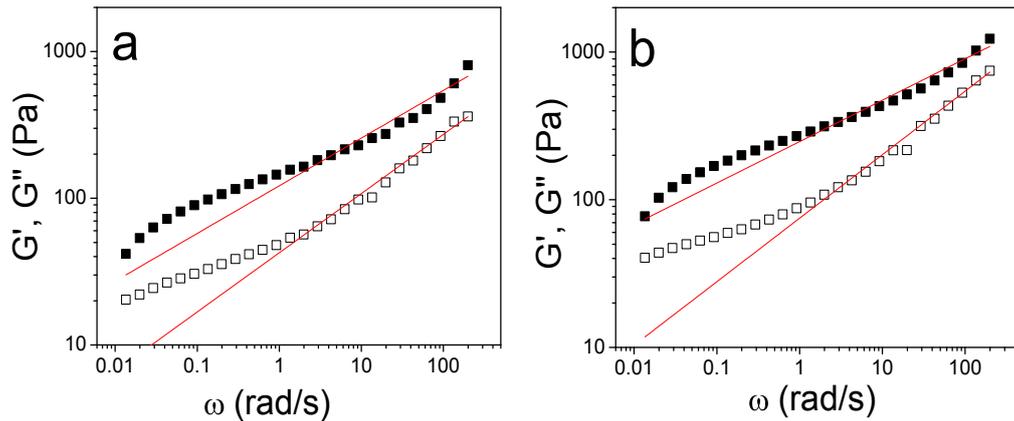


Figura 5-5. Barridos de frecuencia experimentales y su respectivo ajuste del modelo de la ley de la potencia (—) correspondientes a dulce de leche 0% lípidos: a) LH y b) lh, ambas con 4 meses de almacenamiento (■G', □G'').

Modelo generalizado de Maxwell. Espectro de relajación discreto

En el modelo de Maxwell generalizado para n elementos se pueden obtener expresiones generales para las componentes real y compleja del módulo de relajación cuando se aplica una deformación sinusoidal, así para el módulo elástico o de almacenamiento (G') se tiene la Ec. 1-28 y para el módulo de pérdida (G'') la Ec. 1-29 del Capítulo 1. Deben mantenerse un número mínimo pero suficiente de tiempos de relajación, N y se ajustan entonces N parámetros G_i, λ_i , para un conjunto de M valores experimentales, $G'(\omega_j), G''(\omega_j)$, en función de la frecuencia, siendo necesariamente $N < M$.

Si bien el software IRIS permite obtener el espectro de relajación discreto (G_i) para determinados valores de λ_i , los valores de los tiempos de relajación característicos regresionados no necesariamente coinciden para cada juego de datos, lo que dificulta la comparación de los módulos de relajación obtenidos, por lo tanto, primero se regresionaron los tiempos y módulos característicos para todas las muestras mediante IRIS, y del análisis de los tiempos predichos, se fijaron 6 valores de λ_i (0.01 s, 0.1 s, 0.7 s, 4.5 s, 35 s y 2100 s) en base a los obtenidos con el software IRIS. Aplicando posteriormente un procedimiento iterativo utilizando la herramienta solver de Excel, se minimizó la varianza relativa (Mours y Winter, 2000) mediante la siguiente expresión:

$$s^2 = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M \left(\left[\frac{G'_{j,exp} - G'_{j,teórico}}{G'_{j,exp}} \right]^2 + \left[\frac{G''_{j,exp} - G''_{j,teórico}}{G''_{j,exp}} \right]^2 \right) \tag{Ec. 5-5}$$

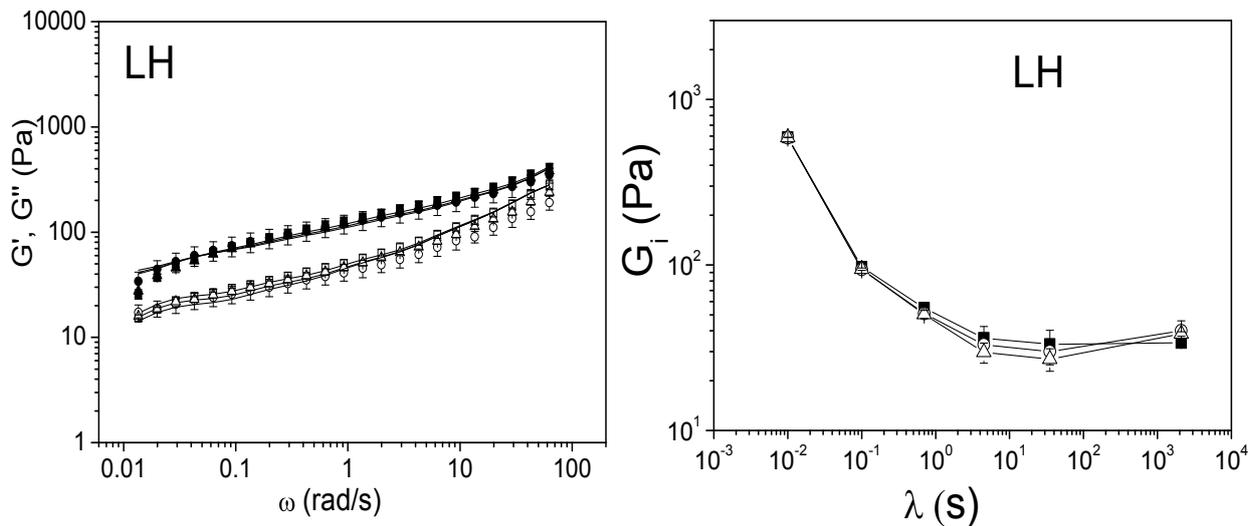
Sustituyendo por las expresiones de las Ec. 1-28 y 1-29 (G' y $G'' = f(G_i, \lambda_i)$), se obtuvo:

$$s^2 = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M \left(\left[1 - \frac{1}{G_{\text{exp}}'}(\omega_j) \sum_{i=1}^N \frac{G_i(\omega_j \lambda_i)^2}{1 + (\omega_j \lambda_i)^2} \right]^2 + \left[1 - \frac{1}{G_{\text{exp}}''(\omega_j)} \sum_{i=1}^N \frac{G_i(\omega_j \lambda_i)}{1 + (\omega_j \lambda_i)^2} \right]^2 \right) \quad \text{Ec. 5-6}$$

calculándose los módulos de relajación G_i correspondientes, para cada replicado de cada dulce. Finalmente se promediaron los G_i obtenidos para cada tiempo de relajación.

Si bien la desviación estándar entre el ajuste y los datos experimentales decrece significativamente a medida que se toman más elementos de Maxwell, Mours y Winter (2000) establecieron que el número óptimo de elementos por década es 1.5, ya que es el menor número de elementos de Maxwell posibles que presenta un ajuste satisfactorio. Teniendo en cuenta lo mencionado previamente, para los espectros mecánicos del presente Capítulo, se utilizaron 6 elementos de Maxwell para ajustar los valores experimentales de G' y G'' en 4 décadas de frecuencia de oscilación.

En la Figura 5-6 se presentan los valores del módulo de almacenamiento y del módulo de pérdida a 25 °C en función de la frecuencia para los dulces de leche 0% lípidos (LH, Lh, IH y lh) y los espectros de relajación correspondientes, donde para una mejor visualización de los gráficos, sólo son mostrados los tiempos 0, 1 y 6 meses.



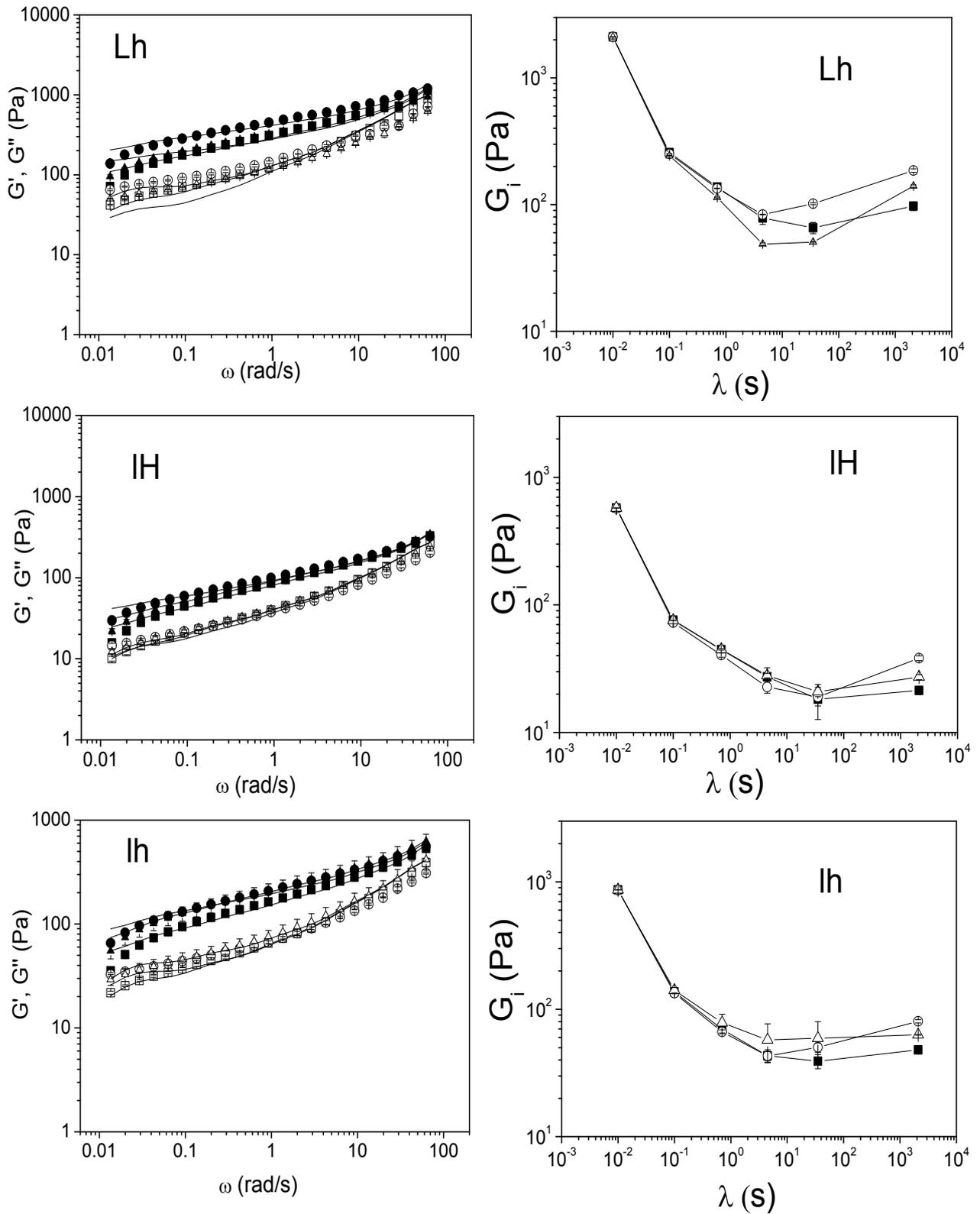


Figura 5-6. Barridos de frecuencia y el correspondiente ajuste del modelo de Maxwell generalizado (izq) y espectros mecánicos discretos obtenidos (der) para los cuatro dulces analizados (LH, Lh, IH y lh) correspondientes al tiempo inicial ($\blacksquare G'$, $\square G''$; $\blacksquare G'_i$), 1 mes ($\blacktriangle G'$, $\triangle G''$; $\triangle G'_i$) y 6 meses de almacenamiento ($\bullet G'$, $\circ G''$; $\circ G'_i$). Barras verticales indican el error estándar.

Las curvas expuestas en la Figura 5-6 fueron cualitativamente similares mostrando una leve dependencia de G' y G'' con la frecuencia para todos los dulces estudiados. Tanto a bajas como a altas frecuencias de oscilación, las curvas de los módulos G' y G'' se acercaron entre sí, pero no se detectó su intersección. El G_i , que es un índice del proceso de relajación en un momento determinado, indica diferentes estructuras macromoleculares presentes en la muestra. El proceso de relajación en los dulces 0% lípidos analizados, podría separarse en dos fases, una que ocurre en períodos de tiempo cortos (10^{-2} s – 10 s) y otra en períodos de tiempo más largos (10 s - 10^3 s), observándose las diferencias con el tiempo más marcadas en esta última fase (Figura 5-6). En todos los casos el espectro de relajación pasa por un mínimo; separando dos conjuntos de tiempos de relajación correspondientes a los movimientos de las moléculas dentro las zonas entrecruzadas y a los movimientos relativos de los entrecruzamientos (Ferry, 1980). Los tiempos de relajación más largos se asocian con las moléculas más grandes.

Respecto a los cambios en el comportamiento reológico de los dulces 0% lípidos durante el almacenamiento, se evidenció que la forma de los espectros de tiempo de relajación se mantuvo, observándose un incremento de los G_i correspondientes a largos tiempos de relajación λ_i ; asimismo, para el tiempo de relajación 2100 s, los cuatro productos mostraron una clara tendencia a aumentar G_i con el tiempo de almacenamiento.

El incremento en el valor de la pendiente de la región plateau ($\lambda > 10$ s) se relaciona con el desarrollo de una red más entrecruzada por lo que los cambios observados en la reología del sistema podrían estar relacionados con el acomodamiento (annealing) de las moléculas de goma xántica (Iseki y col., 2001) o de los agregados proteicos. Sin embargo, según Hemar y col. (2001) no podría ser atribuido a interacciones entre las proteínas de leche con la goma xántica, ya que estos autores no han detectado interacciones entre estos tipos de macromoléculas en mezclas estudiadas, e informaron que a pH cercanos al neutro, las cargas negativas de las caseínas y de las moléculas de xántica ocasionarían una repulsión neta que conduciría a una incompatibilidad termodinámica. Sin embargo, Quintana y col. (2004) no encontraron cambios significativos en dispersiones de goma xántica (1%), por lo que probablemente los cambios microestructurales estén relacionados con las interacciones proteína-proteína o bien proteína-polisacárido.

Estimación de funciones materiales

Una vez conocido el espectro de tiempos de relajación, pueden calcularse otras funciones materiales, tales como viscosidad a cero esfuerzo de corte (η_0), el módulo plateau (G_N^0), módulo de equilibrio (G_e), la dispersión entre los módulos G_N^0 y G_e (f) y el factor de amortiguación de las oscilaciones de la red (k). Dichos parámetros fueron calculados según

las siguientes expresiones y presentados en la Tabla 5-6 (Jackson y col., 1994, Orczykowska y Dziubiński, 2014):

$$\eta_0 = \sum (G_i \lambda_i) \quad \text{Ec. 5-7}$$

$$G_N^0 = \sum (G_i) \quad \text{Ec. 5-8}$$

$$G_e = \frac{(\sum G_i \lambda_i)}{(\sum G_i \lambda_i^2)^2} \quad \text{Ec. 5-9}$$

$$f = \frac{G_N^0}{G_e} \quad \text{Ec. 5-10}$$

$$k = \frac{(G_N^0 - G_e)}{G_e} \quad \text{Ec. 5-11}$$

El tiempo de almacenamiento y la interacción composición x tiempo de almacenamiento, afectaron significativamente la viscosidad a cero esfuerzo de corte, η_0 . El efecto del tiempo de almacenamiento fue mayor entre el tiempo inicial y el primer mes, asimismo, dicho efecto fue más pronunciado para las formulaciones de menor contenido acuoso y mayor proporción de hidrocoloide (Lh y lh), concordando con lo observado en las curvas de flujo de los sistemas (Figura 5-1).

Tabla 5-6. Funciones materiales obtenidas a partir del espectro discreto de tiempos de relajación de dulces 0% lípidos (DL) elaborados con leche descremada de contenido de lactosa normal (LH y Lh) y reducido (IH y lh) a diferentes tiempos de almacenamiento a 20 °C*.

DL		Tiempo (meses)						
		0	1	2	3	4	5	6
η₀ (Pa.s)	LH	7.2x10 ^{4jkl}	8.2x10 ^{4ijk}	9.3x10 ^{4hi}	8.8x10 ^{4hij}	1.0x10 ^{5h}	1.1x10 ^{5h}	1.1x10 ^{5h}
	Lh	2.1x10 ^{5e}	3.0x10 ^{5d}	3.5x10 ^{5bc}	3.6x10 ^{5b}	3.5x10 ^{5bc}	3.3x10 ^{5c}	3.9x10 ^{5a}
	IH	4.6x10 ^{4m}	5.8x10 ^{4lm}	6.0x10 ^{4lm}	7.1x10 ^{4jkl}	7.1x10 ^{4jkl}	6.5x10 ^{4kl}	8.1x10 ^{4ijk}
	lh	1.0x10 ^{5h}	1.3x10 ^{5g}	1.3x10 ^{5g}	1.8x10 ^{5f}	1.7x10 ^{5f}	1.6x10 ^{5f}	1.7x10 ^{5f}
G_N⁰ (Pa)	LH	8.46x10 ^{2hi}	8.30x10 ^{2hjk}	8.67x10 ^{2hi}	8.43x10 ^{2hi}	8.76x10 ^{2h}	8.31x10 ^{2hij}	8.13x10 ^{2hijkl}
	Lh	2.75x10 ^{3bc}	2.70x10 ^{3c}	2.77x10 ^{3b}	2.75x10 ^{3bc}	2.74x10 ^{3bc}	2.74x10 ^{3bc}	2.86x10 ^{3a}
	IH	7.63x10 ^{2lm}	7.72x10 ^{2klm}	7.68x10 ^{2lm}	7.48x10 ^{2m}	7.66x10 ^{2lm}	7.73x10 ^{2jklm}	7.67x10 ^{2lm}
	lh	1.20x10 ^{3g}	1.26x10 ^{3ef}	1.34x10 ^{3d}	1.31x10 ^{3de}	1.34x10 ^{3d}	1.22x10 ^{3fg}	1.24x10 ^{3fg}
G_e (Pa)	LH	35.21 ^{kl}	39.44 ^{ijk}	45.02 ^{hi}	42.30 ^{hij}	51.03 ^h	51.17 ^h	50.92 ^h
	Lh	100.05 ^e	142.20 ^d	166.52 ^{bc}	171.77 ^b	167.30 ^{bc}	159.23 ^c	189.66 ^a
	IH	22.08 ^m	28.05 ^{lm}	29.21 ^{klm}	34.17 ^{jkl}	34.28 ^{ijkl}	31.45 ^{kl}	38.96 ^{ijk}
	lh	49.48 ^h	65.43 ^g	63.08 ^g	85.06 ^f	85.11 ^f	78.67 ^f	82.46 ^f
f	LH	24.15 ^{cde}	21.06 ^{efg}	19.25 ^{fghi}	19.93 ^{fgh}	17.16 ^{ghij}	16.24 ^{hij}	16.03 ^{hij}
	Lh	27.77 ^b	19.01 ^{fghij}	16.66 ^{hij}	16.00 ^{hij}	16.43 ^{hij}	17.21 ^{ghij}	15.11 ^{ij}
	IH	34.93 ^a	27.57 ^{bc}	26.28 ^{bcd}	21.89 ^{ef}	22.36 ^{def}	24.62 ^{bcde}	19.80 ^{fgh}
	lh	24.58 ^{bcde}	19.34 ^{fghi}	21.28 ^{efg}	15.37 ^{ij}	15.79 ^{hij}	15.51 ^{ij}	15.03 ^j
k	LH	23.15 ^{cde}	20.06 ^{efg}	18.25 ^{fghi}	18.93 ^{fgh}	16.16 ^{ghij}	15.24 ^{hij}	15.03 ^{hij}
	Lh	26.77 ^b	18.01 ^{fghij}	15.66 ^{hij}	15.00 ^{hij}	15.43 ^{hij}	16.21 ^{ghij}	14.11 ^{ij}
	IH	33.93 ^a	26.57 ^{bc}	25.28 ^{bcd}	20.89 ^{ef}	21.36 ^{def}	23.62 ^{bcde}	18.80 ^{fgh}
	lh	23.58 ^{bcde}	18.34 ^{fghi}	20.28 ^{efg}	14.37 ^{ij}	14.79 ^{hij}	14.51 ^{ij}	14.03 ^j

*Supraíndices iguales indican que no hay diferencia significativa entre las medias (P>0.05)

El módulo plateau (G_N⁰) representa el poder de entrecruzamiento de la estructura. Valores altos de este módulo indican un alto grado de entrecruzamiento y un potencial retardo en el proceso de envejecimiento de la red. El análisis estadístico arrojó que la composición, el tiempo y la interacción de los mismos fueron significativos en los valores del módulo plateau (Figura 5-7).

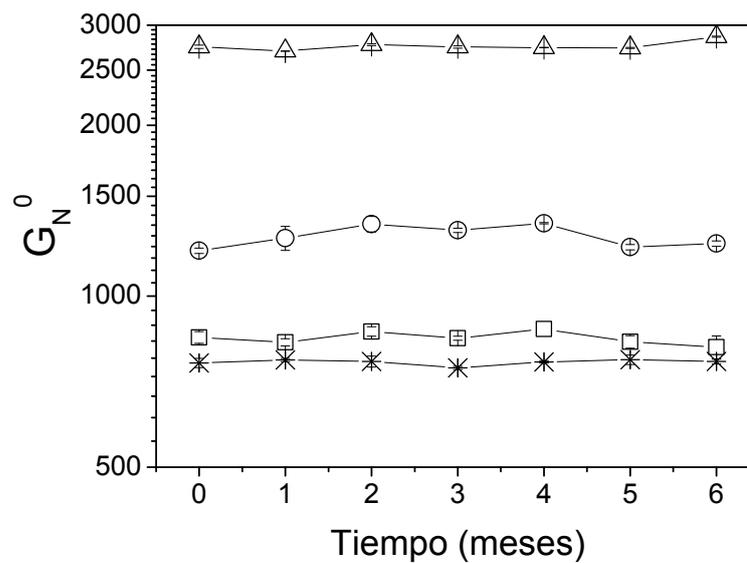


Figura 5-7. Módulo plateau (G_N^0) en función del tiempo de almacenamiento a 20 °C para los DL 0% lípidos estudiados LH (□), Lh (Δ), IH (*) y lh (○). Barras verticales indican el error estándar.

En general (para todos los tiempos), se observó un valor significativamente más alto del módulo plateau en productos con menor contenido de agua y, por lo tanto, mayor contenido de sólidos (Lh y lh) lo que refleja una disminución de la movilidad molecular (Ferry, 1980) por una mayor proporción de sitios reactivos capaces de generar puntos de ramificación necesarios para la formación de la red entrecruzada (Clark y col., 2001). Asimismo, entre dulces con igual contenido acuoso (LH y IH), el módulo plateau fue significativamente mayor para el producto con mayor contenido de lactosa (LH). Esta tendencia coincidió con el comportamiento de los parámetros σ_0 y K del modelo de HB y la viscosidad a $\dot{\gamma}' = 7.2 \text{ s}^{-1}$. Puede verse que en las formulaciones de menor contenido acuoso el tiempo de almacenamiento presentó un efecto más marcado sobre el módulo plateau, resultando más importante durante los primeros meses de almacenamiento, coincidiendo con los resultados obtenidos en el análisis de los ensayos de fluencia.

La función material G_e , módulo de elasticidad de equilibrio, representa el estado sólido viscoelástico de un resorte adicional unido en serie a un elemento de Maxwell; es el valor al que tiende el módulo elástico del material cuando el tiempo de relajación tiende a infinito. Valores altos de G_e indican importantes propiedades elásticas y representa la elasticidad de la red formada. Para esta función material, la composición, el tiempo y la interacción resultaron significativos. El aumento más marcado en G_e con el tiempo de almacenamiento

se observó entre el tiempo inicial y el primer mes en el caso de Lh y lh, coincidiendo con los cambios observados en el parámetro σ_0 del modelo de HB y la viscosidad a cero esfuerzo de corte (η_0), mientras que para los dos productos restantes G_e se incrementó levemente entre los 2 y 3 meses de almacenamiento.

Para las funciones f , dispersión entre los módulos G_N^0 y G_e (que indica cuántas veces se produjo una reorganización estructural sobre las frecuencias de oscilación analizadas ω), y k , factor de amortiguación de las oscilaciones de la red (que indica en qué medida la estructura del medio es resistente a las vibraciones desde el exterior y representa la diferencia entre el poder de entrecruzamiento de la estructura, G_N^0 , y la elasticidad de la red, G_e), únicamente la composición y el tiempo de almacenamiento fueron significativos. Ambas funciones reflejan claramente el fuerte aumento del módulo de elasticidad de equilibrio durante el almacenamiento.

Viscosidad compleja

Con la finalidad de analizar si los dulces de leche 0% lípidos elaborados cumplen con la regla de Cox-Merz, se compararon la viscosidad compleja en función de la frecuencia (η^* vs. ω , obtenida a partir de los ensayos dinámicos) y la viscosidad en estado estacionario (η vs. $\dot{\gamma}$). La regla de Cox-Merz confirma la superposición de la dependencia de la viscosidad en estado estacionario (η) con la velocidad de deformación, y la dependencia de la amplitud de la viscosidad compleja (η^*) con la frecuencia a valores iguales de frecuencia angular (ω) y velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$) según la expresión:

$$\eta^*(\omega) = \eta(\dot{\gamma}) \mid \omega = \dot{\gamma} \quad \text{Ec. 5-12}$$

En la Figura 5-8 se muestran ambas curvas para los distintos productos estudiados. Si bien en nuestro caso no coinciden exactamente los valores de velocidad de deformación y frecuencia angular de los dos tipos de ensayos, se observa que ambas curvas son prácticamente paralelas, pero desplazadas una con respecto a la otra.

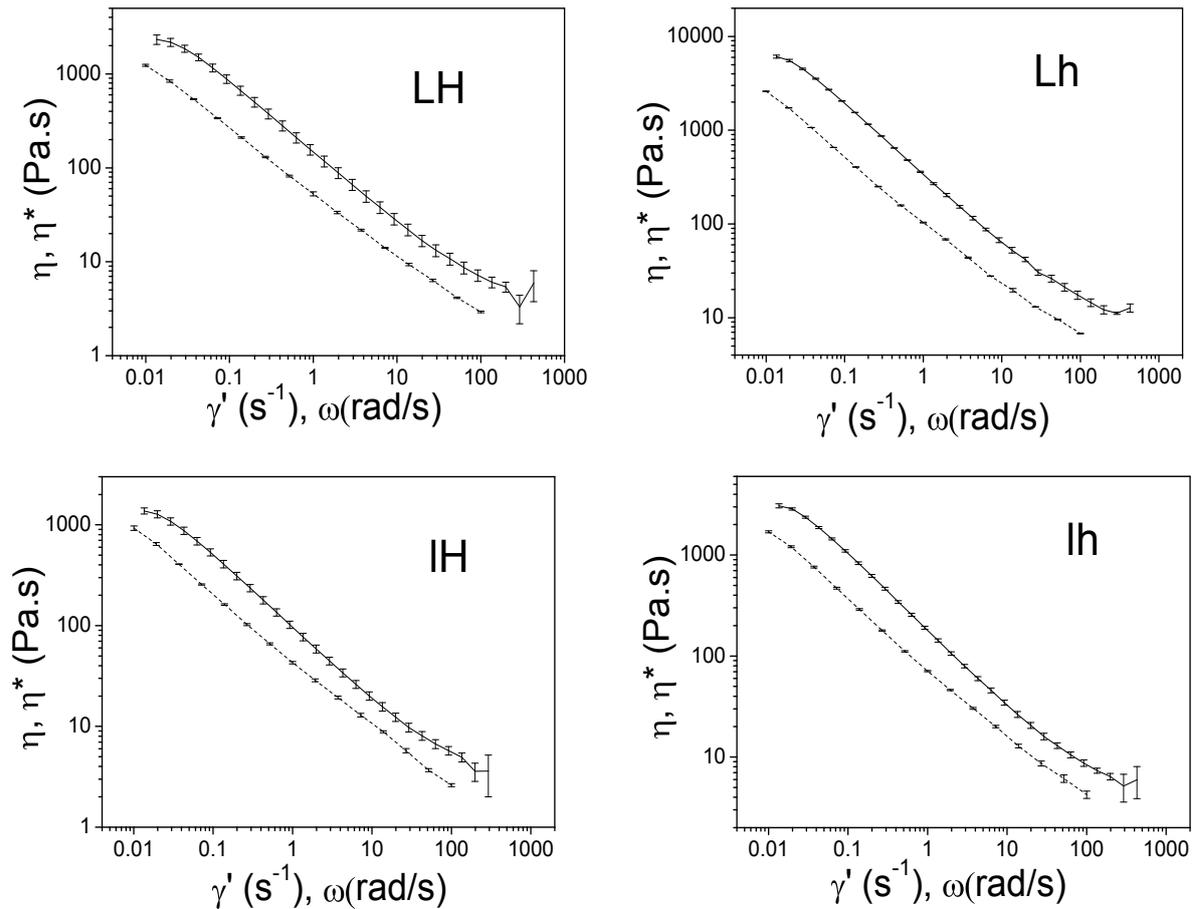


Figura 5-8. Viscosidad compleja (η^*) vs. frecuencia (ω) (línea continua) y viscosidad aparente (η) vs. velocidad de deformación (γ') (línea punteada), para los distintos dulces de leche 0% lípidos (LH, Lh, IH y lh) al inicio del almacenamiento.

Como puede observarse, los dulces analizados no obedecen la regla de Cox-Merz debido a que las viscosidades complejas (η^*) resultaron mayores que las viscosidades en estado estacionario (η) correspondientes. Los valores menores de viscosidad en estado estacionario se atribuyen frecuentemente a una destrucción estructural que tiene lugar en los ensayos de cizalla estacionaria. Por otra parte, los valores de viscosidad compleja son superiores debido a que los ensayos oscilatorios se llevan a cabo dentro del rango de viscoelasticidad lineal, donde no se produce destrucción estructural.

En general, la regla de Cox-Merz no suele cumplirse en sistemas muy estructurados (Bistany y Kokini, 1983), por lo que puede constituir un criterio para distinguir entre disoluciones poliméricas o agregados de tamaño similar (por ej. micelas) y sistemas estructurados. Para este último tipo de sistemas se ha propuesto la denominada regla de Cox-Merz modificada o extendida (Gaudin y col., 1999) basada en un modelo que supone el cumplimiento de la Ley de Hooke a esfuerzos de cizalla inferiores al esfuerzo de excedencia

y de la ecuación de Herschel-Bulkley a esfuerzos superiores. La modificación lineal de la regla de Cox-Merz se puede expresar matemáticamente como:

$$\eta^*(\alpha\omega) = \eta(\gamma') \mid \omega = \gamma' \quad \text{Ec. 5-13}$$

donde, α es el factor de corrección. Se establece la existencia de una relación lineal entre la viscosidad aparente y la compleja para igualdad de velocidad de deformación y frecuencia y, por lo tanto, es posible determinar un factor de corrección de la frecuencia (α) que multiplicado por la frecuencia produce una superposición de las dos series de datos haciendo que estos sigan una única línea recta. En los casos en que la velocidad de deformación por cizalla cause una severa destrucción estructural no se cumplirá la regla de Cox-Merz. No obstante, la comparación de las viscosidades compleja y dinámica con la viscosidad correspondiente al flujo estacionario permite evaluar el grado de destrucción estructural inducido por la cizalla.

Doraiswamy y col. (1991) presentaron un tratamiento teórico para datos de suspensiones de polímeros sintéticos, y sugirieron que la regla de Cox-Merz podría aplicarse a productos con umbral de fluencia. Para productos alimenticios, se ha observado que la regla de Cox-Merz se ha cumplido en algunos casos, tales como en disoluciones diluidas de almidón (Chamberlain y Rao, 2000), disolución acuosa de un polisacárido extracelular purificado (Oba y col., 2000) y dispersiones de goma de algarrobo y pectina de bajo metoxilo (Lopes da Silva y col., 1993).

La modificación no lineal de la regla de Cox-Merz, también se ha aplicado para algunos productos alimenticios como pasta de tomate y masa de harina de trigo (Berland y Launay, 1995; Doraiswamy y col., 1991; Rao y Cooley, 1992), compota de manzana, mostaza y margarina (Bistany y Kokini, 1983). Esta relación tiene la siguiente forma:

$$|\eta^*(\omega)| = C\eta(\gamma')^\alpha \mid \omega = \gamma' \quad \text{Ec. 5-14}$$

donde, C y α son constantes determinadas experimentalmente. Cuando $\alpha = 1$ (curvas paralelas), esta relación se reduce a la modificación lineal de la regla de Cox-Merz. El valor de C es equivalente en estos casos a un factor de desplazamiento, usado por otros autores (Berjano y col., 1991).

De la observación gráfica de la Figura 5-8, puede notarse que en el presente Capítulo dicho coeficiente C adoptaría valores entre 2 y 3, siendo más notable la diferencia entre ambas curvas para el dulce Lh, lo cual puede interpretarse como que dicho producto es el que ha sufrido mayor daño estructural al ser sometido a los ensayos de cizalla.

Comportamiento global durante el almacenamiento de los dulces de leche 0% lípidos

De todos los análisis reológicos realizados, puede verse que, tanto los parámetros desprendidos de los ensayos de flujo (la estructura de la muestra se destruye), como los que surgieron de los ensayos dinámicos (realizados en el rango de viscoelasticidad lineal, por lo que la muestra no sufre destrucción de su estructura), mostraron que los dulces con menor contenido de agua y mayor proporción de goma xántica, proteínas lácteas y azúcares (Lh y lh) presentaron un mayor cambio en su estructura entre el primer y segundo mes de almacenamiento respecto a los productos de alto contenido acuoso (LH y IH), aumentando su viscosidad y componente elástica. Para un mismo contenido acuoso (LH y IH), ambos tipos de ensayo mostraron que el dulce con mayor contenido de lactosa (LH) posee una estructura más firme y mayor viscosidad.

Según Rozycki (2008), en los productos lácteos suelen producirse reordenamientos estructurales durante el almacenamiento, producto de la interacción entre la β -lactoglobulina con la κ -caseína, y de la α -lactoalbúmina con la β -lactoglobulina y el complejo β -lactoglobulina/ κ -caseína (ya que la α -lactoalbúmina no puede unirse a la κ -caseína en forma directa). Sobre estos reordenamientos influyen diversas variables: pH, temperatura inicial del tratamiento térmico (antes de elaborar el producto), concentración de proteínas, etc. Los reordenamientos durante el almacenamiento producen aumento de distintos parámetros fisicoquímicos, texturales y reológicos (viscosidad, consistencia, dureza, resistencia máxima inicial). Sin embargo, a veces dichos cambios no son detectados porque el tiempo de almacenamiento no es suficientemente largo. En presencia de hidrocoloides, estos cambios se potencian, por interacción de los mismos entre ellos, y con componentes de la leche, dependiendo de varios factores como concentración y tipo de hidrocoloide (neutro, con carga, ramificado, etc.), posible interacción con la matriz alimentaria, capacidad de disolución del hidrocoloide, etc (Comeron, 2012). Asimismo, en el dulce de leche hay otros factores que pueden contribuir a aumentar la viscosidad durante su almacenamiento, así la glucosa agregada puede polimerizar en ese período disminuyendo la fluidez del producto. Esta polimerización depende de varios factores: cuanto antes se agregue la glucosa durante la elaboración del DL más polimeriza y más aumenta la viscosidad, por otra parte, si se aumenta el porcentaje de glucosa agregada también es mayor el aumento en la viscosidad (Rozycki, 2008).

Debido a dichos reordenamientos estructurales los productos se tornan más firmes, sin embargo estos cambios no perjudicarían las características esperadas para los sistemas estudiados en el presente Capítulo, dado que dichas modificaciones son mínimas en relación a los comportamientos reológicos que usualmente presentan este tipo de producto. Con el fin de apreciar la magnitud de estos cambios, se presenta en la Figura 5-9 el

comportamiento de flujo obtenido para el dulce Lh, el que fue más afectado por el almacenamiento, junto al comportamiento de productos comerciales tradicional y light (evaluados en el Capítulo 1).

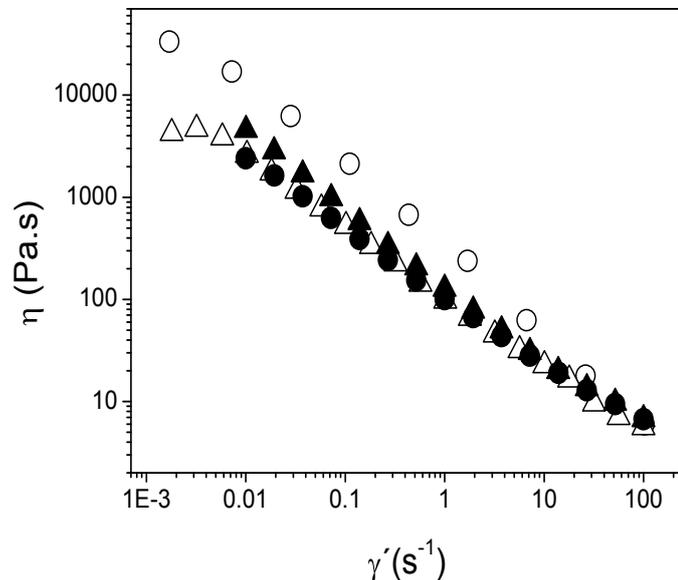


Figura 5-9. Curvas de flujo correspondientes a: dulce Lh a tiempo inicial (●) y 6 meses (▲) de almacenamiento, DL comercial tradicional M2 (○) y DL comercial light M5 (Δ).

Estas pequeñas variaciones en el comportamiento reológico a lo largo del almacenamiento, difícilmente serían detectadas por los consumidores. Los productos elaborados y analizados, por lo tanto, presentaron adecuadas características reológicas y microbiológicas, sin presentar además desarrollo de cristales, aún empleando leche sin tratamiento enzimático, durante los 6 meses de almacenamiento a 20 °C.

5.5 Conclusiones parciales

✓ Se obtuvieron dulces de leche 0% lípidos según características de viscosidad buscadas, con un contenido de humedad entre 35.9-40.4% y de goma xántica entre 0.199-0.214%, obteniendo un rendimiento de 37-40%.

✓ El pH de los productos se mantuvo sin importantes variaciones durante todo el período de almacenamiento, con valores en el rango correspondiente a muestras comerciales.

✓ No se observó desarrollo de cristales de lactosa en los 6 meses de almacenamiento a 20 °C, tanto en los dulces elaborados con leche de lactosa reducida como normal, lo que hace a los productos sensorialmente aceptables.

✓ La calidad microbiológica de todos los productos se mantuvo adecuada hasta el final del almacenamiento.

✓ Los dulces mostraron un comportamiento pseudoplástico y las curvas de flujo fueron modeladas satisfactoriamente con el modelo de Herschel-Bulkley. El umbral de fluencia y la consistencia resultaron mayores en productos con menor contenido acuoso y, para dulces de igual humedad, ambos parámetros fueron mayores para producto de mayor contenido de lactosa. Se observó un aumento de ambos parámetros entre el primer y segundo mes de almacenamiento.

✓ Asimismo, la viscosidad aparente a $\dot{\gamma}' = 7.2 \text{ s}^{-1}$ presentó una tendencia similar respecto al umbral de fluencia y consistencia.

✓ Los barridos de frecuencia obtenidos para los dulces mostraron valores de los módulos elásticos (G') superiores a los módulos viscosos (G'') en todo el rango de frecuencias ensayado, sin aparición de un mínimo en G'' , típico de estructuras tipo gel débil.

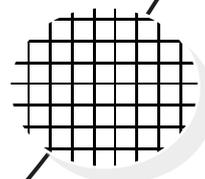
✓ Se obtuvo una buena predicción de los barridos de frecuencia empleando el modelo generalizado de Maxwell con 6 elementos.

✓ Se obtuvieron y analizaron funciones materiales (η_0 , G_N^0 , G_e , f y K) a partir del espectro discreto de tiempos relajación, de las cuales pudo obtenerse información estructural acerca de los productos analizados. Pudo observarse que el aumento en las características elásticas de los dulces de leche 0% lípidos ocurrió principalmente entre el primer y segundo mes de almacenamiento, lo cual podría atribuirse a cambios en la estructura del sistema, posiblemente por interacciones entre macromoléculas o bien polimerización de glucosa durante el almacenamiento.

✓ Durante el almacenamiento los dulces presentaron aumento en la viscosidad en estado estacionario, más marcado entre el tiempo inicial y el primer mes, sobre todo en los dulces de menos contenido acuoso y mayor contenido de xántica; asimismo el módulo plateau fue mayor en estos dulces, coincidiendo con lo observado en los parámetros de HB (σ_0 y K) y con la $\eta_{\dot{\gamma}'=7.2 \text{ s}^{-1}}$. Estos resultados indicarían un refuerzo o reestructuración del sistema con el tiempo, llegando a una conformación equilibrada entre el primer y segundo mes de almacenamiento.

**Estudios preliminares e inhibición de la oxidación lipídica
en dulce de leche enriquecido con ácidos grasos
insaturados**

Capítulo 6



6.1 Introducción

6.1.1 Perfil lipídico de los alimentos

Los hábitos alimentarios son los principales aspectos no genéticos relacionados con la salud que presentan un importante papel en la prevención de enfermedades (OMS, 2003). Consecuentemente, el conocimiento de la influencia que tiene la dieta en la salud y la identificación de ingredientes, procesos y desarrollos de aquellos alimentos que permitan maximizar los beneficios de la alimentación en la salud humana, resulta fundamental de cara a ofrecer productos alimentarios más saludables.

Los niveles elevados de colesterol sérico y de lipoproteínas de baja densidad (LDL) constituyen factores de alto riesgo de aterosclerosis y enfermedades coronarias. El grado de riesgo de éstos y otros factores puede variar, entre otros, según: el tipo y nivel de consumo de ácidos grasos, el porcentaje de energía que aporta el total de las grasas, el colesterol presente en los alimentos, los niveles de lipoproteínas, el consumo de antioxidantes y de fibra, los niveles de actividad física y el estado de salud.

Es por ello que existe una gran cantidad de estudios relativos a la modificación del perfil lipídico de los alimentos normalmente consumidos. Para ello diferentes estrategias han sido llevadas a cabo, como la sustitución parcial o total de la grasa animal por aceite vegetal o de pescado, empleo de frutos secos en la formulación y adición de fibra vegetal, entre otros. Dicho reemplazo de grasa animal por aceite vegetal es el objetivo o desafío que intenta mejorar el perfil de ácidos grasos del dulce lácteo objeto de esta Tesis, disminuyendo los saturados, presentes en el producto tradicional, proveniente de la leche, en favor de los insaturados, lográndose de esta forma un alimento capaz de ser ingerido por la población siguiendo las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2008) en cuanto a ingesta de lípidos.

Fuentes de ácidos grasos insaturados

En general las nueces y aceites vegetales, y el pescado, son fuentes de grasas insaturadas. La Tabla 6-1 presenta ejemplos de tipos específicos de fuentes de grasas insaturadas.

Tabla 6-1. Principales alimentos fuente de ácidos grasos insaturados (CDC Home, 2014).

Fuentes de AG mono-insaturados	Fuentes de AG poli-insaturados n-6	Fuentes de AG poli-insaturados n-3
Nueces		Aceite de soja
Aceite de canola	Aceite de soja	Aceite de canola
Aceite de oliva	Aceite de maíz	Nueces
Aceite de girasol	Aceite de girasol	Semillas de lino
Aceite de girasol alto oleico		Pescados

Diferentes autores han ensayado la incorporación de aceites ricos en ácidos grasos insaturados en productos tradicionales. Así Ye y col. (2009) incorporaron aceite de pescado en queso procesado, Pennisi Forell y col. (2010) adicionaron aceite de girasol alto oleico y de pescado en medallones de carne magros, Andrés y col (2009) y Marchetti y col. (2013) adicionaron aceite de origen marino en salchichas magras, Pavlovich-Abril y col. (2009) reemplazaron la margarina en masa de trigo por una mezcla de estearina de palma y aceite de canola.

Entre los aceites de origen vegetal, el aceite de oliva es reconocido por su adecuado perfil lipídico, dicho aceite ha sido incorporado a alimentos como la margarina (Flora-Oliva), mayonesa (Hellmann's, Unilever), pan (Delayan, Velarte, España), disponibles actualmente en el mercado nacional e internacional. Sin embargo, su aroma y sabor particular no serían adecuados en el producto final buscado. Por otro lado, el aceite de nuez pecan y el aceite de canola son muy buenas opciones ya que además de poseer un perfil lipídico rico en ácidos grasos insaturados, poseen aroma neutro o suave, más adecuados.

Aceite de canola

El aceite de canola es ahora el tercer aceite vegetal más consumido en el mundo. Es obtenido de las semillas molidas de plantas de canola, que contienen alrededor del 44% de aceite.

El aceite de canola se caracteriza por poseer un bajo nivel (7.5%) de ácidos grasos saturados (AGS), cantidades sustanciales de ácidos grasos mono-insaturados (AGMI) y poli-insaturados (AGPI), incluyendo ácidos oleico (61%), linoleico (21%) y alfa-linolénico (11%) (Dupont y col., 1989; Johnson y col., 2007), así como también esteroides vegetales (0.53-0.97%), y tocoferoles (700-1200 ppm) (Gunstone, 2011), todos los cuales son consideradas sustancias cardioprotectoras.

Se ha demostrado que las dietas a base de aceite de canola reducen los niveles de colesterol en plasma en comparación con las dietas que contienen niveles más altos de ácidos grasos saturados. El consumo de aceite de canola también influye en funciones biológicas que afectan otros biomarcadores de riesgo de enfermedades coronarias. Entre los efectos benéficos del consumo de aceite de canola se encontró una reducción sustancial en el colesterol total y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (colesterol-LDL, colesterol "malo"), así como aumento de niveles de tocoferoles y mejora de la sensibilidad a insulina, en comparación con el consumo de otras fuentes de grasa dietaria. La creciente evidencia científica apoya el uso de aceite de canola, más allá de sus acciones beneficiosas sobre los niveles de lípidos en sangre, como un componente de la dieta promotor de salud (Lin L. y col., 2013).

La Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos autorizó una declaración de salud certificada para el aceite de canola sobre su potencial para reducir el riesgo de padecer enfermedad cardíaca cuando se usa en vez de grasa saturada, y aceptó el aceite de canola como un componente de la dieta Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS) (FDA, 2006).

Aceite de nuez pecan

La nuez pecan (*Carya illinoensis*) pertenece a la familia *Juglandaceae*, originaria de Norte América. A principios de siglo XX su cultivo se extendió a varios países incluyendo México, Australia, Sudáfrica, Israel, Brasil y Argentina (Prado y col., 2013). Muy conocida en Estados Unidos como el árbol de nuez, fue originariamente el alimento esencial de los nativos que habitaron la región sur de ese país. Las nueces son fuente de ácidos grasos insaturados, proteínas, fibra, micronutrientes, vitaminas, y fotoquímicos (Yang, 2009).

El consumo de nueces ha sido asociado con una menor incidencia de mortalidad cardiovascular (Yang, 2009; Yang y col., 2009). Otros beneficios del consumo de nueces pueden resultar de su contenido en tocoferoles y sustancias polifenólicas. Estas sustancias son de interés debido a su potente capacidad antioxidante y a un posible efecto protector sobre la salud.

Las nueces pecan también juegan un papel en la reducción del colesterol. Una investigación clínica realizada por Rajaram y col. (2001) comparó la dieta con 28% de grasa, recomendado por la Asociación Americana del Corazón para los individuos con niveles altos de colesterol, y una dieta enriquecida con nuez pecan (40% de grasa). Los resultados mostraron que la segunda dieta, redujo el colesterol total en un 11.3 % y los niveles de colesterol-LDL en un 16.5%, el doble de la dieta con 28% grasa, sin aumento de peso asociado.

El aceite de pecan es el aceite comestible obtenido por prensada de la nuez pecan. Es considerada saludable para el corazón en las Guías Alimentarias (USDA, 2010), que recomiendan mantener la ingesta de grasa de los estadounidenses entre un 20 y 35 % de las calorías totales ingeridas, con la mayoría de grasas provenientes de fuentes saludables para el corazón, como el pescado, las nueces y los aceites vegetales. Además, las nueces no contienen grasas trans (NPSA, 2014). Tiene muy poca grasa saturada (9%), un 30 % de grasa poli-insaturadas. y casi el 60% mono-insaturadas, especialmente oleico (59.2%). Además, contiene ácido palmítico (6.3%), esteárico (2.5%), linoleico (30%), y linolénico (1.4%) (USDA, 2015). El balance general de sus ácidos grasos ayuda a reducir el LDL-colesterol y el riesgo de enfermedades cardíacas.

Presenta sabor neutro. Su elevado punto de humo (243 °C) lo hace ideal para cocciones a altas temperaturas y frituras, pero dado su elevado contenido de insaturados constituye un

sustrato particularmente susceptible a la oxidación lipídica. La adición de antioxidantes, en su mayoría sintéticos, es un procedimiento tecnológico habitual ya que mejora la estabilidad de los lípidos y prolonga la vida útil de los alimentos que los contienen. El empleo de antioxidantes naturales es una alternativa actualmente muy considerada.

En la Figura 6-1 se compara el contenido de ácidos grasos saturados, mono-insaturados y poli-insaturados de la grasa láctea, del aceite de canola y aceite de nuez pecan. La fracción saturada de ambos aceites es muy inferior a la de la grasa de leche, siendo de más del doble su fracción mono-insaturada. Puede observarse además, que la grasa láctea posee una relación de ácidos grasos saturados/insaturados mucho más elevada respecto a la de los aceites de nuez pecan y canola, lo cual muestra claramente las diferencias en composición de las diferentes fracciones lipídicas.

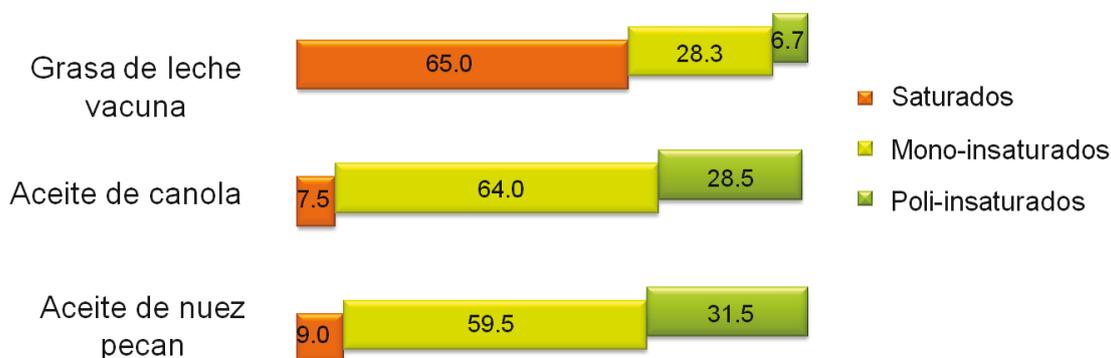


Figura 6-1. Contenido porcentual de ácidos grasos saturados, mono-insaturados y poli-insaturados de grasa láctea, aceite de canola y aceite de nuez pecan (USDA, 2015).

Por ello, el reemplazo de la grasa láctea normalmente contenida en el dulce de leche tradicional, por alguna de estas opciones de aceites vegetales, con mayor contenido en ácidos grasos insaturados, mejoraría el perfil lipídico del producto, acercándolo a las recomendaciones para las ingestas de lípidos actuales

Luego de un estudio profundo en bibliografía acerca de las posibles opciones de aceites vegetales fuente de ácidos grasos insaturados que podrían ser incorporados al producto, se seleccionaron dos alternativas que reúnen las características buscadas, el aceite de canola y aceite de nuez de pecan. Ambos aceites poseen alta proporción de AGMI y AGPI, y baja proporción de saturados, pero constituyendo ambos aceites buenas alternativas para ser incorporados al producto lácteo buscado.

6.1.2 Problemas asociados al reemplazo de grasa por aceite en el producto

Textura

Los cambios en la formulación de productos debido a la reducción en los contenidos de grasa y azúcar producen modificaciones, no sólo en su composición y estructura, sino también en las interacciones entre sus componentes, provocando alteraciones de las propiedades sensoriales, tales como el aspecto, el sabor y la textura (Bayarri y col., 2010a). Un estudio realizado por Stewart-Knox y col. (2003) abordó los aspectos más importantes que determinan el éxito o fracaso en el desarrollo de productos reducidos en grasa, encontrando que los problemas para lograr una adecuada textura son uno de los principales determinantes del fracaso de este tipo de productos. El desarrollo de un producto funcional no difiere en forma considerable del desarrollo de un alimento convencional. Sin embargo, la modificación de las formulaciones para lograr una determinada funcionalidad ocasiona alteraciones en las características sensoriales de los productos.

Debe tenerse en cuenta que cuando en una formulación tradicional de un producto tipo dulce de leche se sustituye la fase grasa láctea por aceite, se producen cambios microestructurales en el alimento, que afectan sus propiedades físicas, comportamiento reológico, estabilidad, etc., representando un verdadero problema tecnológico. La grasa desempeña múltiples funciones en derivados lácteos, entre las que destacan sus contribuciones a los atributos de apariencia, sabor, aroma, sensación en la boca, cremosidad, suavidad, fundido, manejo, procesamiento, estabilidad y saciedad (Haddad y col., 2006; Prado y col., 2013; Rajaram y col., 2001; Yang, 2009; Yang y col., 2009). Al ser la grasa, uno de los componentes estructurales más importantes en productos lácteos como por ejemplo el queso y sus análogos, junto con la proteína y el agua, alteraciones en su contenido, tipo y distribución, modifican el arreglo interno de los elementos que conforman la microestructura del producto (Bryant y col., 1995; Rosenberg y col., 1995) y como consecuencia su textura es afectada (Rayan y col., 1980).

En este caso, en particular, en que se quiere incorporar aceite en un dulce lácteo, el objetivo es formar una emulsión aceite en agua (O/W) estable durante el calentamiento y posterior almacenamiento del producto, a fin de conservar sus propiedades físico-químicas, reológicas y organolépticas durante su período de vida útil.

Oxidación lipídica

La oxidación lipídica constituye uno de los principales problemas que afectan a la calidad de los alimentos procesados (Eriksson, 1987; Frankel, 1991). La estabilidad de la fracción lipídica es muy importante desde el punto de vista nutricional, organoléptico y toxicológico (Eriksson, 1982; Love, 1983; Nawar, 2010), ya que causa pérdidas nutricionales y desarrollo de colores, aromas y sabores desagradables (Ulu, 2004) y por ello el rechazo por parte de

los consumidores, y la reducción de la vida útil del producto. Muchos aceites de origen vegetal son susceptibles a la oxidación lipídica por tener una composición rica en ácidos grasos insaturados, como los de canola y nuez pecan.

Se cree que la autooxidación (oxidación en presencia de oxígeno molecular) es la principal reacción implicada en el deterioro de los lípidos. Tiene lugar por mecanismos de radicales libres, y se caracteriza por:

- (a) una marcada inhibición por especies químicas que interfieren con otras reacciones de radicales libres
- (b) está catalizada por la luz y por sustancias capaces de producir radicales libres
- (c) alta producción de hidroperóxidos, ROOH
- (d) rendimiento cuántico superior a la unidad cuando las reacciones se inician por la luz
- (e) el periodo de inducción (ver mecanismo a continuación) es mayor cuando se inician con un sustrato puro (Nawar, 1996).

La oxidación, después que se inicia, se transforma en una reacción en cadena de difícil control, aumentando su velocidad muy rápidamente en un corto tiempo. Las moléculas ya oxidadas no pueden retornar a su estado original. Por lo tanto, este proceso no se puede revertir, pero se puede retardar, por ejemplo mediante el uso de antioxidantes.

El mecanismo de la autooxidación se explica a partir de tres etapas (Figura 6-2).

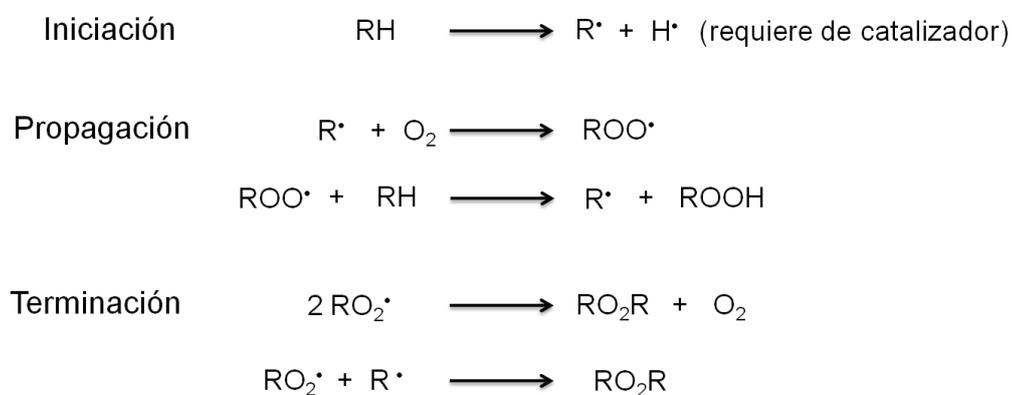


Figura 6-2. Etapas del mecanismo de autooxidación.

En la “Iniciación”, debido a la inestabilidad de algunas moléculas orgánicas y a la actividad de uno o más factores catalizadores, ocurre la formación del primer radical libre. El radical libre se forma, por ejemplo, con un átomo de hidrógeno retirado de una molécula de ácidos grasos. La sustracción del hidrógeno se favorece por la formación de un “radical alílico” muy estable en el que los electrones están deslocalizados sobre tres átomos de carbono (Knight y col., 1951). Ello conduce a la formación de una mezcla de hidroperóxidos isoméricos debido a la estructura de resonancia del sistema alílico.

Los factores que más influyen en la formación de radicales libres y que catalizan el proceso de oxidación son: presencia de iones metálicos en el producto, calor o luz, enzimas, medio alcalino, moléculas con insaturaciones y disponibilidad de oxígeno para reaccionar, entre otros.

Después de esta etapa inicial, empieza la de “Propagación”, con el radical libre siendo atacado por una molécula de oxígeno, formando un peróxido, que todavía continúa siendo radical libre. Este peróxido ataca a una nueva molécula de ácido graso, la que también pierde un átomo de hidrógeno, formando un hidroperóxido y además un nuevo radical libre, iniciando el proceso en cadena. Si el oxígeno disponible fuera suficiente y ningún antioxidante estuviera presente en el producto, esta etapa continuará degradando el producto. Estas consideraciones no se limitan sólo al oxígeno molecular, sino también a otras especies como O_2^- , HO^- , H_2O_2 (Coxon y col., 1987).

La “Terminación” es la etapa siguiente. Los peróxidos se combinan, formando moléculas más estables y los hidroperóxidos forman otras diversas moléculas con funciones ácidas, aldehídicas, alcohólicas, cetónicas, etc. En esta etapa, todo el material es degradado irreversiblemente, llevando a la descomposición total del producto, generando olor rancio y cambio de color, demostrando la oxidación. El desagradable olor rancio es el resultado de la formación de varias moléculas volátiles, algunas de las cuales poseen sabor desagradable y potencialmente tóxico. Para que este proceso se paralice, se debe provocar la etapa de terminación artificialmente, adicionándose un antioxidante al sistema. El antioxidante le suministra hidrógeno al sistema, que reacciona con los radicales libres y peróxidos formados, evitando que éstos ataquen a otras moléculas aún “saludables”, impidiendo la formación de nuevos radicales libres. La molécula del antioxidante que suministra el hidrógeno queda inutilizada. Durante esta etapa, el antioxidante va perdiendo potencia, pues sus moléculas van cediendo átomos de hidrógeno al sistema.

Como consecuencia del proceso de oxidación se produce el enranciamiento, factor decisivo en la determinación de la vida útil de los alimentos, se observan cambios en la palatabilidad (generación de sabores desagradables), en la funcionalidad, en el valor nutritivo (pérdida de nutrientes esenciales como las vitaminas liposolubles A y E, y ácidos grasos esenciales) (Frankel, 1993; Shantha y Decker, 1993) y cambios en la textura y color de los alimentos (por oxidación de compuestos coloreados o por pardeamiento no enzimático) (Hidalgo y Zamora, 2000; Pokorný y col., 1987). Esto trae como consecuencia la alteración de la calidad de los alimentos.

Por lo expuesto, en general, se hace necesario incorporar antioxidantes para controlar la rancidez e incrementar la estabilidad minimizando los procesos de deterioro en productos que contienen ácidos grasos insaturados (Decker, 1998).

Antioxidantes

Para elaborar productos alimenticios de alta calidad, estables, la solución más eficaz es la adición de antioxidantes, de origen natural o sintético. La implementación de compuestos antioxidantes está reglamentada en el Código Alimentario Argentino. Fija además, para cada una de estas sustancias o sus mezclas, las dosis máximas permitidas en los productos, generalmente no mayores a 200 ppm, salvo en tocoferoles naturales o sintéticos los que se pueden agregar en concentración que no exceda la necesaria para lograr el efecto deseado (CAA, 2015).

La composición y el proceso de elaboración del dulce de leche, permiten encontrar en el producto terminado diferentes componentes, provenientes de la leche y originados como resultado de la reacción de Maillard, con capacidad antioxidante. Sin embargo, por el agregado de aceite vegetal rico en ácidos grasos insaturados en la formulación de un dulce lácteo, estos compuestos podrían no controlar adecuadamente el posible proceso oxidativo, siendo necesaria la incorporación de antioxidantes agregados, a fin de proteger los lípidos de la oxidación durante su procesamiento y almacenamiento.

Antioxidantes presentes en la leche

En función de su naturaleza, los agentes antioxidantes presentes en la leche se dividen en proteicos y no proteicos (Lindmark-MaËnsson y Kesson, 2000). Dentro de los no proteicos se destacan las vitaminas (C y E) y los carotenoides, mientras que entre los proteicos, se engloban distintos tipos de enzimas (superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa), así como diversas proteínas y péptidos.

Diversos autores han demostrado la actividad antioxidante tanto de las caseínas (Bryant y col., 1995; Carey y col., 2012; Kornsteiner y col., 2006) como de algunas proteínas de suero lácteo (Rayan y col., 1980; Rosenberg y col., 1995; Dickinson, 2010; Carey y col., 2012). La acción quelante del hierro parece ser uno de los principales mecanismos de acción de las caseínas. Para las proteínas de suero, dos mecanismos han sido establecidos como determinantes para esta actividad, la capacidad quelante del hierro y la acción fijadora de radicales libres.

Efecto antioxidante de los productos de Maillard

Como se mencionó en el Capítulo 1, durante la elaboración del dulce de leche, el pardeamiento no enzimático es inducido por el tratamiento térmico, dando lugar a los productos coloreados de la reacción de Maillard (PRM). Se ha reportado en bibliografía que estos productos poseen actividad antioxidante, por su habilidad de quelar metales y reducir compuestos carbonílicos (Borrelli y col., 2002). Algunos productos PRM tienen grupos pirrólicos, los que presentan una gran actividad antioxidante, sobre todo cuando son

solubles en agua (Yanagimoto y col., 2002; Yilmaz y Toledo, 2005). También la formación de melanoidinas se ha asociado a la formación de compuestos antioxidantes (Manzocco y col., 2000). La reacción de Maillard en sistemas modelo conduce a la formación de diferentes especies químicas, que promueven cambios en las propiedades antioxidantes, las cuales son positivamente correlacionadas con el desarrollo del pardeamiento. Puede encontrarse una simple correlación entre color y la capacidad antioxidante en los alimentos cuando la formación de los PRM es el proceso predominante durante el procesamiento. Sin embargo, se obtienen relaciones complejas entre esas dos variables en alimentos formulados multicomponentes (Manzocco y col., 2000). Hay antecedentes de una estrecha relación entre color y capacidad antioxidante de caramelo. Así Tsai y col. (2009) encontraron que un color más oscuro en caramelo (preparado con diferentes azúcares en buffers de diferente pH) resultó en una mayor capacidad antioxidante. Esto es similar a lo observado por Manzocco y col., (2000), para quienes la intensidad del pardeamiento fue un buen índice de monitoreo de la capacidad antioxidante.

La actividad antioxidante de los PRM ha sido confirmada en sistemas modelo (Mastrocola y Munari, 2000; Miranda y col., 2007) como así también en alimentos como café (Stewart-Knox y col., 2003), tomate (Anese y col., 1999) y cerveza (Hayase y Kato, 1994), encontrándose que dicha actividad aumenta con la concentración de estos productos.

Sin embargo, es posible que en casos donde las condiciones de proceso son muy severas y en presencia de compuestos susceptibles a la oxidación (como aceites vegetales ricos en ácidos grasos insaturados), no sea suficiente el aporte antioxidante de los compuestos presentes en el dulce de leche antes mencionados, y sea necesario adicionar otro tipo de antioxidantes.

Agregado de antioxidantes

Los antioxidantes sintéticos son ampliamente utilizados en la industria de los alimentos. Algunos ejemplos son el butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), galato de propilo y ter-butilhidroquinona (TBHQ), sin embargo, tienen la desventaja de ser muy volátiles y se ha reportado en numerosos estudios que pueden tener relación con el desarrollo de tumores y otros efectos nocivos (IARC, 1986; Gharavi y El-Kadi, 2005; Amadasi y col., 2009; NIH, 2013). Debido a esto, en la actualidad existe una gran tendencia en la formulación de productos, impulsada por los consumidores, a reemplazar los antioxidantes sintéticos por productos que provengan de fuentes naturales y que sean producidos por tecnologías no contaminantes (Valenzuela y col., 1995; Damechki y col., 2001).

Las mezclas de tocoferoles naturales, muy utilizadas por la industria alimentaria para el mantenimiento de la vida útil de los productos, están compuestas por D- α , D- β , D- γ y D- δ

tocoferol (Figura 6-3). Interfieren en la etapa de propagación en cadena de radicales libres, actuando como donores de hidrógeno (“chain breaking” donor, CB-D) o como aceptores de radicales libres (“chain breaking” acceptor, CB-A). Este segundo mecanismo incluye el “quenching” del oxígeno singulete (Frankel, 2005). En el mecanismo CB-D, los tocoferoles compiten efectivamente con los ácidos grasos insaturados (RH) por el radical peroxilo ($\text{ROO}\cdot$) transfiriendo un átomo de hidrógeno al $\text{ROO}\cdot$ para producir ROOH el cual es más estable (Frankel, 1991). Este hecho reduce la formación de radicales lipídicos ($\text{R}\cdot$) que ocurren cuando el RH reacciona con el $\text{ROO}\cdot$; esta competencia disminuye la velocidad de propagación de la autooxidación. En el caso de los tocoferoles, cuando ocurre la transferencia de un hidrógeno resulta en la formación de una semiquinona intermedia la cual se convierte en tocoferilquinona como producto final estable.

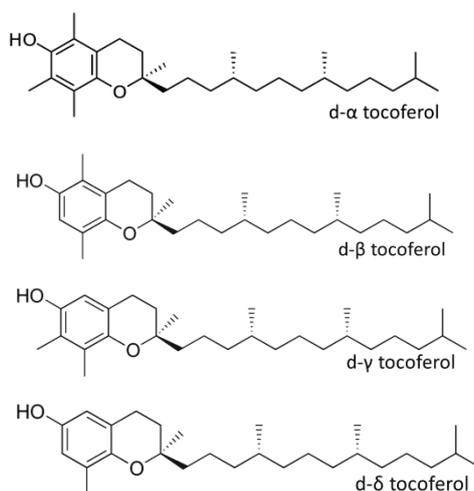


Figura 6-3. Estructura química de los distintos tipos de tocoferoles.

Los tocoferoles también pueden actuar sobre el oxígeno singulete ($^1\text{O}_2$) como medio de control de la oxidación. La capacidad de los tocoferoles de atrapar al $^1\text{O}_2$ ocurre a través de dos mecanismos primarios: (i) mediante el “quenching” del $^1\text{O}_2$ y (ii) reaccionando en forma irreversible con el $^1\text{O}_2$ para formar una variedad de productos, principalmente hidroperoxidienona (Clough y col., 1979).

Por otra parte, los tocoferoles, por sí mismos, son rápidamente degradados en presencia del oxígeno molecular y de radicales libres en los alimentos, perdiendo su actividad antioxidante o convirtiéndose en sustancias prooxidantes (Jung y Min, 1990).

La concentración de tocoferoles influye sobre la actividad antioxidante, siendo generalmente mayor a bajas concentraciones y menor o prooxidante en tenores elevados (Jung y Min, 1990). En general “*in vitro*” se ha observado el siguiente orden de actividad antioxidante decreciente: δ - > γ - > β - > α - tocoferol (Devittori y col., 2000). Sin embargo, la potencia

antioxidante de los tocoferoles puede verse afectada por diferentes factores tales como la concentración, temperatura, polaridad, viscosidad y el pH del medio en el que se encuentran. La actividad antioxidante en orden inverso al enunciado anteriormente ha sido observada a bajas temperaturas (White y Xing, 1997). Los tocoferoles pueden actuar como agentes antioxidantes o prooxidantes dependiendo de las concentraciones y del sustrato en cuestión. En aceite de soja, el α -tocoferol en altas concentraciones actúa como un agente prooxidante produciendo un incremento de los niveles de hidroperóxidos y de dienos conjugados (Jung y Min, 1990), aunque incrementa su habilidad para inhibir la formación de hexanal (Frankel, 2005).

6.1.3 Emulsificación como forma de incorporar el aceite

Las emulsiones son dispersiones de un líquido en el seno de otro. Es considerada una dispersión termodinámicamente inestable de dos o más líquidos inmiscibles o parcialmente miscibles. Las variables más importantes que determinan las propiedades de una emulsión son las siguientes:

- 1- Tipo, es decir, aceite en agua (o/w) o agua en aceite (w/o). Las emulsiones o/w son muy frecuentes; como ejemplo pueden citarse la leche y diversos productos lácteos, las salsas, los aderezos y las sopas. La manteca y la margarina son emulsiones w/o, pero contienen otros elementos estructurales.
- 2- Distribución de tamaño de gotas. Afecta su estabilidad física; generalmente las gotas más pequeñas constituyen emulsiones más estables. La energía y la cantidad de emulgente necesarias para producir la emulsión dependen del tamaño de partícula deseado. Un diámetro típico de gotas dispersas es el de 1 μm , pero puede oscilar entre 0.2 y varios μm . La amplitud de la distribución de tamaño de gotas es igualmente importante, por la gran dependencia de la estabilidad con respecto al tamaño de partícula.
- 3- Fracción volumétrica de la fase dispersa (ϕ). En la mayor parte de los alimentos, ϕ oscila entre 0.01 y 0.4, aunque en la mayonesa puede llegar a 0.8.
- 4- Composición y grosor de la película superficial en torno a las gotas. Determina la tensión interfacial, las fuerzas de interacción coloidales, etc.
- 5- La composición de la fase continua determina las relaciones entre el disolvente y el surfactante y, por tanto, las interacciones coloidales. La viscosidad de la fase continua afecta considerablemente al cremado (Fennema, 2010).

Aunque se trate de dispersiones termodinámicamente inestables, las emulsiones pueden convertirse en cinéticamente estables gracias a la presencia de agentes tensioactivos que presentan la capacidad de adsorción en las superficies de las gotas. El tipo de emulsión que

se tiende a formar depende del balance entre las propiedades hidrófilas e hidrófobas del agente emulsificante. Generalmente se suele cumplir la regla de Bancroft (Bancroft, 1913): la fase continua es aquella que solubiliza al agente emulsificante.

Lal (2003) incorporó ácidos grasos n-3 en leche de bajo contenido graso. La estabilización de esta leche enriquecida se logró mediante el uso adecuado de un sistema emulsionante / estabilizador, compuesto de mono y di glicéridos de ácidos grasos, alginato de sodio, carragenano y goma guar.

Emulsificantes y espesantes

Los emulsificantes son moléculas superficialmente activas que se adsorben en la superficie de las gotas recién formadas durante la homogeneización, produciendo una membrana protectora que previene que éstas se acerquen lo suficiente como para que vuelvan a unirse; por otra parte disminuyen la energía libre debido a que reducen la tensión superficial. La mayoría de los emulsificantes son moléculas anfifílicas (poseen regiones polares y no polares). Entre los emulsificantes más utilizados en la industria alimentaria se encuentran: los surfactantes de pequeño tamaño, las lecitinas y las proteínas, entre éstas últimas, las proteínas de leche.

Por otro lado, los agentes espesantes son sustancias que incrementan la viscosidad de la fase continua de la emulsión, disminuyendo la movilidad de las gotas y por lo tanto, aumentando la estabilidad del sistema. Los agentes espesantes más comunes en la industria alimentaria son los polisacáridos. Entre estos se encuentra la goma xántica, empleada en la formulación del producto, objeto de estudio de la presente Tesis, y cuyas propiedades han sido discutidas en el Capítulo 4.

Proteínas de leche como emulsificantes

Las propiedades funcionales de las proteínas están relacionadas con diversas características moleculares generales tales como la hidratación, actividad de superficie y el tipo de interacciones proteína-proteína favorecidas por estructuras parcialmente desplegadas. La actividad de superficie es una función compleja de la hidrofobicidad superficial de una proteína y su flexibilidad, que le permite desplegarse y extenderse en una interfase. El orden de actividad de superficie de diversos componentes proteicos de la leche es β -caseína > micelas de caseína monodispersadas > albúmina sérica > α -lactoalbúmina > α_s -caseína = κ -caseína > β -lactoglobulina (Fennema, 2010).

El conocimiento acerca de la capa adsorbida de proteínas de leche proviene de estudios experimentales sobre diversos tipos de sistemas, incluyendo leche homogeneizada, recombinación de leche descremada y grasa láctea, emulsiones lácteas sintéticas obtenidas a partir de caseinato de sodio o concentrado de proteínas de suero y grasa láctea (u otros

aceites comestibles), y emulsiones modelo elaboradas a partir de proteínas de la leche individuales y aceites minerales o triglicéridos (Dickinson, 1997).

Debido a su carácter anfifílico y alta actividad de superficie, las proteínas de leche son especialmente efectivas como agentes emulsificantes en la obtención de emulsiones (logrando tamaño de gota inferiores a 1 μm) y como agentes estabilizantes, por otorgar estabilidad coloidal por combinación de mecanismos electrostáticos y estéricos. Por supuesto, en la práctica, la mayor parte de los ingredientes ricos en proteínas utilizados como agentes emulsificantes en la industria alimentaria (leche descremada en polvo, concentrado de proteínas de suero lácteo, proteínas de yema de huevo, etc.) contienen varios tipos de agregados de proteínas y partículas proteicas coloidales, las cuales son capaces de acumularse en la interfase aceite-agua durante la homogeneización (Dickinson, 2012).

Las proteínas de la leche son ampliamente valoradas como ingredientes alimentarios con excelentes características tensioactivas y estabilizadoras de emulsiones cuando se encuentran en forma soluble y dispersa (Mulder y Walstra, 1974; Dickinson, E. (1997); De Wit, J. y Fox, P. (1989); Doxastakis, 1989; Morr, 1982; Morr y Ha, 1993; Dickinson, 2001). Durante la formación de la emulsión, las diversas moléculas de proteínas y los agregados son adsorbidos rápidamente en la superficie de las gotitas de aceite recién formadas. La capa estabilizante resultante protege inmediatamente las pequeñas gotas contra la coalescencia, y luego proporciona estabilidad física a la emulsión durante el procesamiento y almacenamiento a largo plazo (Dickinson y Stainsby, 1982). Por lo antedicho, numerosos autores han incorporado diferentes proteínas de leche (o sus mezclas) para estabilizar diferentes sistemas emulsionados (Huck-Iriart y col., 2014; Hu y col., 2003; Kulmyrzaev, 2000; Saito y col., 2005; Kulmyrzaev y col., 2000).

Estabilidad de las emulsiones

La estabilidad de las emulsiones está fuertemente determinada por las interacciones entre las gotas (Dickinson, 1998). La naturaleza y la fuerza de las interacciones son, a su vez, dependientes de la composición de la capa adsorbida en la interfase lípido-agua y de los componentes presentes en la fase continua.

El proceso de ruptura de las emulsiones puede ocurrir mediante cuatro mecanismos de inestabilidad diferentes (Aranberri y col., 2006):

i) El cremado o sedimentación es el proceso causado por la acción de la gravedad y produce un gradiente vertical de concentración de las gotas sin variar la distribución del tamaño de las mismas. Para las emulsiones o/w, las gotas de aceite son menos densas que la fase continua y acuosa y por lo tanto principalmente ocurre el cremado.

ii) La floculación es la adhesión de las gotas sin fusionarse y una vez más no existe una variación en la distribución de tamaño de gotas. El proceso de la floculación está controlado por un equilibrio global entre las fuerzas de atracción electrostáticas de van der Waals, repulsivas de tipo estéricas y de hidratación.

iii) La coalescencia es la fusión de gotas que originan gotas más grandes con eliminación de parte de la interfase líquido/líquido. Este cambio irreversible requeriría un aporte extra de energía para restablecer la distribución de tamaño de partícula original.

iv) La maduración de Ostwald es debida al crecimiento de las gotas más grandes a expensas de las más pequeñas, termodinámicamente más inestables, hasta que éstas últimas prácticamente desaparecen.

La **Figura 6-4** muestra una representación gráfica de cada una de los procesos.

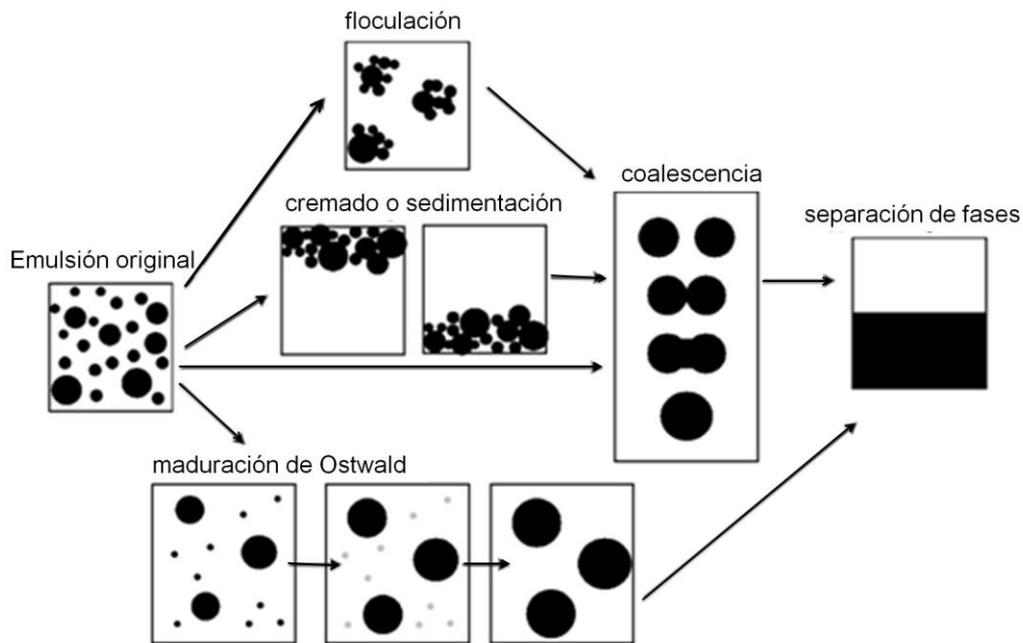


Figura 6-4. Mecanismos que contribuyen a la inestabilidad de las emulsiones.

Los hidrocoloides se utilizan comúnmente para retardar o incluso evitar el cremado mediante la modificación de la reología de la fase continua. La goma xántica es especialmente eficaz en este tipo de rol estabilizador. Este simple mecanismo de control reológico es más efectivo a bajas fracciones volumétricas de aceite, donde las gotas individuales son inmovilizadas por separado en una red de biopolímero, y la pequeña fuerza de flotación que actúa sobre cada gota es apenas suficiente para superar el límite elástico de la matriz de biopolímero tipo gel débil que las rodea (Dickinson, 2009). Teóricamente, un esfuerzo límite de 10^2 Pa es

suficiente para prevenir el cremado de las gotas individuales dispersas de tamaños menores a $\sim 10\mu\text{m}$ (Dickinson, 1988).

Sin embargo, respecto a emulsiones concentradas conteniendo una cantidad significativa de hidrocoloide libre en la fase acuosa, una explicación alternativa es considerada como más apropiada, la cual está basada en fuerzas de depleción inducidas por polímeros (Moschakis y col., 2005; Moschakis y col., 2006; Parker y col., 1995). A muy bajas concentraciones, el agregado de hidrocoloide tiene un efecto desestabilizador sobre la emulsión, ya que la floculación por depleción inducida por el hidrocoloide no-adsorbido provoca una mayor separación de la emulsión. Pero a altas concentraciones de hidrocoloide (aún $<0.1\%$ en peso para el caso de la goma xántica), cuando las interacciones por depleción son más fuertes el cremado es inhibido debido al carácter viscoelástico de las regiones interconectadas de las gotas de la emulsión que se han convertido en una red tipo gel. En estudios de sistemas modelo de emulsiones hay numerosos casos reportados en la literatura en los cuales las propiedades reológicas y de estabilidad han sido atribuidas a la presencia de interacciones interfaciales asociativas entre proteínas y polisacáridos. Algunos ejemplos incluyen sistemas conteniendo proteínas de suero lácteo + carboximetilcelulosa (Girard y col., 2002), caseinato de sodio + pectinas de bajo metoxilo (Matia-Merino y Dickinson, 2004), caseinato de sodio + pectinas de alto metoxilo (Bonnet y col., 2005), beta-lactoglobulina + pectinas de alto metoxilo (Guzey y col., 2004), proteína de canola + caparragenano (Uruakpa y Arntfield, 2005), proteína de suero lácteo + goma xántica (Benichou y col., 2007) y caseinato de sodio + goma gelano (Sosa-Herrera y col., 2008).

Por otro lado, según Huck-Iriart (2014), en caso de ser necesario un aumento en la viscosidad, la goma xántica puede ser añadida a un producto emulsionado sin perturbar el sistema. Asimismo, estos autores reportaron que el agregado de sacarosa disminuyó significativamente el diámetro medio y mejoró la estabilidad de emulsiones o/w conteniendo aceite de girasol y WPC.

Distribución de tamaño de gotas

La distribución de tamaño de gotas es una de las variables más importantes que determinan la estabilidad de una emulsión. En sistemas donde la relación área interfacial/volumen tiene alta incidencia, como es el caso de las emulsiones, es más útil expresar el histograma de distribución de tamaños de gotas como el volumen porcentual que ocupan las gotas que presentan diámetros comprendidos dentro del intervalo de clase y calcular el *diámetro medio de Sauter*, $D[3,2]$, que considera un factor de ponderación vinculado a la relación área interfacial/volumen. De este modo, el diámetro medio de Sauter se calcula, a partir de los diámetros de las gotas individuales, utilizando la siguiente expresión:

$$D[3,2] = \frac{\sum_{i=1}^N (n_i d_i^3)}{\sum_{i=1}^N (n_i d_i^2)} \quad \text{Ec. 6-1}$$

donde d_i es el diámetro de la gota, N el número total de gotas y n_i el número de gotas de diámetro d_i . Este diámetro es un indicador de la tendencia central de la distribución de tamaños de gotas expresada en volumen.

La polidispersión de una emulsión es un parámetro importante que influye sobre la estabilidad de los sistemas. A partir de la distribución de tamaños de gotas se puede calcular la varianza correspondiente, la cual es un índice de dicha polidispersión (McClements, 1998).

6.2 Objetivos específicos

Utilizando como punto de partida el dulce de leche 0 % lípidos estudiado en el Capítulo anterior, el presente Capítulo analiza distintas soluciones tecnológicas para la obtención de un dulce lácteo (DL), elaborado con leche totalmente descremada, con agregado de aceites vegetales ricos en ácidos grasos insaturados.

Se plantearon entonces los siguientes objetivos específicos:

- Estudiar la factibilidad del agregado de aceite según el momento de incorporación de aceite, es decir, determinar en qué etapa del proceso de elaboración del producto o en el producto terminado, es conveniente el agregado del mismo evaluando las características del producto obtenido en cada caso, así como su estabilidad.
- Analizar la estabilidad oxidativa de los aceites vegetales seleccionados, así como el efecto del agregado de tocoferoles naturales sobre dicha estabilidad.
- Evaluar las características y estabilidad de los dulces lácteos con aceite en estudios de estabilidad acelerada a 37 °C, analizando el efecto antioxidante de tocoferoles naturales agregados.

6.3 Materiales y métodos

6.3.1 Factibilidad de agregado del aceite según instancia de incorporación y características de las emulsiones logradas

De acuerdo a los resultados obtenidos en el Capítulo 5, se eligió como formulación para la fase continua un dulce de leche sin grasa láctea con un contenido de humedad máximo de 40%, lo que implica un contenido de goma xántica de 0.20%, de forma que por sus características reológicas pueda incluir una fase dispersa lipídica y ser estable durante su

almacenamiento. Para la incorporación de aceite vegetal en el producto final (5%), se evaluaron dos alternativas, utilizando aceite de girasol (sólo en la etapa de estudios preliminares):

1) Emulsificación directa del aceite sobre el producto previamente obtenido.

Se incorporó la cantidad de aceite adecuada a una muestra de aproximadamente 0.5 kg de dulce 0% lípidos obtenido según 4.3.1, y se empleó un Homogenizador Manual (Minipimer Braun MR 390G, Argentina) a fin de lograr la emulsificación de las dos fases, trabajando a 11000 rpm durante 2 minutos.

Características reológicas del producto

Se estudiaron las características reológicas de la fase continua sin agregado de aceite (antes y después del tratamiento con Homogeneizador Manual) y del producto emulsificado, envasado en frasco de vidrio y almacenado a 20 °C durante 12 días, evaluando las curvas de flujo en estado estacionario (según metodología 3.3.3).

Estabilidad del producto obtenido

Se determinó la estabilidad del dulce de leche emulsionado (proceso de emulsificación directa) en forma visual durante 12 días (Quintana y col., 2002, Lorenzo y col., 2008).

2) Pre-emulsificación del aceite en parte de la leche empleada como materia prima.

Se emulsificaron 46 g de aceite de girasol, cantidad necesaria para lograr un 5% en el producto, en 300 ml de leche, mediante Homogeneizadores manual (Minipimer Braun MR 390G, Argentina) durante 2 minutos. La emulsión obtenida se incorporó al resto de los ingredientes para continuar con la elaboración del producto (según 4.3.1).

Estabilidad de los productos obtenidos

Se procedió a estudiar la estabilidad de dulce lácteo con aceite vegetal obtenido, en forma preliminar, envasado en tubos de vidrio cerrados durante 30 días a 20 °C, observando periódicamente, de forma visual, si ocurría algún cambio por desestabilización de la emulsión (cremado, separación de fases, etc.) (Quintana y col., 2002, Lorenzo y col., 2008)

Determinación de la distribución de tamaño de gotas de aceite

Se emulsificaron 46 g de aceite de girasol en 300 ml de leche, a temperatura ambiente, empleando dos equipos diferentes: Ultra Turrax T25 (IKA, Alemania) y Homogeneizador Manual (Minipimer Braun MR 390G, Argentina), durante 1.5, 4 y 6 min, a 11000 rpm, en

ambos casos. Se evaluó la distribución de tamaño de gotas de aceite en las emulsiones o/w obtenidas.

Las emulsiones recién preparadas se diluyeron en agua (1:10) y se observaron y fotografiaron en microscopio óptico (Leica MBLB, Alemania) equipado con cámara fotográfica. A fin de obtener micrografías con aumento suficiente y el contraste necesario para que el software Global Lab Image v.2.10, detectara las gotas y las diferenciara, se ensayaron diferentes condiciones de observación, logrando los mejores resultados empleando un lente objetivo de 10X, un ocular de 10X y campo claro.

El análisis de las imágenes se basó en la escala de niveles de grises. La digitalización de las micrografías comprendió la transformación de la imagen real en una matriz rectangular de elementos de imagen denominados "píxel". A cada uno de estos píxeles se le asigna un nivel de escala de grises, de modo de reproducir el contraste y el color de la imagen original. Los niveles de grises se dividen en 256 intensidades; desde el negro con un valor de 0 hasta el blanco con un nivel de gris de 255. Es decir, las gotas se discriminan del fondo de la imagen sobre la base del valor de grises de cada una de ellas. Todas los píxeles de las imágenes que poseen un valor de gris menor al valor umbral se descartan mientras que los que poseen un valor entre el umbral y 255 son seleccionados (Cenens y col., 2002). Una vez analizadas las micrografías, se elaboraron los histogramas correspondientes.

Para cada una de las condiciones de emulsificación ensayadas se calculó el $D[3,2]$ y la varianza correspondiente, utilizando entre 200 y 400 gotas en cada caso.

En base a los resultados obtenidos mediante las dos alternativas analizadas, se seleccionó el procedimiento más adecuado para la incorporación de aceite al producto, empleándolo para la elaboración de los dulces lácteos destinados a los ensayos posteriores.

6.3.2 Estabilidad oxidativa de los aceites seleccionados

Se estudió la estabilidad oxidativa del aceite de nuez pecan (NUCANA, Entre Ríos) obtenido por prensada y del aceite de Canola (KROL, Entre Ríos), empleando un equipo Rancimat (Mod743, Metrohm, Suiza), registrando el cambio en la conductividad eléctrica del agua al captar los compuestos volátiles formados durante el ensayo (deMan y col., 1987), por duplicado. Se utilizaron para cada determinación 5 g de muestra y se sometieron a un calentamiento a 120 °C con flujo de aire de 20 L/h, hasta marcada desestabilización, detectada por aumento de la conductividad medida. Se calculó el tiempo de inducción (t_i) de cada aceite, que es una medida de la estabilidad oxidativa de los aceites (Metrohm lonenanalytik, 2001; Sleeter, 1985) mediante el software 743 Rancimat 1.0.

Efecto de la capacidad antioxidante de los tocoferoles

A fin de evaluar si un agregado de tocoferoles aumentaba la estabilidad del aceite elegido respecto a los resultados de oxidación acelerada, se evaluó la estabilidad oxidativa de muestras de aceite de nuez pecan (NUCANA, Entre Ríos) sin antioxidantes agregados, y otras a las que se le adicionaron entre 250 y 1500 ppm de tocoferoles naturales 70% (TOCOMIX 70, AOM S.A., Argentina), de los cuales al menos un 63% son no- α tocoferoles, siendo principalmente d- γ /d- β tocoferoles (43.8%) y d- δ tocoferol (19.3%). Sobre estas muestras se realizó el procedimiento descrito previamente, determinándose los tiempos de inducción en cada caso.

Para determinar la relación entre el nivel de tocoferoles en el aceite y el retardo de la oxidación lipídica (tiempo de inducción) se estimó un modelo no lineal que ajustó a los datos experimentales mediante el programa SYSTAT (Systat Inc., Evanston, IL).

6.3.3 Evaluación de dulce lácteo con aceite en estudio de estabilidad acelerada

Existen tres métodos para evaluar la vida útil: 1) ensayos de almacenamiento real, 2) ensayos acelerados, y 3) simulación y estimación basadas en modelos. Los ensayos acelerados permiten evaluar la estabilidad de los productos envasados sometiendo a un período de tiempo en condiciones de almacenamiento severo o abusivo, por ejemplo, alta temperatura y humedad relativa. Los datos obtenidos en este tipo de ensayos pueden extrapolarse a las condiciones reales de almacenamiento para estimar la vida útil del producto (Hernandez y Giacín, 2010). Por ello, y a fin de evaluar la estabilidad de los productos con aceite pre-emulsificado se sometieron a un almacenamiento a 37 °C de forma de acelerar la posible oxidación lipídica y los cambios que pudieran producirse en tiempos mayores a temperatura ambiente.

Se prepararon 3 dulces lácteos según formulación descrita en la Tabla 6-2, utilizando la metodología descrita en 4.3.1 pero agregando el aceite de nuez pecan mediante pre-emulsificación con Homogeneizador manual durante 4 minutos (ver apartado 6.3.1). En dos de ellos se incluyeron tocoferoles naturales (500 y 1000 ppm) incorporándolos con el aceite, dejando el tercer dulce como control sin antioxidantes. Una vez obtenidos los dulces se fraccionaron en envases de vidrio previamente esterilizados, almacenándose en estufa a 37 °C durante 120 días.

Tabla 6-2. Formulación de dulce lácteo utilizada.

Ingrediente	Proporción
Leche	1 L
Azúcar	172.7 g
Glucosa	28.98 g
Sorbato de potasio	280 mg
Goma xántica	1 g
Aceite de nuez pecan	23 g

Al inicio del almacenamiento se determinó el contenido acuoso de los dulces según 3.3.2, y a diferentes tiempos se determinó visualmente la estabilidad de la emulsión (según 6.3.1) así como la oxidación lipídica según el método de TBARS.

Cuantificación de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)

Esta técnica se ha utilizado ampliamente en diversos tipos de muestras alimenticias para la determinación colorimétrica (absorbancia a 532 nm, A_{532}) de la presencia de malonaldehído (MDA), un producto secundario de la oxidación lipídica, por ser un método rápido, sensible y económico. El MDA es uno de los aldehídos más abundantes generados durante la oxidación secundaria de lípidos y, probablemente, el más comúnmente utilizado como marcador de oxidación (Barriuso y col., 2013).

La reacción se basa en la extracción con ácido tricloroacético de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBA, $C_4H_4N_2O_2S$) como el malonaldehído (MDA, $C_3H_4O_2$) u otros compuestos similares y la posterior formación de un aducto entre el TBA y el MDA (Figura 6-5), que presenta su máximo de absorbancia a 532 nm (pigmento rosado).

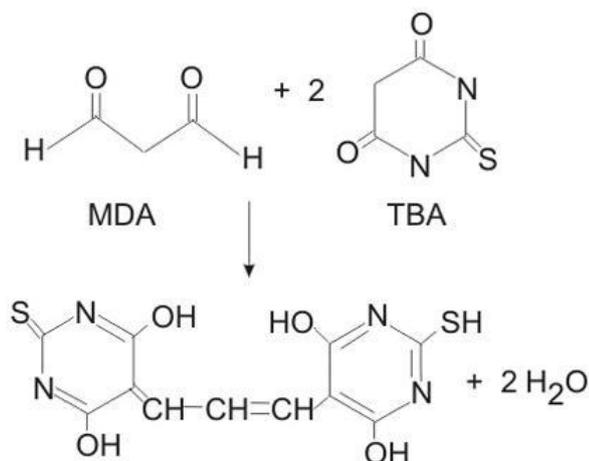


Figura 6-5. Reacción entre el MDA y el TBA en el ensayo de cuantificación de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico.

A su vez, otros aldehídos reaccionan con el TBA produciendo un pigmento amarillo cuyo máximo de absorbancia se presenta a 455 nm (Kosugi y col., 1987). Pegg y col. (1992) propusieron una estructura para el compuesto rosado, mientras que Bigwood y col. (1990) lo hicieron para el pigmento amarillo la cual fue apoyada por el trabajo realizado por Jardine y col. (2002) utilizando cromatografía líquida-espectrometría de masas, la Figura 6-6 muestra dichas estructuras químicas.

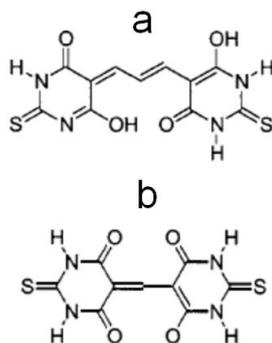


Figura 6-6. Estructura del compuesto rosa formado como producto de la condensación de malonaldehído y TBA (a), Estructura del pigmento amarillo (b).

Tradicionalmente, en la técnica TBARS se ha realizado la determinación de la absorbancia a 532 nm en una amplia variedad de muestras y condiciones de proceso (Nowzari y col. 2013; Kristensen y col., 2001, Hedegaard y col, 2006; Ho Lee y col., 2004), incluyendo muestras lácteas (Dunkley y Jennings, 1951; Patton y Kurtz, 1951; Sidwell y col., 1955). Sin embargo esta técnica ha sido criticada por algunas razones, como el hecho de que el TBA no es selectivo del MDA, ya que también reacciona con muchos otros compuestos, tales como otros aldehídos, hidratos de carbono, aminoácidos y ácidos nucleicos, lo que interferiría en el ensayo y resultaría en una considerable sobreestimación, así como en la variabilidad en los resultados (Barriuso y col., 2013). Asimismo, algunos autores reportaron que pueden ocurrir diferentes tipos de interferencias en el ensayo debido a los distintos constituyentes de la matriz del alimento (Fernández y col., 1997), como así también se ha estudiado la interferencia de caseinato de sodio en el ensayo de TBA (Caprioli y col., 2011). Otros autores han referido que los azúcares presentes en determinados alimentos limitarían su aplicación (Guillén-Sans y Guzmán-Chozas, 1998, Du y Bramlage, 1992; Papastergiadis y col., 2012).

El contenido elevado de lactosa y sacarosa del producto así como el color propio desarrollado durante su elaboración podría obstaculizar, entonces, esta determinación.

Por ello, para comprobar la factibilidad del método y asegurar la fidelidad de los resultados, se analizaron en forma preliminar, los espectros electromagnéticos obtenidos en la región visible con un espectrofotómetro Beckman DU650 (Beckman, Alemania) evaluando

diferentes combinaciones de dulce 0% lípidos (M0%, elaborado según Tabla 4-2 con 1 g/L leche de xántica y metodología 4.3.1) y reactivos de la técnica TBARS, a fin de detectar interferencias producidas por los componentes del producto o formados por reacción de éstos con los reactivos, diferentes al malonaldehído, de acuerdo a las siguientes variantes:

- i) M0% + TBA, (blanco) permite conocer si algún componente del producto emite respuesta a A_{532} o sus cercanías.
- ii) M0% + patrón MDA + H₂O (en reemplazo de TBA), permite descartar interferencia generadas por reacción del MDA con algún componente del producto (M0%+MDA).
- iii) M0% + patrón MDA + TBA, permite evaluar la respuesta a 532 nm en presencia de malonaldehído, es decir, de oxidación lipídica (M0%+MDA+TBA).
- iv) M0% + 10% sacarosa y 10% glucosa, a fin de evaluar el efecto de la concentración de azúcares, y poder contemplar la variabilidad entre dulces (M0%+AZ+TBA).

El patrón MDA utilizado fue 1,1,3,3-Tetraetoxipropano (TEP; C₁₁H₂₄O₄), el cual en solución ácida es hidrolizado, y libera MDA en relación equimolar (una solución 0.2 mM de TEP equivale entonces a una solución 0.2 mM de MDA (Pegg, 2001; Sinnhuber y Yu, 1958). Se realizó la curva de calibración utilizando el dulce M0% como muestra base, a la cual se le adicionaron diferentes cantidades de patrón MDA, y luego se determinaron sus TBARS correspondientes. Las determinaciones fueron realizadas por duplicado.

La técnica de TBARS aplicada en todos los casos fue la siguiente:

Para precipitar las proteínas y solubilizar las TBARS presentes en las diferentes muestras se usó ácido tricloroacético (TCA) 12 g/100g y se mantuvo con agitación constante en baño de agua-hielo durante 30 minutos, ya que el MDA se encuentra mayoritariamente unido a diferentes compuestos, especialmente a proteínas y aminoácidos y se debe recurrir a una hidrólisis ácida para su liberación (Hageman y col., 1992). Luego se filtró por papel. Se tomaron 2 ml de filtrado y se colocaron en tubo de vidrio con tapa con 2 ml de reactivo TBA 0.29 g/100g (preparado en agua el día de uso y sonificado 30 minutos para facilitar su solubilización), dejando reaccionar en baño termostático a 70°C durante 30 minutos. Luego, se enfrió bajo canilla y se midió la A_{532} en un espectrofotómetro U-1900 (Hitachi, Japón). Para ajustar el valor de $A_{532} = 0$ se realizó un blanco conteniendo 2 ml de agua destilada y 2 ml de reactivo TBA.

Las TBARS se expresaron como mg de malonaldehído (MDA)/kg producto, según la Ec. 6-2:

$$N^{\circ}TBARS = \frac{M \times Va \times Ve \times 1000 \times A_{532}}{E \times L \times m} \quad \text{Ec. 6-2}$$

donde:

M = masa molecular del malonaldehído (72 g)

Va = volumen alícuota (2 ml)

Ve = volumen extracto (16 ml)

E = coeficiente de extinción molar del complejo coloreado

L = camino óptico (1 cm)

m = masa de muestra.

Habiéndose comprobado que esta técnica resultaba adecuada, se la utilizó para evaluar la oxidación lipídica de los dulces lácteos con aceite de pecan almacenados a 37 °C.

6.3.4 Análisis estadístico

Para comprobar diferencias significativas entre valores medios se aplicó el test de LSD (Fisher) con un nivel de significancia del 95% ($P < 0.05$).

6.4 Resultados y Discusión

6.4.1 Factibilidad de agregado del aceite según instancia de incorporación y características de las emulsiones logradas

El agregado de aceite al dulce mediante emulsificación directa (descrito en 6.3.1), tendría la ventaja de no someter a los lípidos insaturados presentes en el aceite al enérgico tratamiento térmico del proceso de elaboración, que favorecería su oxidación. Sin embargo, el producto obtenido debe ser sometido a un trabajo mecánico intenso para su incorporación.

La Figura 6-7 muestra el comportamiento reológico del DL 0% lípidos empleado como fase continua (38% humedad), sobre el cual se emulsionó el aceite a fin de obtener el producto final. Asimismo, se presentan las curvas de flujo obtenidas sobre el dulce lácteo con aceite a distintos tiempos de almacenamiento a 20 °C. Se pudo observar una marcada disminución de la viscosidad al incorporar el aceite, respecto a la viscosidad del DL 0% lípidos original, sin recuperarse completamente al cesar la cizalla ni siquiera luego de 12 días de reposo. Este resultado indicaría que el procedimiento mecánico utilizado para incorporar el aceite destruyó la estructura interna del dulce de leche, y a su vez, la incorporación de aceite no aumentó lo suficiente la viscosidad para compensar ese efecto. La disminución de la viscosidad podría atribuirse, entonces, a una ruptura irreversible del gel débil y los

agregados proteicos debido a la acción mecánica. Sin embargo, la estabilidad del producto emulsionado evaluada en forma visual no se vio afectada durante ese tiempo de observación.

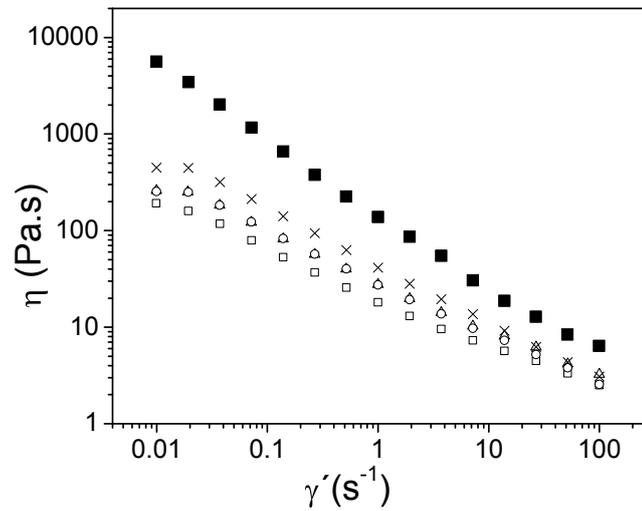


Figura 6-7. Curvas de flujo obtenidas para DL 0% lípidos (38.0% humedad, ■); y para DL con 5% aceite de girasol incorporado posteriormente a su elaboración a diferentes tiempos de almacenamiento a 20 °C: inicial (□), 1 día (△), 2 días (○), 12 días (x).

Por otro lado, cuando se evaluó la factibilidad de incorporación del aceite mediante pre-emulsificación en parte de la leche usada como materia prima (descrito en 6.3.1), el producto obtenido (humedad 37.8%) presentó aspecto y consistencia adecuados. Su curva de flujo se muestra en la Figura 6-8). Asimismo, este producto no evidenció desestabilización con separación de fases durante un lapso de 30 días.

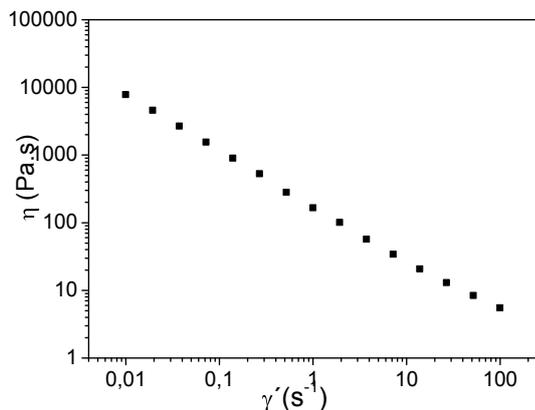
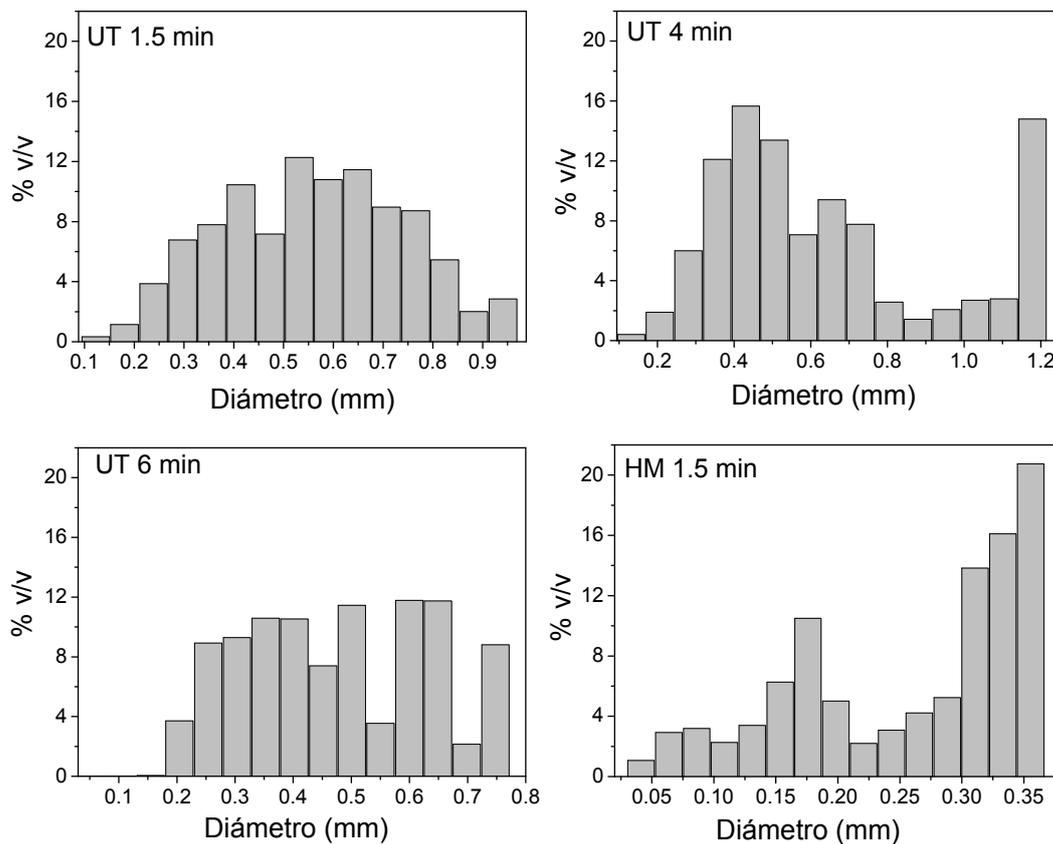


Figura 6-8. Curva de flujo correspondiente al dulce lácteo con 5% aceite de girasol incorporado (Humedad 37.8%) mediante pre-emulsificación en la leche, previo a su elaboración.

Dado que la incorporación del aceite en forma posterior a la obtención del DL alteraba marcadamente sus características reológicas, resultando en una viscosidad inferior a la deseada, mientras que con la emulsificación del aceite en parte de la leche previo a la elaboración del producto, se obtuvieron las características adecuadas, se determinó que esta última opción sería el proceso más conveniente, y por ello, se continuó con esta metodología.

A fin de seleccionar el equipo y condiciones de la emulsificación del aceite en parte de la leche, se evaluó entonces la distribución en volumen de tamaño de gotas de aceite obtenido en cada caso. Los histogramas obtenidos correspondientes son mostrados en la Figura 6-9. Asimismo, en la Figura 6-10 se presentan los diámetros medio de Sauter (D_{32}) y errores estándar correspondientes a las diferentes condiciones de emulsificación evaluadas.



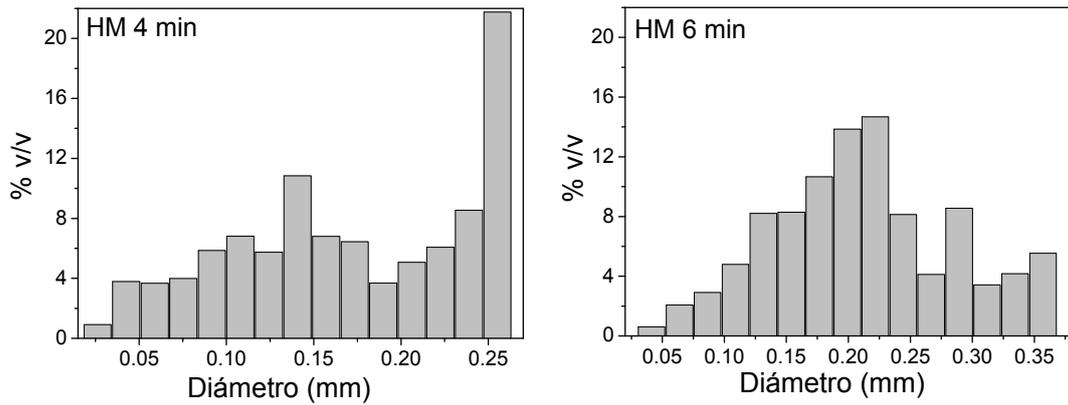


Figura 6-9. Histogramas correspondientes a las distribuciones en volumen de tamaño de gota para las emulsiones o/w obtenidas con UT (Ultra Turrax) u HM (homogeneizador manual) a 11000 rpm, durante 1.5, 4 y 6 min.

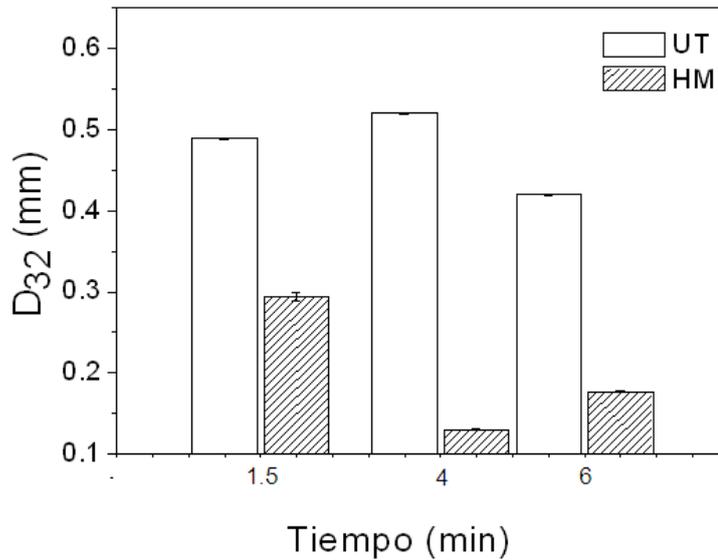


Figura 6-10. Diámetro medio de Sauter (D_{32}) correspondientes a las diferentes condiciones de emulsificación estudiadas. Las barras verticales corresponden al error estándar.

La distribución que presentó menor D_{32} fue la obtenida con HM durante 4 minutos ($D_{32}=0.130$ mm).

En base a estos resultados, se seleccionó entonces como metodología para la pre-emulsificación del aceite en parte de la leche, el Homogeneizador Manual durante 4 minutos, por presentar el menor valor de D_{32} (Figura 6-10), por lo que el sistema sería el más estable al cremado.

6.4.2 Estabilidad oxidativa de los aceites seleccionados

El análisis de los dos aceites seleccionados realizado mediante el Rancimat permitió tener una estimación del tiempo requerido antes que la oxidación lipídica ocurriera, o tiempo de inducción (t_i), durante la oxidación forzada inducida térmicamente de los aceites. La Tabla 6-3 muestra los tiempos de inducción (t_i) obtenidos correspondientes a los aceites seleccionados.

Tabla 6-3. Tiempos de inducción obtenidos para aceite de canola y aceite de nuez de pecan a 120 °C*.

Muestra	Tiempo de inducción (h)
Aceite de canola	3.75 (0.05)
Aceite de nuez pecan	6.82 (0.21)

*El error standard se presenta entre paréntesis.

Puede observarse que el aceite de canola exhibió una mayor susceptibilidad a la oxidación ($t_i = 3.75$ h) respecto al aceite de nuez pecan ($t_i = 6.82$ h), pudiendo este resultado estar asociado a su mayor proporción de ácidos grasos insaturados. El t_i encontrado para el aceite de canola, coincide con Elisia y col., (2013), siendo el valor encontrado por estos autores de 4 h en Rancimat. Para el caso del aceite de nuez pecan, Toro-Vazquez y col. (1999) encontraron un tiempo de inducción entre 6.13 y 7.21 h a 110°C, dependiendo su valor de la región geográfica donde crecieron los árboles de nueces pecan. Los valores de t_i expuestos en la Tabla 6-3 para aceite de nuez pecan coinciden con los resultados de Toro-Vazquez y col. (1999).

La estabilidad oxidativa del aceite es una característica necesaria para lograr la incorporación de la misma al producto, aunque no suficiente ya que, por un lado, el comportamiento frente a la oxidación puede ser diferente dentro de la matriz láctea compleja en la que se encontrarán; por otro lado, es importante la percepción de flavor una vez terminado el dulce. En base a los resultados obtenidos se decidió continuar utilizando únicamente aceite de nuez pecan, por poseer un mayor tiempo de inducción en el estudio de estabilidad térmica, y debido a que en los ensayos preliminares un dulce con aceite de nuez pecan presentó sabor más agradable que el elaborado con aceite de canola.

Efecto del agregado de tocoferoles al aceite de pecan

La estabilidad oxidativa está relacionada con la vida útil de los productos dependiendo de las características propias de los mismos tales como el estado inicial de oxidación, el grado de insaturación, contenido de antioxidantes naturales, trazas de metales, condiciones de almacenamiento (luz, temperatura, oxígeno, envases, etc.) (Gutiérrez Rosales, 1989).

Rudolph y col. (1992) estudiaron la oxidación del aceite de nuez de pecan almacenada a 70°C y, de acuerdo a sus resultados, se detectó rancidez entre los 12 y 18 días. En los primeros 6 días, los cambios en el contenido de tocoferoles, pigmentos, TBA y composición de ácidos grasos fueron mínimos. La concentración de tocoferoles parecía permanecer relativamente constante hasta que se formaron los peróxidos. Como los tocoferoles y pigmentos (beta-caroteno), los ácidos grasos comenzaron a oxidarse y el número de TBARS se incrementó, evidenciando que los tocoferoles y pigmentos pueden tener un significativo efecto sobre la estabilidad del aceite.

En conocimiento de estos antecedentes, se determinaron los tiempos de inducción del aceite de nuez pecan con y sin la adición de tocoferoles como antioxidantes a fin de evaluar su efecto en la estabilidad a la oxidación (Tabla 6-4).

Tabla 6-4. Tiempos de inducción obtenidos en ensayo Rancimat a 120 °C para aceite de nuez pecan con diferentes cantidades de tocoferoles agregados*.

Tocoferoles agregados (ppm)	Tiempo de Inducción (h)
0	6.8 ^c (0.2)
250	8.1 ^b (0.20)
500	8.2 ^b (0.1)
1000	9.1 ^{ab} (0.04)
1500	9.7 ^a (0.3)

*Supraíndices iguales indican que no hay diferencia significativa entre las medias (P>0.05). Entre paréntesis se presenta el error standard.

El agregado de tocoferoles aumentó significativamente (P<0,05) el tiempo de inducción observado para el aceite de nuez pecan, variando entre 8.1 y 9.1 h cuando se agregaron entre 250 y 1000 ppm de tocoferoles, respectivamente, y llegando a 9.7 h con un agregado de 1500 ppm.

Estos resultados fueron modelados matemáticamente según:

$$Tiempo\ de\ inducción\ (h) = 5.3318 \times Tocoferoles\ (ppm)^{0.0779} \quad Ec. 6-3$$

Para dicho modelo, se tuvo en cuenta el contenido de tocoferoles propio del aceite de nuez obtenido de datos bibliográficos (USDA, 2015), por lo que la muestra sin agregado adicional de antioxidantes fue considerada con un contenido de 20 mg/kg (20 ppm) de tocoferoles.

Pudo verse que, los agregados de diferentes niveles de tocoferoles aumentaron, en todos los casos, el tiempo de inducción, sin embargo a dosis mayores el cambio en el ti fue menor.

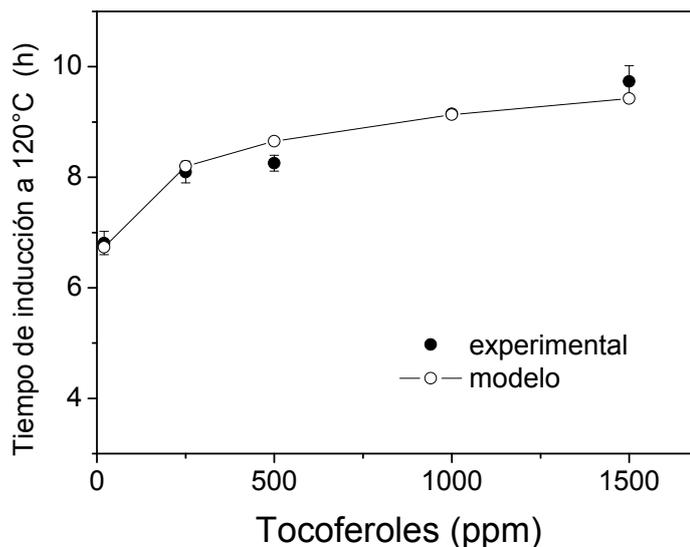


Figura 6-11. Variación del tiempo de inducción (h) a 120°C en función del contenido de tocoferoles en el aceite de nuez pecan.

6.4.3 Evaluación del dulce lácteo con aceite en estudio de estabilidad acelerada

Interferencias de componentes del producto en la medida de la oxidación por TBARS

En los espectros mostrados en la Figura 6-12 puede notarse para el dulce de leche 0% lípidos con agregado de MDA, en ausencia de TBA (M0%+ MDA), la A_{532} se mantuvo baja y cercana a 0, por lo que pudo comprobarse, que el dulce de leche no presentó componentes propios que interfieran con el método, así como tampoco el MDA produjo alguna interferencia generada por su reacción con componentes del DL.

En el espectro correspondiente a M0% + TBA (blanco) se observa un aumento de absorbancia en las cercanías de 450 nm, que no puede ser atribuido a oxidación lipídica, ya que este sistema no posee lípidos, por lo que podría atribuirse a reacción del TBA con otros componentes no-lipídicos presentes.

Asimismo, el agregado de glucosa y sacarosa al DL 0% lípidos (M0%+AZ+TBA) produjo cambios en el espectro, lo que indicó que la variabilidad entre muestras, producto de la diferencia en contenido acuoso, ocasionaría espectros diferentes, resultado esperado ya que los azúcares constituyen una de las interferencias más conocidas de la técnica. Sin embargo, dicha variación es particularmente notable a 450 nm y no a 532 nm, por lo que ni los azúcares ni la variación en su contenido serían un impedimento para aplicar la técnica TBARS en estos sistemas.

Por último, en presencia de MDA (M0%+MDA+TBA) se obtuvo una clara respuesta en la zona de 532 nm, atribuido al producto coloreado de la reacción del MDA con el TBA.

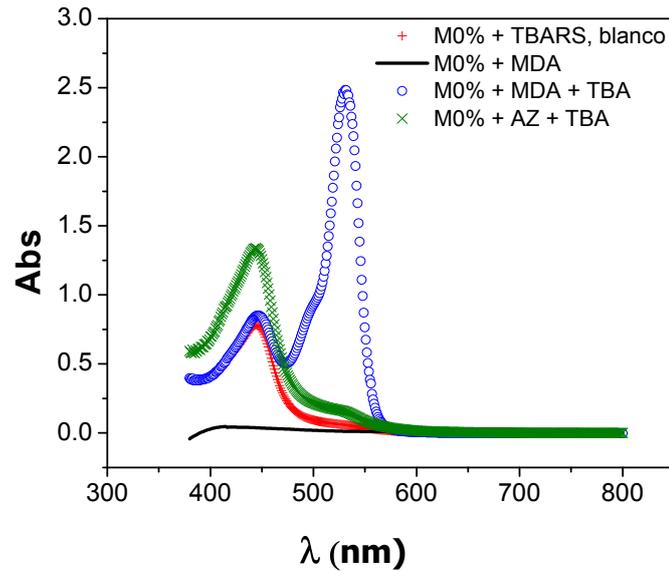


Figura 6-12. Espectros electromagnéticos en la región visible de las diferentes combinaciones de dulce 0% lípidos+ reactivo ácido 2-tiobarbitúrico (M0%+TBA, blanco), dulce 0% + patrón de malonaldehído (M0%+MDA), dulce 0% + MDA+TBARS (M0%+MDA+TBARS) y dulce 0% + un nivel mayor de azúcares (M0%+Az+TBA).

A pesar que Patton y Parkkurtz (1955) y Jennings y col. (1955) propusieron medir la absorbancia a 450 nm en productos lácteos, la pequeña cantidad de pigmento rosa presente en la determinación de TBARS (a 532 nm) de este tipo de productos se debe a la baja proporción de ácidos grasos insaturados presentes. Así, Kristensen y col. (2001) reportaron que sólo se formaron compuestos amarillos (450 nm) en cantidades significativas para queso crema pasteurizado almacenado por un año, cuyos cambios comenzaron a notarse a los 30-40 días de haber comenzado el estudio a 5, 20 y 37 °C, sin evidenciar cambios significativos a 532 nm en el período de almacenamiento considerado. Stapelfeldt y col. (1997) obtuvieron valores de TBARS 10 veces mayores determinados a 450 respecto a 532 nm para leche entera en polvo almacenada a 25 y 45 °C por 2 meses. Sin embargo, en el sistema abordado en este trabajo de Tesis se comprobó que la lectura de la absorbancia correspondiente a las TBARS a 532 nm es adecuada para el dulce de leche 0% lípidos, representa el producto en estudio.

En las Figuras 6-13 puede observarse el aumento de A_{532} ante diferentes agregados de patrón MDA al dulce de leche 0% lípidos, sin modificarse notoriamente el pico de absorbancia cercano a 450 nm.

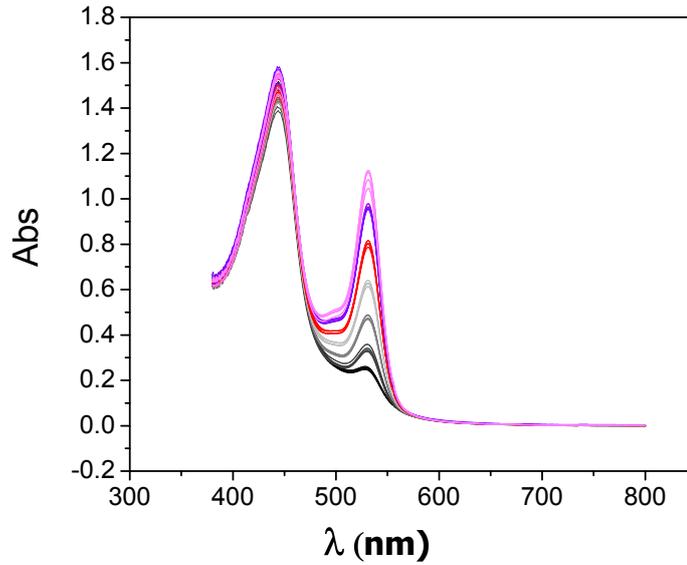


Figura 6-13. Espectros electromagnéticos en la región visible de DL 0% lípidos con diferentes agregados de patrón MDA, entre 0 y 9.0 mg MDA/kg de DL.

Asimismo, se obtuvo buena correlación entre la A_{532} y la cantidad de patrón agregada al dulce de leche 0% lípidos ($R^2 = 0.990$, Figura 6-14). Los límites de detección y cuantificación del método fueron 1.3 y 5.71 mg MDA/kg producto, respectivamente, valores realmente pequeños y que permiten la detección de la alteración oxidativa en forma adecuada.

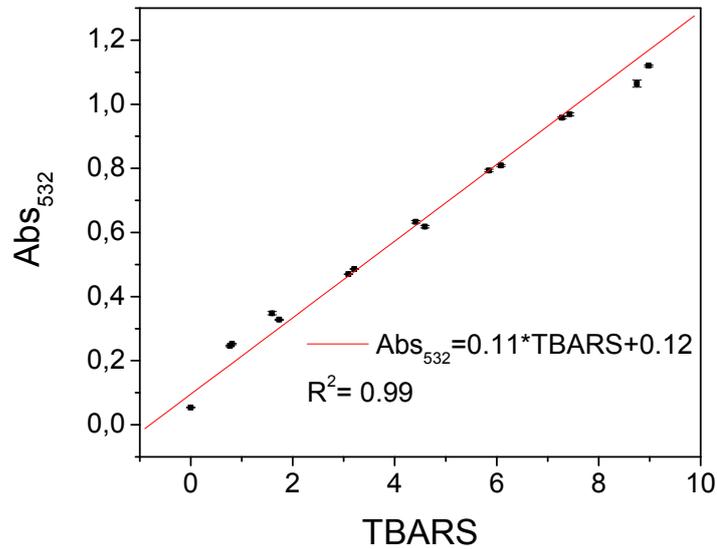


Figura 6-14. Recta de calibración Abs_{532} vs. TBARS para DL 0% con agregado de diferentes cantidades conocidas de patrón MDA.

En virtud de lo expuesto, puede concluirse que, luego de constatar la factibilidad del método y asegurar la fidelidad de los resultados, la técnica de TBARS resulta adecuada para la determinación de la oxidación lipídica en el producto lácteo objeto de esta Tesis.

Estudio de estabilidad acelerado del dulce lácteo con aceite de nuez pecan

Con el fin de retardar la aparición de las posibles alteraciones oxidativas de los ácidos grasos insaturados del aceite de nuez pecan pre-emulsificado, incorporado en el producto final, se seleccionaron a partir de la Figura 6-11, las menores dosis de tocoferoles que agregados al aceite presentaron un marcado efecto antioxidante sobre la misma, y se continuaron los ensayos evaluando dos niveles (500 y 1000 ppm), teniendo en cuenta el proceso de elaboración del producto que comprende un extenso tratamiento térmico.

Los dulces lácteos elaborados con aceite de nuez pecan pre-emulsificado en las condiciones seleccionadas, sin antioxidantes (control) y con dos niveles de tocoferoles agregados en el aceite (500 y 1000 ppm) presentaron contenidos de humedad entre 19.89 y 25.30 (Tabla 6-5). Estos niveles estuvieron por debajo del límite máximo de humedad considerado en el Capítulo 5 (40%) como adecuado para mantener estables las gotas de aceite.

Tabla 6-5. Contenido de humedad de los diferentes dulces lácteos analizados*.

Nivel de tocoferoles agregado	Humedad (%)
Control - 0	25.30 (0.35)
500 ppm	22.86 (0.03)
1000 ppm	19.89 (0.14)

*El error standard se presenta entre paréntesis.

Durante los cuatro meses de almacenamiento a 37 °C de los dulces lácteos con 5% de aceite de nuez pecan pre-emulsificado, no se detectaron visualmente indicios de desestabilización por cremado, debido probablemente a la alta viscosidad de la fase continua así como a los pequeños tamaños de gota logrados mediante la pre-emulsificación. Con respecto a la evaluación de su oxidación lipídica, las tres formulaciones presentaron un aumento significativo de TBARS durante el tiempo de almacenamiento. En la Figura 6-15 se muestran los resultados de las TBARS obtenidas a cada tiempo referido al valor inicial de cada formulación, expresado en base seca (Δ TBARS, mgMDA/kg b.s). A partir de 35 días de almacenamiento a 37 °C, el Δ TBARS del dulce control resultó mayor respecto a los

correspondientes para las formulaciones con tocoferoles agregados; el agregado de 500 y 1000 ppm de tocoferoles inhibió significativamente la oxidación lipídica.

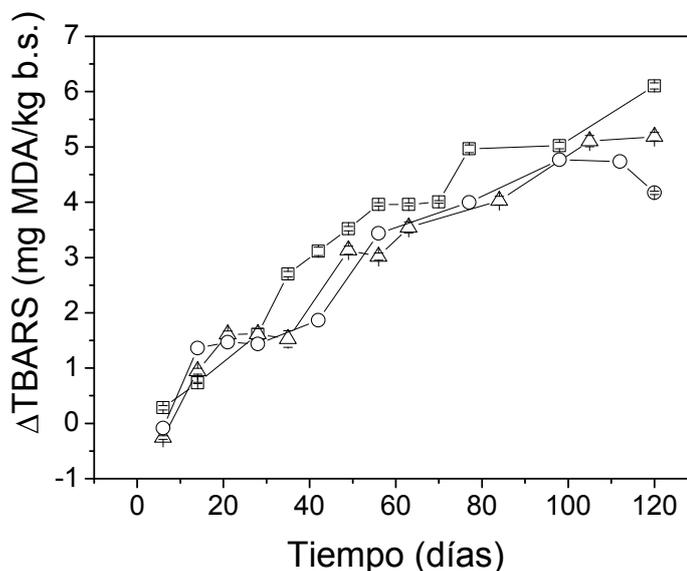


Figura 6-15. Evolución de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (Δ TBARS) de dulces lácteos con aceite de nuez de pecan pre-emulsificado con y sin tocoferoles agregados (control, □; 500 ppm, △; 1000 ppm, ○) durante su almacenamiento a 37 °C. Las barras verticales muestran el error estándar.

Los valores de TBARS obtenidos estuvieron comprendidos en los siguientes rangos durante el período de almacenamiento de 120 días (mg MDA/kg producto):

Tabla 6-6. Rangos de valores de TBARS obtenidos durante el período de almacenamiento de 120 días.

DL	Rango de TBARS (mg MDA/kg producto)
Control	1.4 – 6.0
500 ppm	2.0 – 5.8
1000 ppm	2.9 – 6.8

Hu Lee y col. (2004) encontraron valores de hasta 1.3 mg MDA/kg para 12 días de almacenamiento a 10 °C, evaluando las TBARS de crema de leche en envases con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Angulo y col. (1997) determinaron las TBARS en muestras de origen lácteo durante un período de almacenamiento de 12 meses obteniendo valores finales de 7.9 mg MDA/kg para producto lácteo descremado almacenado a 55 °C en atmósfera de nitrógeno y de 3.6 mg MDA/kg de producto para leche entera en

polvo a la misma temperatura en atmósfera de aire. Estos resultados se condicen con los valores de TBARS obtenidos en la presente Tesis. Sin embargo, los lípidos presentes en las muestras del trabajo de Angulo y col. (1997) son únicamente de procedencia láctea (mayoritariamente lípidos saturados, menos susceptibles a la oxidación), mientras que en los dulces con aceite de nuez de pecan los lípidos presentes son insaturados en una alta proporción. Por ello, pudo concluirse que la estabilidad térmica de los productos estudiados conteniendo aceite de pecan con antioxidantes naturales agregados fue adecuada.

Por otro lado, cabe destacar que en la evaluación sensorial preliminar realizada durante todo el almacenamiento, los productos presentaron buenas características, sin detectarse sabores u olores extraños.

A pesar que ciertos autores han reportado que los α -tocoferoles no han protegido la oxidación en sistemas lácteos enriquecidos con ácidos grasos insaturados (Tenorio, 2012), dichos antioxidantes sí retardaron el proceso oxidativo del aceite incorporado al producto expuestos en el presente Capítulo (Figura 6-15). Dichos resultados podrían atribuirse a la combinación de los efectos antioxidantes que poseen algunas moléculas presentes en el dulce lácteo, tales como proteínas de leche y productos de la reacción de Maillard, como fue reportado anteriormente (apartado 6.1.2).

La modificación del proceso convencional de elaboración de dulce de leche para obtener un producto rico en ácidos grasos insaturados de origen vegetal llevó al estudio de las etapas críticas del nuevo proceso. Los resultados expuestos en el presente Capítulo muestran las condiciones óptimas para la elaboración del producto emulsionado, desprendiéndose de este análisis que fue posible incorporar con éxito una fase lipídica diferente a la grasa vacuna a un dulce lácteo elaborado con leche completamente descremada, y que la incorporación de tocoferoles permitiría lograr una adecuada estabilidad oxidativa.

6.5 Conclusiones parciales

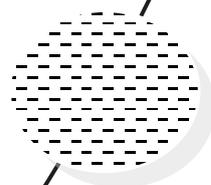
✓ La emulsificación del aceite a incorporar en parte de la leche previa a la elaboración del producto (pre-emulsificación) fue el proceso más conveniente, obteniendo un producto con las características texturales deseadas.

✓ La pre-emulsificación del aceite en parte de la leche empleando un Homogeneizador Manual, a 11000 rpm, durante 4 minutos, permitió obtener el menor valor de D_{32} , por lo que se obtendría el sistema más estable al cremado.

- ✓ El aceite de nuez pecan exhibió una mejor estabilidad oxidativa en ensayos de oxidación acelerada, por lo que se continuó el estudio con dicho aceite.
- ✓ El agregado de tocoferoles aumentó significativamente la estabilidad oxidativa del aceite de nuez pecan, aumentando el tiempo de inducción en todos los niveles evaluados. Se seleccionaron las dosis 500 y 1000 ppm de tocoferoles a fin de retardar la aparición de alteraciones oxidativas en el producto final por ser las menores dosis de antioxidantes que agregados al aceite presentaron un marcado efecto antioxidante sobre la misma
- ✓ La técnica TBARS resultó adecuada para la determinación de la oxidación lipídica en estos productos, no encontrándose interferencias en su medida.
- ✓ El agregado de 500 y 1000 ppm de tocoferoles inhibió significativamente la oxidación lipídica de los dulces lácteos con aceite de nuez pecan pre-emulsificado a partir de 35 días en ensayo de estabilidad acelerado a 37 °C, presentando menores Δ TBARS respecto al control sin antioxidantes agregados.
- ✓ Los dulces lácteos conteniendo 5% aceite de pecan pre-emulsificado fueron estables al cremado, y presentaron adecuadas características organolépticas, durante cuatro meses a 37 °C.

Producción de DL con aceite de pecan a escala planta piloto, parámetros de calidad y efecto del almacenamiento

Capítulo 7



7.1 Introducción

El escalado del proceso de elaboración de DL con aceite de pecan constituye un desafío y debe ser estudiado y planteado a fin de definir la factibilidad de su producción, teniendo en cuenta las diferentes etapas de elaboración del dulce de leche tradicional, las variantes propuestas en su formulación (agregado de goma xántica, aceite de origen vegetal y antioxidantes), y los estudios realizados en cada uno de estos aspectos.

El escalado es un paso necesario para el objetivo final: llevar el producto al mercado. Sirve para analizar las condiciones de proceso y los factores de influencia y definir los equipos necesarios, facilitando la posterior operación y aplicación a nivel industrial, dado que la planta piloto puede operar en condiciones más cercanas de presión y temperatura a las plantas industriales. Cuando la elaboración de un producto pasa de una escala menor a una mayor, dicho pasaje debe ser capaz de reproducir la misma calidad, rendimiento y propiedades fisicoquímicas y reológicas.

Dado que las condiciones de tiempo y temperatura son diferentes en escala piloto respecto a la situación presentada en el laboratorio, pueden ocurrir cambios durante almacenamientos prolongados, que afecten las características del producto. En el caso del dulce de leche con agregado de aceite de nuez pecan es necesario verificar el estado de oxidación de dicha fase lipídica, así como también la textura del producto a largos tiempos de almacenamiento, con el fin de garantizar la calidad nutritiva y sensorial del producto.

7.2 Objetivos específicos

Con el fin de determinar la factibilidad de elaboración de dulce lácteo enriquecido con ácidos grasos insaturados a escala planta piloto y analizar las características de dicho producto, se plantearon los siguientes objetivos:

- Elaborar dulce con agregado de aceite de nuez pecan a escala planta piloto.
- Comparar las propiedades fisicoquímicas (contenido de humedad, a_w , °Brix, color) y reológicas del producto obtenido con el elaborado en el laboratorio y con un producto comercial de primera marca.
- Estudiar los cambios en las características de calidad (propiedades fisicoquímicas, oxidativas, reológicas y microbiológicas) del producto a lo largo de 6 meses de almacenamiento a 20 °C.
- Evaluar la aceptación sensorial del producto desarrollado así como sus características nutricionales.

7.3 Materiales y Métodos

7.3.1 Proceso de elaboración de dulce con aceite de nuez pecan pre-emulsificado a escala piloto

Para la elaboración del dulce lácteo con aceite de nuez pecan elaborado a escala planta piloto se utilizó la formulación detallada en la Tabla 6-2.

Materias Primas

Leche - Hidrolisis de lactosa y neutralización

Se empleó enzima lactasa en la proporción adecuada para lograr un 40-60% de hidrólisis de lactosa en la leche (descrito en 5.3.1) de manera de evitar y controlar la formación de cristales durante el almacenamiento del producto.

Para evaluar el grado de hidrólisis de lactosa se cuantificó la glucosa producida mediante el método enzimático glucosa oxidasa/peroxidasa (GOD-POD, Kit Glicemia enzimática AA, Wiener Lab).

Previamente se corroboró la ausencia de interferencias a 505 nm (zona de lectura) en la determinación realizada en leche, ya que el kit mencionado es para empleo en plasma. Con el fin de asegurar la ausencia de turbidez, se trabajó con muestras de leche diluidas (1:25). Para evaluar la cantidad de enzima a agregar, se incubaron 3 alícuotas de 100 ml de leche con diferentes cantidades de enzima (0.5, 1 y 2 g de una dilución de enzima 1:50) a 4 °C durante 24 h (Capítulo 5, apartado 5.3.1), determinándose luego el porcentaje de hidrólisis mediante la cantidad de glucosa obtenida en cada muestra.

En base a esos resultados se incubaron, a 4 °C por 24 h, 40 L de leche descremada con 2.45 g de enzima para lograr una adecuada hidrólisis de lactosa. Sobre alícuotas de 10 ml se determinó el contenido de glucosa (previa inactivación de la enzima lactasa por calentamiento), para luego calcular el porcentaje de hidrólisis de lactosa alcanzado.

Se determinó la acidez de la leche y calculó la cantidad necesaria de bicarbonato de sodio para neutralizar la leche hasta 13°D (Capítulo 4, Sección 4.3.1)

Preparación de los demás componentes

A partir de los niveles de tocoferoles estudiados en el Capítulo 6, donde el agregado de 500 y 1000 ppm de tocoferoles inhibió significativamente la oxidación lipídica en dulces lácteos (sección 6.4.3), se seleccionó el nivel de 1000 ppm con el fin de cubrir posibles variaciones en el proceso que afectarían eventualmente la oxidación lipídica en una medida mayor a la correspondiente al laboratorio (por ejemplo variaciones en la temperatura o tiempo de procesamiento). Se agregaron entonces 1000 ppm de tocoferoles naturales 70% (TOCOMIX

70, AOM S.A., Argentina) en el aceite de nuez pecan a incorporar en el producto, por mezclado directo de los mismos en el aceite.

La disolución de la goma xántica se realizó utilizando el mismo cabezal del agitador aplicado en el laboratorio, pero empleando una paleta de mayor tamaño, capaz de producir la agitación necesaria en un volumen mayor. La misma fue disuelta en 6 L de leche durante 2 h con agitación (Figura 7-1).



Figura 7-1. Agitador empleado para la disolución de goma xántica en leche

Elaboración del producto

Se utilizó una paila dulcera abierta (Figura 7-2) de acero inoxidable de doble camisa y 100 L de capacidad (CABRIO SRL, Buenos Aires, Argentina, Cátedra de Agroindustrias, Fac, Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP). La misma utiliza un sistema de calentamiento por vapor (presión de trabajo 4 Kg/cm²) y posee sistema de agitación mecánico de 20 rpm.

Se trabajó con 40 L de leche descremada y los demás ingredientes en la proporción adecuada según Tabla 6-2. Parte de la leche destinada a la elaboración se emulsificó con aceite de nuez pecan conservando la forma de emulsificación ensayada en el laboratorio (Capítulo 6, apartado 6.4.1).



Figura 7-2. Paila dulcera abierta de doble camisa utilizada para elaborar el dulce con agregado de aceite de nuez pecan.

La introducción de los ingredientes en la paila fue realizada en dos etapas con 1 h de diferencia aproximadamente entre ambas por recomendación del personal especializado en el uso de la paila. En cada una de dichas etapas se incorporó al equipo la mitad de la leche sola y la mitad de la leche emulsionada con aceite. Previamente al primer agregado, se disolvió en la leche los siguientes ingredientes: la mitad de la glucosa, la totalidad de la sacarosa, el bicarbonato y el sorbato de potasio. Luego dicha mezcla fue entonces introducida en la paila. Asimismo, en la segunda etapa, se fue agregando progresivamente a la paila: la leche y leche emulsionada restantes, la goma xántica disuelta en los 6 L de leche, y el resto de la glucosa. Sobre la finalización del proceso de calentamiento se agregaron 100 ml de esencia artificial de vainilla.

Luego se calentó mediante camisa calefactora hasta alcanzar el punto final deseado (65°Brix). Si bien la temperatura de trabajo en la paila fue algo superior (~120 °C) a la utilizada en el laboratorio (~98-102 °C) el tiempo necesario para concentrar la mezcla y elaborar el producto fue similar al del laboratorio (~3 horas 20 minutos). En la Figura 7-3 se muestra el producto en la etapa final de su elaboración.



Figura 7-3. Etapa final del proceso de elaboración de dulce con aceite de nuez pecan.

Una vez alcanzado el punto final deseado, el producto fue transvasado por apertura de la salida inferior de la paila dulcera a un recipiente de acero inoxidable de 10 L de capacidad, fraccionándolo luego en frascos de vidrio de tamaños apropiados previamente esterilizados, de manera de contar con numerosas unidades independientes para las posteriores determinaciones y sus replicados (Figura 7-4).



Figura 7-4. Descarga de producto elaborado y envases listos para su almacenamiento.

El producto envasado (Figura 7-5) fue almacenado a 20 °C durante 6 meses.



Figura 7-5. Dulce lácteo con aceite de nuez pecan obtenido.

7.3.2 Caracterización del dulce lácteo obtenido

Luego de 24h de almacenamiento a 20 °C se realizaron las siguientes determinaciones sobre el dulce obtenido:

Contenido de humedad (%): por cuadruplicado, según 3.3.2.

Sólidos por refractometría (°Brix): según 3.3.2.

Rendimiento porcentual: según Ec. 4-1.

Determinaciones reológicas: Curvas de flujo y barridos de frecuencia según 3.3.3

7.3.3 Calidad del producto durante el almacenamiento

Los dulces de leche 0% lípidos almacenados, estudiados en el Capítulo 5, presentaron adecuadas características reológicas y microbiológicas, sin presentar además desarrollo de cristales durante un período de 6 meses a 20 °C. Además, el estado de oxidación en dulces con agregado de aceite de nuez pecan elaborado en el laboratorio, resultó adecuado durante 4 meses a 37 °C. Se corroboró, entonces que el cambio de escala no afectara negativamente, realizando las siguientes determinaciones a lo largo de su almacenamiento a 20 °:

Actividad acuosa: según 3.3.2.

Color: según 3.3.2.

Calidad microbiológica: según 5.3.2.

Cristalización de lactosa: según 5.3.2.

Características reológicas:

Curvas de flujo en estado estacionario: por cuadruplicado, según 3.3.3

Ensayos de esfuerzo oscilatorio: por cuadruplicado, según 3.3.3

Modelado matemático: Se modelaron las curvas de flujo según el modelo de HB (Capítulo 5, apartado 5.3.3).

Para modelar el comportamiento viscoelástico de los dulces a diferentes tiempos de almacenamiento se utilizó el modelo mecánico generalizado de Maxwell, tal como fue descrito en el Capítulo 5 (sección 5.4.2) utilizando el software IRIS (IRIS Development LLC, MA, EE.UU.). De esta manera, se obtuvieron los espectros discretos de tiempos de relajación correspondientes a 0, 2, 4 y 6 meses de almacenamiento a 20 °C.

Oxidación lipídica mediante la determinación de las Sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS): según 6.3.2.

Determinación del perfil lipídico

Sobre fases grasa extraídas del producto mediante la técnica de Rose-Gottlieb (AOAC 24.205, según 3.3.2) se realizó la esterificación de los ácidos grasos siguiendo la norma ISO 5509:2000. La fase grasa extraída en frío (0.1 g) fue disuelta en hexano grado HPLC y se agregó 0.3 mL de KOH en metanol. Se agitó vigorosamente durante 2 minutos y dejó reposar para que precipiten los jabones potásicos. Se agregó NaCl en solución sobresaturada agitando vigorosamente. Este procedimiento transformó los ácidos grasos en sus derivados más volátiles, los ésteres metílicos de ácidos grasos, condición necesaria para su posterior análisis por cromatografía gaseosa. La composición en ácidos grasos fue obtenida por cromatografía gaseosa (columna capilar Chrompack CP SIL 88, 50 m de longitud 50, i.d. 0.25 mm, 0.1- μ m film; Varian Inc., Palo Alto, CA, EE.UU.) mediante comparación de tiempos de retención relativos respecto de los estándares comerciales (metilésteres de ácidos grasos de 99% de pureza, NuCheck Prep. Inc, EE.UU), obtenidos en las mismas condiciones.

7.3.4 Análisis de aceptabilidad

Se realizó un ensayo de aceptabilidad mediante panel sensorial no entrenado de 74 miembros. Cada panelista recibió una muestra para evaluar los atributos "aceptabilidad general", "textura", "color" y "sabor" utilizando una escala hedónica de 10 puntos, siendo 1 "me disgusta" y 10 "me gusta" (Sosa y col., 2008) en una planilla como la presentada en la Figura 7-6, junto con un vaso con agua. Estos autores investigaron la metodología más adecuada para determinar la aceptabilidad de alimentos, concluyendo que la mayoría de los panelistas mostró una preferencia por la escala numérica respecto a la de casilleros, y justificaron que la escala de 1 a 10 fue elegida ya que es el sistema de calificación utilizado diariamente para muchas situaciones en Argentina. Simultáneamente se les proporcionó a

los evaluadores información acerca de la composición de la fase lipídica del producto a degustar, así como su efecto benéfico sobre la salud (Bølling Johansen y col., 2010).

Usted recibirá una muestra de dulce de leche a la cual se le ha reemplazado la grasa láctea por aceite de nuez pecan con el fin de mejorarle sus propiedades nutritivas, ya que los ácidos grasos presentes en la nuez ayudan a reducir el colesterol en sangre.

Por favor, evalúe cada atributo del producto desde 1 (me disgusta) hasta 10 (me gusta), asignando un valor en cada casillero:

Aceptabilidad general	<input type="checkbox"/>
Textura	<input type="checkbox"/>
Color	<input type="checkbox"/>
Sabor	<input type="checkbox"/>

Usted compraría el producto? Marque lo que corresponda: SI NO

Comentario:.....

Figura 7-6. Planilla presentada a los evaluadores para realizar el análisis de aceptabilidad del producto.

7.3.5 Aspecto nutricional

Se calculó el valor calórico del producto obtenido a escala planta piloto mediante las Kcal/100 g de dulce lácteo, en base al contenido proteico de la leche utilizada (Tabla 4-3), los carbohidratos presentes en el producto (provenientes de la leche y agregados), el aceite de nuez pecan incorporado a la formulación (Tabla 6-2) y el rendimiento obtenido en su elaboración. Se utilizaron los coeficientes de Atwater correspondientes a lípidos (9 Kcal/g), proteínas (4 Kcal/g) e hidratos de carbono (3.75 Kcal/g) (Cáceres y col., 2006).

7.3.6 Análisis estadístico

Fue realizado según 3.3.5.

7.4 Resultados y Discusión

El grado hidrólisis de lactosa en la leche empleada como materia prima fue de 61.6 (1.1)%, en el límite superior del rango deseado, lo que evitaría que la lactosa cristalice durante el almacenamiento del dulce, uno de los principales defectos de este tipo de productos. Zunino (1998) obtuvo un porcentaje de hidrólisis de lactosa del 80% a través de crioscopía con un tratamiento de 12 hs a 5°C para muestras de dulce de leche con agregado de suero de

queso, no observando presencia de cristales en los dulces almacenados por 6 meses a 5 °C y por 12 meses a temperatura ambiente.

Con la metodología aplicada y las condiciones elegidas se obtuvieron 14.2 kg de dulce lácteo con aceite de nuez pecan pre-emulsificada.

7.4.1 Características del dulce lácteo con aceite de nuez pecan

Las características fisicoquímicas del producto obtenido a escala piloto se detallan en la Tabla 7-1. El contenido de humedad fue inferior al límite máximo (40%) a fin de lograr una fase continua capaz de estabilizar las gotas de la emulsión presente. Los grados Brix se utilizaron como guía para establecer el punto final de elaboración.

Tabla 7-1. Características fisicoquímicas del producto obtenido en paila*.

Determinación	Resultado obtenido
Humedad (%)	33.6 (0.3)*
°Brix	65
Rendimiento (%)	30.4(0.1)*

*entre paréntesis se indica el error estándar

El rendimiento obtenido resultó adecuado. Roca y Cáceres (2011) obtuvieron un rendimiento del 40% en la elaboración de dulce de leche con reemplazo parcial de la leche fluida por leche reconstituida. Marcillo Molina y Villavicencio Cedeño (2012) elaboraron dulces de leche con diferentes proporciones de grasa y espesantes, encontrando rendimientos entre 28.34 (control) y 53.89%.

La curva de flujo correspondiente al producto elaborado a escala piloto se muestra en la Figura 7-7. Asimismo, a modo de comparación y referencia, se muestran una curva correspondiente al dulce elaborado en el laboratorio y una del producto comercial de primera marca, tradicional.

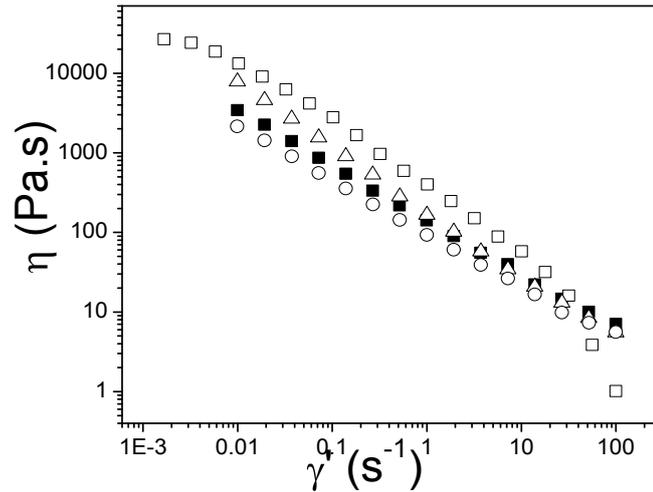


Figura 7-7. Curvas de flujo obtenidas correspondientes a: proceso en planta piloto (■), escala laboratorio (H%: 37.8, Δ), dulce de leche comercial tradicional (M2, Capítulo 3, □), y dulce de leche comercial light (M5, Capítulo 3, ○).

En la Figura 7-8 se ilustran los barridos de frecuencia del dulce lácteo analizado en este Capítulo, de un producto comercial tradicional y un producto light. Puede observarse que el comportamiento reológico del producto obtenido a escala piloto con aceite de nuez pecan se encuentra dentro de los rangos esperados para este tipo de producto. El módulo de almacenamiento resultó superior al módulo de pérdidas durante 4 décadas, pudiéndose observar que el comportamiento viscoelástico del dulce elaborado es intermedio entre el dulce de leche tradicional y el light, siendo también su contenido acuoso intermedio entre ambos dulces de leche (M2: 32.4% y M5: 35.3% de humedad, Figura 7-8).

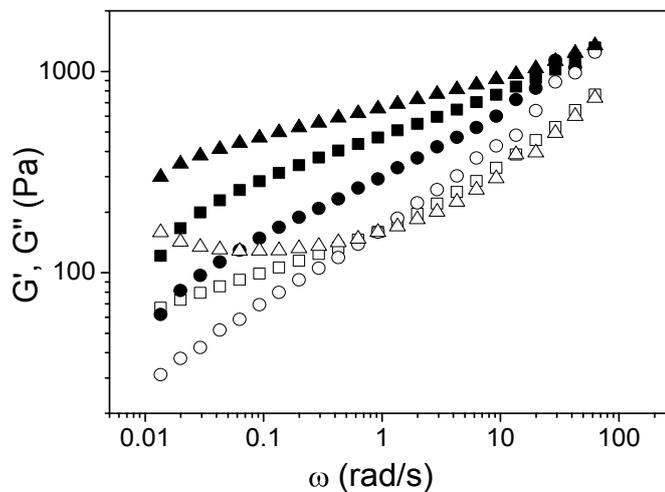


Figura 7-8. Barridos de frecuencia correspondientes a dulce lácteo con aceite pre-emulsificado obtenido a escala piloto (G' ■, G'' □), producto comercial light (M5 Capítulo 3, G' ●, G'' ○) y producto comercial tradicional (G' ▲, G'' Δ).

7.4.2 Calidad del producto almacenado

Durante el almacenamiento del dulce lácteo a 20 °C se realizaron las siguientes determinaciones a diferentes tiempos:

Actividad acuosa y color

La Tabla 7-2 muestra los resultados obtenidos de actividad acuosa (tiempo inicial, 3 y 6 meses de almacenamiento a 20 °C) y parámetros de color (tiempo inicial y final) para el producto con aceite de nuez pecan almacenado. Se puede observar que la actividad acuosa del dulce estuvo comprendida dentro de los rangos esperados para este tipo de producto (0.764 y 0.881 para DL comerciales y 0.722-0.942 para DL 0% lípidos, Capítulo 4, sección 4.4.2), con tendencia a aumentar a lo largo del almacenamiento, lo cual podría relacionarse con los reordenamientos macromoleculares mencionados en el Capítulo 5.

Los valores de los parámetros L* y b* fueron similares a los dulces de leche comerciales (L* entre 36.4 y 50.4; b* entre 16.9 y 26.1), mientras que los valores de a* estuvieron en el límite superior del rango encontrado para productos comerciales en el Capítulo 3 (6.56-9.07).

Tabla 7-2. Valores de a_w y color de dulce lácteo con agregado de aceite de nuez pecan elaborado a escala piloto a diferentes tiempos de almacenamiento a 20 °C*.

Determinación	Tiempo de almacenamiento a 20 °C		
	Inicial	3 meses	6 meses
a_w	0.845 ^b	0.851 ^{ab}	0.855 ^a
Color			
L*	38.7 (1.2)		39.1 (0.2)
a*	8.9 (0.1)		9.0 (0.1)
b*	19.4 ^a (0.6)		17.7 ^b (0.1)

*Supraíndices diferentes en la misma fila indican que hay diferencia significativa entre las medias (P<0.05). Entre paréntesis se indica el error estándar

Características reológicas

Curvas de flujo en estado estacionario

En la Figura 7-9 se muestran, a modo de ejemplo, las curvas de flujo obtenidas para 0, 2, 4 y 6 meses de almacenamiento a 20 °C, así como los correspondientes ajustes del modelo de HB a los datos experimentales. Asimismo, en la Tabla 7-3 se presentan los parámetros de dicho modelo obtenidos a lo largo del almacenamiento.

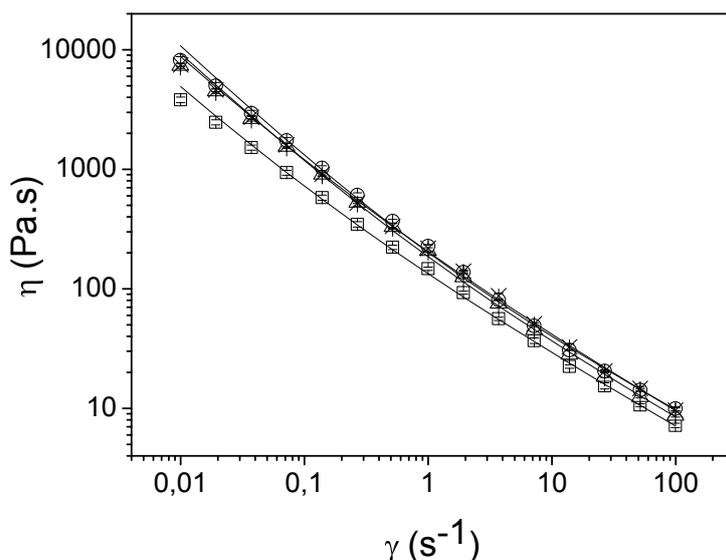


Figura 7-9. Curvas de flujo correspondientes a dulce con aceite de nuez pecan pre-emulsificado, elaborado a escala piloto a distintos tiempos de almacenamiento a 20 °C. Inicial (\square), 2 meses (Δ), 4 meses (\circ) y 6 meses (\times).

Para el dulce lácteo obtenido a escala piloto se observó un aumento de la viscosidad respecto de la inicial a los dos meses de almacenamiento a 20 °C, manteniéndose luego casi constante hasta los 6 meses. Este efecto coincidió con lo observado en formulaciones de DL 0% lípidos (Capítulo 5, apartado 5.4.2). Probablemente, los cambios en la emulsión láctea puedan ser atribuidos a cambios en la fase continua conteniendo goma xántica, la cual podría sufrir todas o algunas de las siguientes modificaciones estructurales con el tiempo de almacenamiento, ya reportadas en el Capítulo 5: agregación micelar (Álvarez de Felipe y col., 1991); interacciones entre moléculas de hidrocoloide o hidrocoloide/componentes de la leche (Comeron, 2012); refuerzo estructural o formación de gel durante el almacenamiento (Patil y Patel, 1992); gelificación por envejecimiento (Datta y Deeth, 2001); polimerización de glucosa (Rozycki, 2008); tendencia a la agregación de las moléculas de xántica (Bezemer y col., 1993; Carnali, 1991; Hacche y col., 1987; Southwick y col., 1980; Holzwarth, 1976) y reordenamiento de las proteínas de leche (Rozycki, 2008) las cuales, según Rovedo y col. (1991), necesitan un tiempo para adquirir una configuración equilibrada.

Las curvas de flujo obtenidas para el dulce lácteo con aceite a los distintos tiempos de almacenamiento fueron ajustadas satisfactoriamente por el modelo de Herschel-Bulkley, al igual que las formulaciones de DL 0% lípidos estudiadas en los Capítulos 4 y 5.

Tabla 7-3. Parámetros del modelo de HB obtenidos para dulce lácteo con aceite de nuez pecan pre-emulsificada durante su almacenamiento a 20 °C *.

Parámetros del modelo de HB	Tiempo de almacenamiento (meses)			
	0	2	4	6
σ_0 (Pa)	34.5 ^c (4.1)	77.9 ^{ab} (3.0)	95.0 ^a (8.9)	65.8 ^b (5.1)
K (Pa.s ⁿ)	99.0 ^b (4.2)	107.4 ^b (0.7)	106.1 ^b (5.5)	138.2 ^a (2.5)
n	0.42 ^b (0.01)	0.43 ^{ab} (0.01)	0.46 ^a (0.02)	0.40 ^b (0.01)

*Supraíndices iguales en la misma fila indican que no hay diferencia significativa entre los parámetros ($P > 0.05$). Entre paréntesis se indica el error estándar.

Así como se observó en muestras de DL 0% lípidos, el parámetro σ_0 aumentó marcadamente entre el tiempo inicial y los 2 meses de almacenamiento, manteniéndose luego prácticamente constante.

Al igual que en los DL 0% lípidos estudiados en el Capítulo 5, el tiempo de almacenamiento también fue un factor significativo para el parámetro K . En el caso del dulce elaborado con aceite de nuez pecan se observó un claro aumento de dicho parámetro entre el cuarto y sexto mes de almacenamiento a 20 °C. Mientras que el tiempo de almacenamiento no influyó en el parámetro n .

Ensayos de esfuerzo oscilatorio

El espectro mecánico obtenido para el dulce lácteo con aceite de nuez pecan mostró una leve dependencia de G' y G'' con la frecuencia en todos los tiempos ensayados, sin mostrar un mínimo en G'' ; asimismo el modelo de Maxwell con 6 elementos ajustó satisfactoriamente a los datos experimentales, comportamiento que no presentó diferencias importantes con respecto al dulce de leche 0% lípidos (Capítulo 5). En la Figura 7-10 se muestran la variación de los módulos elástico (G') y viscoso (G'') con la frecuencia, y el respectivo ajuste del modelo de Maxwell generalizado.

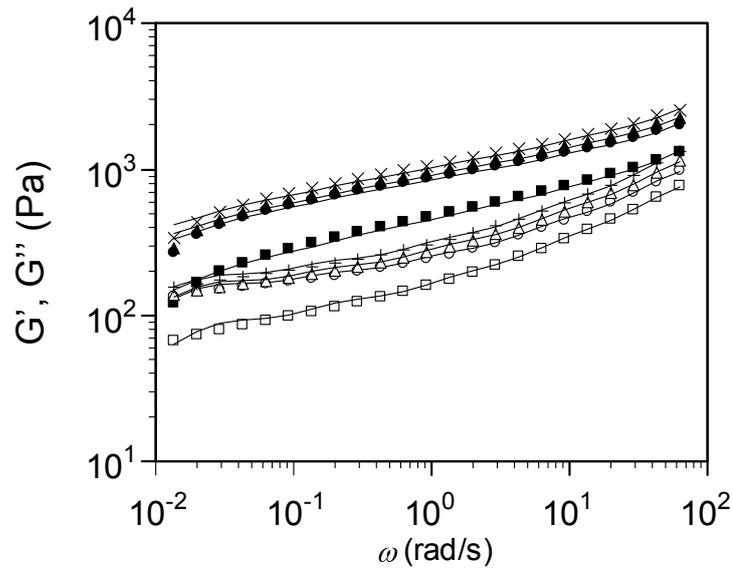


Figura 7-10. Barridos de frecuencia del dulce lácteo con aceite de nuez pecan elaborado a escala piloto y los respectivos ajustes del modelo de Maxwell a los datos experimentales, a lo largo del almacenamiento a 20 °C. Inicial (G' ■, G'' □), 2 meses (G' ●, G'' ○), 4 meses (G' ▲, G'' △), 6 meses (G' + , G'' x).

Los espectros discretos de tiempos de relajación obtenidos para el dulce lácteo con aceite de nuez pecan a lo largo del almacenamiento se ilustra en la Figura 7-11.

La forma del espectro de tiempos de relajación se corresponde con lo expuesto para dulces 0% lípidos (Capítulo 5, Sección 5.4.2), presentando dos fases, una que ocurre en períodos de tiempo cortos (10^{-2} s – 10 s) y otra en períodos de tiempo más largos (10 s - 10^3 s), pasando por un mínimo en la región donde los módulos de almacenamiento fueron planos, las diferencias más marcadas con el tiempo de almacenamiento se observaron, también en este caso, en la última fase (Figura 7-11). Una vez conocidos los espectros de tiempos de relajación discretos, se calculó el módulo plateau (G_N^0) correspondiente a cada tiempo de almacenamiento según la Ec. 5-8. En la Tabla 7-4 se muestran los valores obtenidos para dicho módulo.

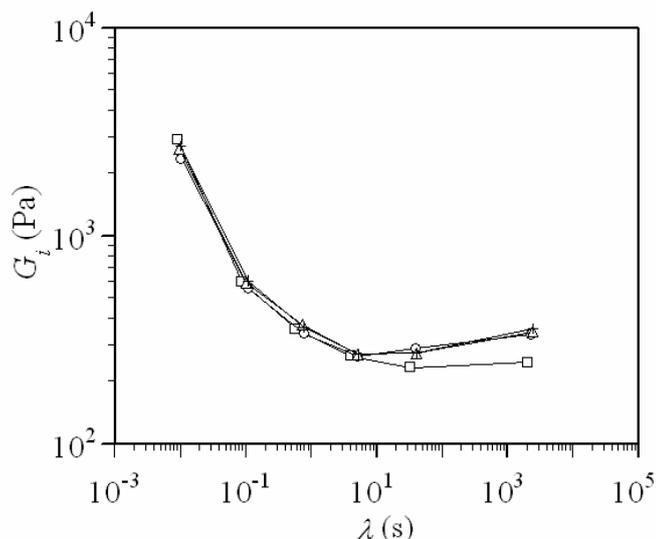


Figura 7-11. Espectros discretos de tiempos de relajación de dulce lácteo con aceite de nuez pecan elaborado a escala piloto, correspondientes a diferentes tiempos de almacenamiento a 20°C. Inicial, (□); 2 meses, (○); 4 meses, (△); 6 meses (+).

Tabla 7-4. Módulo plateau correspondiente al dulce con aceite de nuez pecan elaborado a escala piloto a diferentes tiempos de almacenamiento a 20 °C*.

	Tiempo de almacenamiento (meses)			
	0	2	4	6
Módulo Plateau	2.5x10 ^{3a}	3.4x10 ^{3ab}	4.0x10 ^{3b}	4.0x10 ^{3b}
(Pa)	(227)	(358)	(528)	(578)

* Supraíndices iguales indican que no hay diferencia significativa entre las medias (P>0.05). Entre paréntesis se indica el error estándar.

Se observó una tendencia del módulo plateau a incrementarse a lo largo del almacenamiento, lo cual también se había evidenciado en las formulaciones de dulce de leche 0% lípidos de bajo contenido acuoso estudiadas en el Capítulo 5 (Sección 5.4.2), siendo los valores de dicho módulo algo superiores en la formulación con aceite de nuez pecan respecto a los correspondientes valores de las formulaciones 0% lípidos.

Se obtuvieron las curvas maestras utilizando como factor de normalización la inversa del módulo plateau (G_N^0) para cada tiempo de almacenamiento (Lorenzo y col., 2011). Los espectros correspondientes a los 2, 4 y 6 meses de almacenamiento fueron satisfactoriamente superpuestos, mientras que el correspondiente a tiempo inicial mostró un apartamiento, lo cual es mostrado en la Figura 7-12.

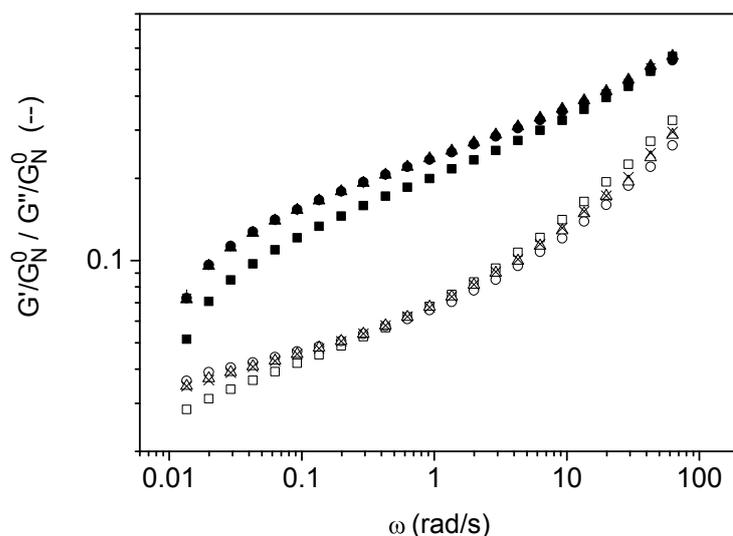


Figura 7-12. Curvas maestras de barridos de frecuencia de muestras de dulce lácteo con aceite de nuez pecan elaborado a escala piloto a diferentes tiempos de almacenamiento.

Inicial ($G'■$, $G''□$), 2 meses ($G'●$, $G''○$), 4 meses ($G'▲$, $G''△$), 6 meses ($G'+$, $G''x$).

La no superposición de la curva de tiempo inicial con las restantes manifestaría una estructura aún no establecida, algo diferente de la correspondiente a mayores tiempos de almacenamiento. Dicho efecto estaría eventualmente relacionado con los cambios estructurales de los diferentes componentes del dulce a lo largo del almacenamiento mencionados anteriormente. En principio, dichas variaciones con el tiempo de almacenamiento, no podrían adjudicarse a la emulsión propiamente dicha, sino a las modificaciones en su fase continua, ya que tendencias muy similares en los parámetros reológicos fueron observadas en dulces 0% lípidos.

Calidad microbiológica

El recuento de microorganismos, tanto de hongos y levaduras como de *Estafilococos coagulasa positiva*, realizado sobre el producto estuvo por debajo del límite de detección del método ($2 \log \text{UFC/g}$) durante los 6 meses de almacenamiento a 20°C . Estos resultados son adecuados dado el tratamiento térmico realizado para la obtención del producto como por las características del envasado aséptico, que permiten una vida útil de 6 meses a 20°C en estas condiciones.

Cristalización de lactosa

En el dulce lácteo con aceite de nuez pecan obtenido en escala piloto no se observó formación de cristales de α -lactosa típicos en el lapso de tiempo considerado como vida útil esperada para el mismo (6 meses). En la Figura 7-13 se observan a modo de ilustración

micrografías de muestras tomadas a los 6 meses de almacenamiento a 20 °C. Este defecto, entonces, resultó controlado mediante el tratamiento de la leche empleada para la elaboración del producto con lactasa, que redujo en un ~60% el contenido de lactosa de la misma, y evitó así su cristalización durante el almacenamiento.

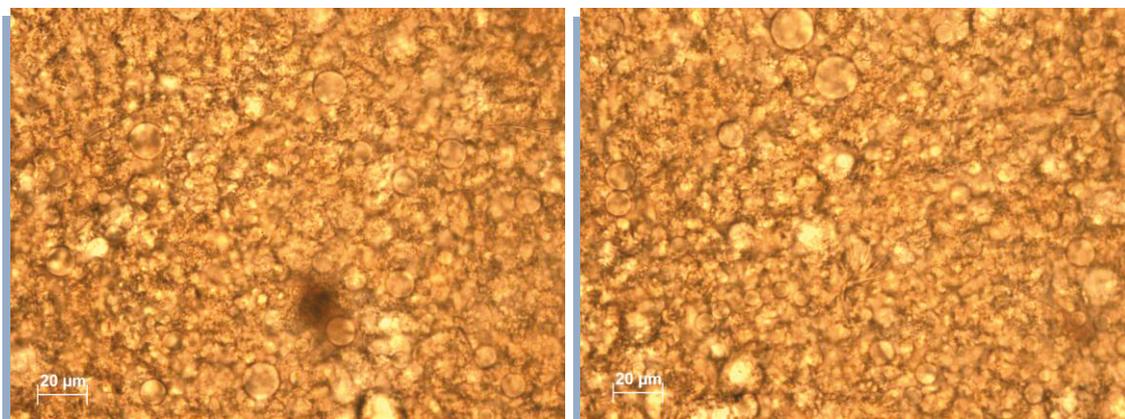


Figura 7-13. Micrografías electrónicas de muestra de dulce lácteo con aceite de nuez pecan elaborado a escala piloto tomadas a los 6 meses de almacenamiento a 20 °C.

Oliveira y col. (2009) encontraron una nueva forma de cristales de lactosa en dulce de leche después de 30 días de almacenamiento a 30 °C. Estos cristales presentaron forma de esferulita, que posee un punto de intersección central para todos los componentes alargados, que no siguen ningún patrón específico con respecto a su distribución y tamaño, siendo la única característica común el punto de intersección central. Asimismo, reportaron que la nueva forma de cristal no se corresponde con ninguno de los otros carbohidratos porque dichas moléculas no alcanzan los niveles de saturación en el "dulce de leche".

En algunas de las micrografías obtenidas de muestras de dulce lácteo con aceite de nuez pecan a los 6 meses de almacenamiento, se observaron con baja frecuencia de aparición ciertas estructuras que podrían tener similitud con los cristales mencionados anteriormente (Figura 7-14). Sin embargo, en caso de tratarse de cristales no típicos, los mismos no fueron detectados sensorialmente en todo el período de almacenamiento considerado.

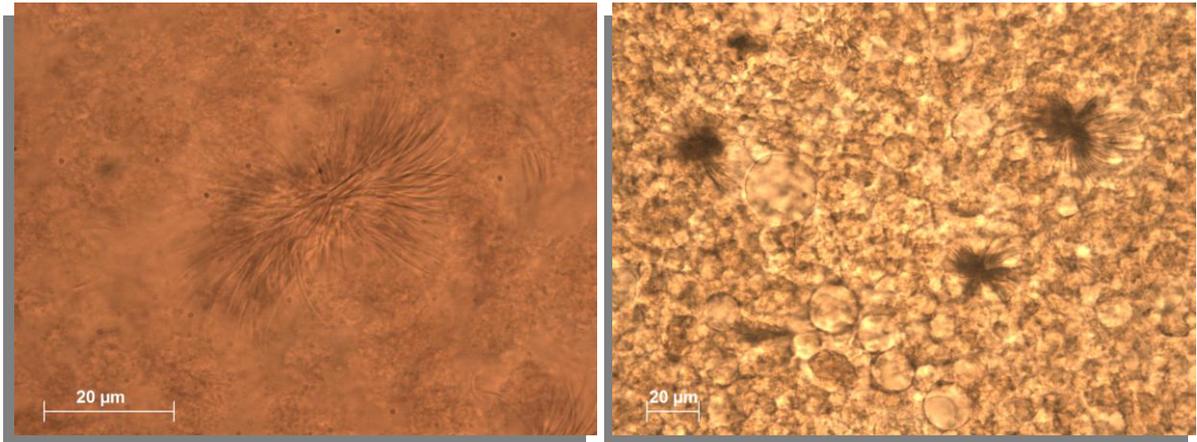


Figura 7-14. Micrografías electrónicas de dulce con agregado de aceite de nuez pecan elaborado a escala piloto tomadas a los 6 meses de almacenamiento a 20 °C.

Oxidación lipídica

La Figura 7-15 muestra los valores de TBARS correspondientes a la oxidación lipídica del dulce lácteo con aceite de nuez pecan conteniendo 1000 ppm de tocoferoles naturales. Los valores de TBARS resultaron algo menores que los encontrados para productos elaborados con aceite de nuez pecan a escala laboratorio y almacenados a 37 °C durante 4 meses 120 días (dulce control: 1.9 a 8.0; 500 ppm de tocoferoles: 2.6 a 8.1; 1000 ppm de tocoferoles: 3.6 a 8.4 mg MDA/Kg prod seco). TBARS no varió significativamente durante 138 días de almacenamiento, incrementándose posteriormente.

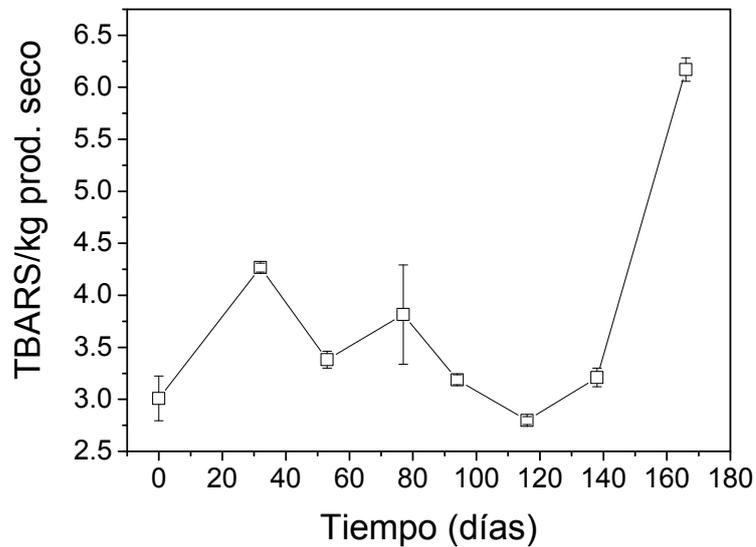


Figura 7-15. Valores de TBARS para dulce elaborado con aceite de nuez pecan con 1000 ppm de tocoferoles, a escala piloto a diferentes tiempos de almacenamiento a 20 °C

Candebat y col. (1998) almacenaron muestras de leche condensada y midieron TBARS durante el tiempo de almacenamiento de productos provenientes de 3 fábricas diferentes. Los valores iniciales de TBARS estuvieron comprendidos entre 41.7 y 57.2 mg MDA/kg de producto, llegando luego de 5 meses de almacenamiento a 28 °C a valores de entre 65.8 y 84.9. Estos autores observaron un ascenso inicial y un descenso posterior de las TBARS durante el período almacenado, lo cual no fue observado en los estudios oxidativos realizados en dulce en la presente Tesis. Los valores obtenidos en el presente estudio expresados como mg MDA/kg producto (inicial: 2.0, 166 días: 4.1) resultaron mucho menores que los reportados por dichos autores, probablemente debido a un estado oxidativo superior de la materia prima con la cual se elaboró la leche condensada y a la mayor temperatura de almacenamiento ensayada por Candebat y col. (1998), aunque los valores de TBARS expuestos en la Tabla 6-6 del Capítulo 6, donde los dulces fueron almacenados a 37 °C, tampoco alcanzaron los valores mencionados para leche condensada. Este retardo de la oxidación de los lípidos pudo atribuirse al efecto protector de los tocoferoles agregados en una proporción probadamente efectiva, combinado con las contribuciones de alguno de los componentes presentes en el producto con capacidad antioxidante, como de las proteínas y los compuestos de Maillard (ver apartado 6.1.2).

El aumento de la oxidación lipídica durante el almacenamiento fue también menor, como se esperaba, cuando el dulce fue almacenado a 20 °C (escala planta piloto) con respecto al almacenado a 37 °C.

Perfil lipídico

El perfil de ácidos grasos obtenido en el dulce con aceite de nuez pecan correspondiente a 0, 3 y 6 meses de almacenamiento se presenta en la Tabla 7-5, así como también datos bibliográficos referidos a la composición de ácidos grasos del aceite de nuez pecan USDA, 2015).

El perfil lipídico de la fase grasa del producto presentó muy alta proporción de ácidos grasos insaturados (89-90%), mayoritariamente oleico (C18:1 n-9 cis) y linoleico (C18:2 n-6 cis), por lo cual dista mucho de la composición de la fase grasa láctea de un dulce de leche tradicional.

Esta gran diferencia en la fase grasa posiciona el producto desarrollado como una alternativa más saludable desde el punto de vista lipídico con respecto al producto convencional en base a las recomendaciones de los especialistas, como fue mencionado en el Capítulo 1.

Tabla 7-5. Perfil de ácidos grasos de dulce lácteo con aceite de nuez pecan pre-emulsificado conteniendo 1000 ppm de tocoferoles elaborado a escala piloto, a diferentes tiempos de almacenamiento a 20 °C*.

Ácido graso (g/100g del total de ácidos grasos)	Tiempo de almacenamiento (meses)			USDA (2015)
	0	3	6	
Mirístico (C14:0)	0.2 ^a	0.1 ^b	0.1 ^b	
Pentadecanoico (C15:0)	0.5	0.4	0.4	
Pentadecenoico (C15:1 n-9)	0.15	0.1	0.1	
Palmítico (C16:0)	6.6	6.4	6.4	6.4
Palmitoleico (C16:1 n-7)	0.1	0.1	0.1	
Heptadecanoico (C17:0)	0.2 ^a	0.1 ^b	0.1 ^b	
Heptadecenoico (C17:1 n-7)	0.1	ND	0.1	
Esteárico (C18:0)	3.05 ^a	3.1 ^a	2.7 ^b	2.5
Elaidico (C18:1 n-9 trans)	ND	0.3	0.1	
Oleico (C18:1 n-9 cis)	62.5	62.3	62.4	59.4
Linoleico (C18:2 n-6 cis)	25.4	24.8	26.0	30.2
γ-Linolénico (C18:3 n-6)	0.3	0.1	ND	1.5
α-Linolénico (C18:3 n-3)	1.0 ^b	1.3 ^a	1.2 ^{ab}	
Docosaenoico (C22:1 n9)	ND	0.7	ND	
Total AGS	10.6	9.9	9.8	8.9
Total AGI	89.4	90.1	90.1	91.1
Total AGMI n-7	0.15	0.1	0.2	
Total AGMI n-9	62.7	62.8	62.6	
Total AGI trans	N/D	0.3	0.1	
Total AGPI n-6	25.6	25.6	26.0	
Total AGPI n-3	1.0	1.4	1.2	
Relación AGS/AGI	0.1	0.1	0.1	
IA	0.08	0.08	0.08	
IT	0.2	0.2	0.2	

*Supraíndices diferentes en la misma fila indican que hay diferencia significativa entre las medias (P<0.05). AGS: ác. grasos saturados, AGI: ác. grasos insaturados, AGMI: ác. grasos mono-insaturados, AGPI: ác. grasos poli-insaturados, IA: Índice aterogénico, IT: Índice trombogénico.

Los perfiles de ácidos grasos obtenidos de las fases grasas extraídas del producto elaborados con aceite de nuez pecan no mostraron alteraciones significativas durante el almacenamiento a 20 °C, poniendo de manifiesto el efecto protector de los tocoferoles naturales agregados y de los compuestos presentes en el dulce con actividad antioxidante. Aunque los ácidos grasos insaturados presentes en alta proporción en el aceite de nuez pecan son susceptibles a la oxidación, no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) al comparar los valores de los ácidos oleico y linoleico a diferentes tiempos de almacenamiento.

Hay evidencias que indican que el tipo de grasa es más importante que la cantidad total para el riesgo de enfermedad cardiovascular. En este contexto, ecuaciones predictivas, como el índice de aterogenicidad (IA; Ec. 7-1) y de trombogenicidad (IT; Ec. 7-2), han sido utilizadas para estimar el efecto del perfil de ácidos grasos de los alimentos sobre el colesterol plasmático y la concentración lipoproteica (Ayo y col., 2007).

Se calcularon estos dos índices mediante las Ec. 7-1 y 7-2, utilizando el perfil de ácidos grasos del producto para complementar la información obtenida y determinar el impacto potencial en la salud de sus consumidores. Las ecuaciones que definen ambos índices se presentan a continuación:

$$IA = \frac{C_{12:0} + 4 \cdot C_{14:0} + C_{16:0}}{AGPI_{n-6} + AGPI_{n-6} + AGMI} \quad \text{Ec. 7-1}$$

$$IT = \frac{C_{12:0} + C_{14:0} + C_{16:0}}{\left[\frac{1}{2} AGPI_{n-6} + 3 \cdot AGPI_{n-3} + \frac{1}{2} AGMI + \frac{AGPI_{n-3}}{AGPI_{n-6}} \right]} \quad \text{Ec. 7-2}$$

Donde: AGMI, AGPI, $AGPI_{n-3}$, $AGPI_{n-6}$ corresponden a los parámetros informados en la Tabla 7-5. $C_{N:i}$ corresponde a los distintos ácidos grasos expresados en g/100g lípidos.

Ulbricht y Southgate (1991) definieron estos índices, los cuales tienen en cuenta las interacciones entre los diferentes ácidos grasos, permitiendo una evaluación integrada de los lípidos dietarios y su efecto en la salud coronaria. Valores de IA y IT superiores a la unidad (> 1) están asociados a un efecto perjudicial para la salud humana (Subhadra y col., 2006). Puede observarse en la Tabla 7-5 que los valores de ambos indicadores se encuentran muy por debajo del valor mencionado por Subhadra y col. (2006), por lo que el perfil de lípidos presentes en el dulce con agregado de aceite de nuez pecan tendría un

efecto benéfico sobre el colesterol plasmático y la concentración lipoproteica.

En el presente estudio se presentaron numerosos aspectos de calidad evaluados durante el almacenamiento, algunos de los cuales sufrieron pequeños cambios con el tiempo, pero en ningún caso fueron de gran magnitud. La oxidación lipídica fue retardada con éxito, los cristales de lactosa típicos que producen rechazo por parte del consumidor no fueron encontrados, mientras que todos los parámetros reológicos evaluados presentaron valores dentro del rango esperado para este tipo de productos, sin afectar de manera drástica las características generales del dulce, a pesar de las pequeñas variaciones registradas dentro de los primeros meses de almacenamiento a 20 °C.

Según Garitta y col. (2004), no se espera que un producto almacenado sea exactamente el mismo que recién elaborado, sin embargo, las diferencias sensoriales deben ser suficientemente pequeñas para no alterar la aceptabilidad del producto significativamente. En el dulce de leche se producen normalmente cambios de color y textura durante el almacenamiento, así como también se desarrollan off-flavors (tales como sabor plástico o químico) debido al material del packaging o bien sabor a quemado debido a reacciones de caramelización o reacciones de Maillard que continúan luego de la elaboración del producto (Garitta y col., 2004).

7.4.3 Análisis de aceptabilidad

El análisis sensorial se torna de suma utilidad en la medición de la calidad orientada al consumidor. Presenta numerosos usos y resulta muy útil especialmente hoy en día donde la calidad ha pasado a ser el factor muchas veces decisivo en la elección de alimentos. Es una técnica que se utiliza, de manera general, para el desarrollo de un nuevo producto, el estudio de la influencia de modificaciones en la formulación o en el proceso de fabricación del producto, determinar las condiciones óptimas de conservación y situar el producto frente a la competencia (Villaruel y col, 2011).

En particular, en los análisis de aceptabilidad, lo que se pretende es dictaminar el grado de aceptación que tendrá un producto, siendo a veces deseable conocer la relación subjetiva o impulsiva del catador. En este análisis, las pruebas las pueden realizar personas poco expertas en el análisis sensorial, pero que respondan al medio social o cultural al que va destinado el producto, ya que la finalidad de la prueba es conocer si el producto será o no aceptado por el consumidor (Valls y col., 1999).

En el ensayo de aceptabilidad del dulce lácteo con aceite de nuez pecan, todos los atributos tuvieron, en general, muy buenas calificaciones. En la Figura 7-16 se muestra la frecuencia relativa acumulada de cada uno de los atributos evaluados. Más del 90% de los panelistas calificaron los atributos con una nota superior a 7, indicando muy buena aceptación de la

nueva confitura láctea por parte de los panelistas. Para el atributo “aceptabilidad general” el promedio resultó en 8.5 (0.1), mientras que para la textura fue de 8.7 (0.1), para el color de 9.1 (0.1) y para el sabor de 8.4 (0.2). A pesar que el valor correspondiente al sabor fue levemente inferior (aunque de todas formas elevado) al resto de los atributos, según Hough y col. (1986b; 1992) para el consumidor el color y la textura eran más importantes que el sabor. En cuanto al color, las preferencias del mercado no son uniformes, hecho que se refleja en la gama de colores que allí se oferta (Pauletti, 2001).

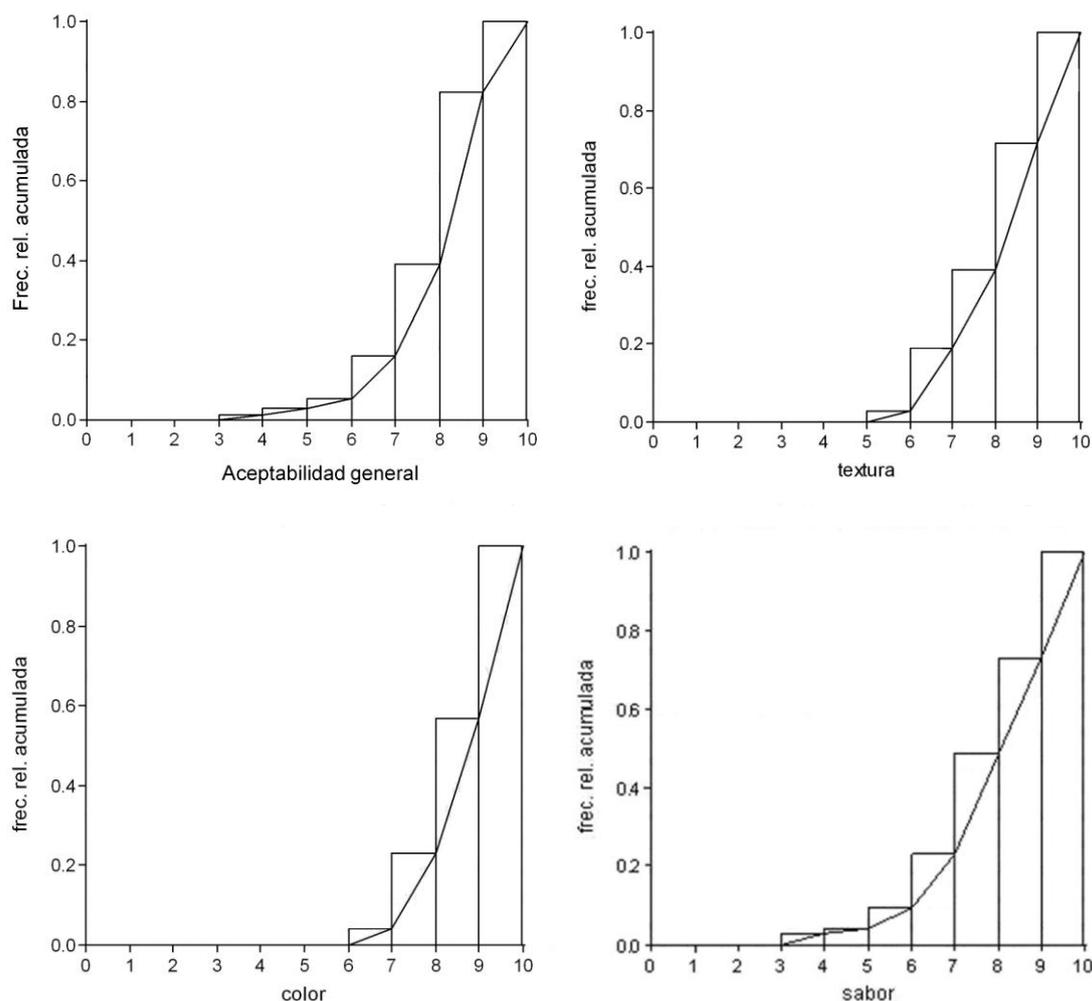


Figura 7-16. Frecuencia relativa acumulada de las calificaciones de los diferentes atributos evaluados en ensayo de aceptabilidad de dulce lácteo con aceite de nuez pecan.

Según Guinard y col. (1997), la eliminación o disminución del contenido en grasa de un alimento da lugar a cambios en su composición y estructura, que se manifiestan en modificaciones perceptibles en su color, sabor y textura. Asimismo, aunque con la adición de sustitutos de grasa basados en proteínas o en carbohidratos es posible conseguir que el comportamiento reológico de los alimentos bajos en grasa sea similar al de los correspondientes alimentos grasos, no siempre se consigue igualar la sensación de textura

percibida sensorialmente, especialmente en lo referente a atributos como la cremosidad, sensación grasa o suavidad (Costel Ibañez, 2010). Cabe destacar que en el presente caso, además de eliminar la grasa láctea, se incorporaron lípidos de origen vegetal, los cuales poseen características físico-químicas y sensoriales muy distantes de la grasa normalmente presente en el dulce de leche. A pesar de ello, los resultados del ensayo de aceptabilidad del dulce lácteo con aceite de nuez pecan presentado en la Figura 7-16, mostraron que porcentajes superiores al 90% de los panelistas calificaron con nota 7 o mayor todos los atributos, incluyendo el sabor y la textura.

Por lo tanto, podemos concluir que el reemplazo por aceite de pecan de la fase grasa láctea no produjo alteraciones desfavorables en sus caracteres organolépticos, obteniéndose un dulce de buenas características y de consistencia similar al tradicional comercial pero conteniendo aceite de pecan.

7.4.4 Aspecto nutricional

El valor energético del dulce lácteo con aceite de pecan dio como resultado unas 308 Kcal/100 g de producto. Si se compara este valor con los declarados en rótulos de productos comerciales (expuestos en el Capítulo 3, sección 3.3.1), puede observarse que dicha confitura láctea se correlaciona con los productos tradicionales y repostero en cuanto a su valor calórico.

Por otro lado, teniendo en cuenta la composición lipídica de los dulces de leche comerciales tradicionales y repostero del Capítulo 3 (M1, M2 y M3 de la Tabla 3-1) y la proporción de ácidos grasos saturados de la leche de origen vacuno (65%, USDA, 2015) y del aceite de nuez pecan (9%, USDA, 2015), se puede concluir que el dulce lácteo con aceite de nuez pecan poseería un 88% menos de ácidos grasos saturados y 120% más de insaturados por 100 g de producto respecto a un dulce de leche tradicional.

La elaboración a escala piloto del dulce lácteo a partir de leche totalmente descremada, con aceite de nuez pecan y antioxidantes incorporados produjo un producto de características dentro de un rango aceptable para el consumidor, similares a los dulces obtenidos a escala laboratorio y a de productos comerciales.

El dulce lácteo logrado podría considerarse una alternativa al dulce de leche tradicional, pero con mejor valor nutricional desde el punto de vista lipídico, por el demostrado mejor balance de ácidos grasos en favor de los insaturados, así como también por la ausencia de colesterol en la formulación por tratarse de un producto elaborado a partir de leche totalmente descremada.

Los resultados presentados en este Capítulo conforman un estudio hacia una posible aplicación industrial de este producto lácteo diferenciado.

7.5 Conclusiones parciales

✓ Pudo elaborarse con éxito el producto a escala piloto, obteniendo un dulce lácteo con aceite de nuez pecan con características fisicoquímicas y reológicas muy similares a las obtenidas a escala laboratorio y a productos comerciales.

✓ Las variables evaluadas durante los 6 meses de almacenamiento a 20 °C mostraron un producto estable en todos sus atributos de calidad analizados (características reológicas, microbiológicas, desarrollo de cristales de α -lactosa, parámetros de color, oxidación lipídica y composición de ácidos grasos).

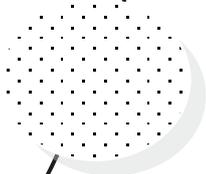
✓ Las pequeñas variaciones en el comportamiento reológico del dulce lácteo, en favor de una estructura más firme debidas al reacomodamiento de sus macromoléculas, favorecería la estabilidad de la emulsión formada.

✓ El análisis sensorial del producto evidenció una muy buena aceptación de la nueva confitura láctea por parte de los panelistas.

✓ El valor calórico aproximado del dulce lácteo resultó similar a los productos tradicionales y repostero comerciales analizados. Dicho producto poseería un 88% menos de ácidos grasos saturados y 120% más de insaturados por 100 g de producto respecto a un dulce de leche tradicional, además de no poseer colesterol en su composición.

Conclusiones generales

Capítulo 8



- ✓ En la evaluación de las características físico-químicas de diferentes dulces de leche comerciales se observaron diferencias en sus contenidos de humedad, siendo más bajos para el tradicional tipo Premium y más elevada para un producto tipo bajas calorías, observando la misma tendencia para la actividad acuosa, atribuido a variaciones en sus formulaciones. Los productos con mayor contenido de °Brix fueron los de tipo tradicional Premium y repostero. Asimismo, el parámetro cromático L^* fue el que presentó mayor variación entre las muestras.
- ✓ Todos los DL comerciales mostraron un comportamiento pseudoplástico. Las curvas de flujo se modelaron usando el modelo de Cross modificado; el DL Premium presentó mayor η_0 que el DL repostero. El comportamiento viscoelástico del DL fue modelado satisfactoriamente usando la ecuación de Baumgärtel, Schausberger y Winter generalizada para predecir el espectro de relajación mecánica en el rango de viscoelasticidad lineal. La fluencia fue predicha a partir de este espectro y comparada con los datos experimentales para confirmar el correcto ajuste del espectro mecánico. Se predijeron propiedades mecánicas mediante ensayos de flujo, creep y dinámicos, resultando dichas predicciones consistentes por los tres métodos.
- ✓ Se elaboraron dulces de leche 0% lípidos a partir de leche totalmente descremada y agregado de goma xántica. El modelo de Herschel-Bulkley ajustó adecuadamente a los datos experimentales de las curvas de flujo de todos los dulces de leche 0% lípidos estudiados. Se obtuvieron ecuaciones predictivas, tanto para la predicción de los parámetros del modelo de HB, como para la viscosidad a $\dot{\gamma}=7.2 \text{ s}^{-1}$, en función del contenido acuoso y de goma xántica de las formulaciones elaboradas. Dichas correlaciones se utilizaron para seleccionar la combinación correcta de humedad y goma xántica necesarias para obtener un producto 0% lípidos con características reológicas similares a muestras comerciales de primera marca, validándose satisfactoriamente la curva de flujo predicha por el modelo.
- ✓ Se prepararon dulces de leche 0% lípidos según características de viscosidad buscadas (elaborados con leche de contenido de lactosa normal y reducido), los que fueron almacenados durante 6 meses a 20 °C. No se observó desarrollo de cristales de α -lactosa, microorganismos ni cambios importantes en el pH. Las mayores variaciones en las medidas reológicas (curvas de flujo y barridos de frecuencia) fueron observadas en las formulaciones con menor contenido de humedad. El aumento en las características elásticas de los dulces de leche 0% lípidos ocurrió principalmente entre el primer y segundo mes de almacenamiento, lo cual podría atribuirse a cambios en la estructura del sistema por interacciones entre macromoléculas o bien polimerización de glucosa durante el almacenamiento.

- ✓ Se elaboró DL con 5% de aceite de nuez pecan emulsificando dicho aceite en parte de la leche 0% lípidos previo al calentamiento.
- ✓ El aceite de nuez pecan exhibió mejor estabilidad oxidativa en ensayos de oxidación acelerada respecto al aceite de canola, por lo que se continuó el estudio con dicho aceite. Asimismo, el agregado de tocoferoles naturales aumentó significativamente la estabilidad oxidativa tanto del aceite de nuez pecan como del producto con aceite durante 4 meses de almacenamiento a 37 °C, resultando los productos también estables al cremado y presentando buenas características organolépticas en dichas condiciones.
- ✓ Pudo elaborarse con éxito el producto a escala planta piloto, el que resultó estable en todos sus atributos de calidad analizados durante los 6 meses de almacenamiento a 20 °C (características reológicas, microbiológicas, desarrollo de cristales de α -lactosa, parámetros de color, oxidación lipídica y composición de ácidos grasos).
- ✓ El producto obtenido con aceite de pecan presentó características organolépticas y de consistencia adecuadas y similares al producto tradicional. El análisis de aceptación del producto presentó altas calificaciones de los atributos evaluados de la confitura láctea por parte de los evaluadores.
- ✓ El valor calórico aproximado del dulce lácteo resultó similar a los productos tradicionales y repostería comerciales analizados. Sin embargo, además de no poseer colesterol en su composición, dicho producto poseería un 88% menos de ácidos grasos saturados y 120% más de insaturados respecto a un dulce de leche tradicional.

Publicaciones realizadas

Los ensayos realizados en esta **Tesis** dieron lugar a los siguientes trabajos publicados:

➤ **Trabajos en revistas internacionales con referato:**

-N. Ranalli, S.C. Andrés and A.N. Califano (2012). "Physicochemical and rheological characterization of "dulce de leche". Journal of Texture Studies 43 (2) 115-123.

➤ **Trabajos en capítulos de libro:**

- Ranalli, Natalia; Andrés, Silvina C. and Califano, Alicia N. (2012). 'Relationship between flow characteristics and composition of fat-free "Dulce de leche"'. En Rheology: Theory, Properties and Practical Applications. Nova Science Publishers, Inc.

➤ **Trabajos en congresos**

- N. Ranalli, S.C. Andrés y A. N. Califano (2009) - "Caracterización reológica y fisicoquímica de dulces de leche comerciales", presentado en el XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos, que tuvo lugar en Concordia – Entre Ríos – del 7 al 9 de octubre. Acta en CD. ISBN 978-78-22165-3-5 capítulo 1:46.

- Natalia Ranalli, Silvina C. Andrés, Alicia N. Califano (2011) – "Predicción de la viscosidad de un producto tipo dulce de leche libre de lípidos mediante metodología de superficie de respuesta", presentado en el XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos que tuvo lugar en la ciudad autónoma de Buenos Aires, del 19 al 21 de octubre de 2011. Acta en CD.

➤ **Participación en Congresos:**

- N. Ranalli, S. C. Andrés and A. N. Califano (2011). "Physicochemical and rheological characterization of "dulce de leche" (milk jam)", presentado en "The 2011 IFT Annual Meeting & Food", New Orleans, Louisiana, USA, del 11 al 14 de junio de 2011. Presentado en poster.

- N. Ranalli, S.C. Andrés, A.N. Califano (2012). Efecto del almacenamiento sobre parámetros de calidad de producto tipo "dulce de leche" libres de lípidos, presentado en el IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICYTAC 2012), que tuvo lugar en la ciudad de Córdoba, del 14 al 16 de noviembre. Presentado en poster.

- N. Ranalli, S. C. Andrés, A. N. Califano (2013). Efecto del agregado de tocoferoles sobre la estabilidad oxidativa de aceite de nuez de pecan, presentado en el XIV Congreso Cytal (CongresCICyTAC 2012), que tuvo lugar en la ciudad de Rosario, del 23 al 25 de octubre. Presentado en poster.
- N. Ranalli, S.C. Andrés, A.N. Califano (2014). Aplicación de la técnica de “sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico” (TBARS) para determinación de oxidación lipídica en muestras coloreadas azucaradas, presentado en “Food Innova 2014”, realizado en la ciudad de Concordia-Entre Ríos, del 20 al 23 de octubre de 2014. Presentado en poster.
- N. Ranalli, S.C. Andrés, A.N. Califano (2014). Estabilidad oxidativa de producto lácteo azucarado conteniendo aceite de nuez pecan, presentado en “Food Innova 2014”, realizado en la ciudad de Concordia-Entre Ríos, del 20 al 23 de octubre de 2014. Presentado en poster.

Referencias bibliográficas

- Aguilera, J. M. (1995). "Gelation of whey proteins". *Food Technology*, 49, 83-89.
- AHA - American Heart Association (2013). 2013 AHA/ACC guideline on lifestyle management to reduce cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Journal of American Coll Cardiology*, 65-101.
- Ahmed, J., Ramaswamy, H. S. y Pandey, P. K. (2006). "Dynamic rheological and thermal characteristics of caramels." *LWT - Food Science and Technology* 39(3): 216-224.
- Akay, K. U. (2007). "A note on model selection in mixture experiments." *Journal of Mathematics & Statistics* 3(3): 93-99.
- Alvarez de Felipe, A., Melcón, B. y Zapico, J. (1991). "Structural changes in sweetened condensed milk during storage: An electron microscopy study." *Journal of Dairy Research* 58(03): 337-344.
- Amadasi, A., Mozzarelli, A., Meda, C., Maggi, A. y Cozzini, P. (2009). "Identification of xenoestrogens in food additives by an integrated in silico and in vitro approach". *Chemical Research in Toxicology* 22: 52-63.
- Andrés, S. C., Zaritzky, N. E. y Califano, A. N. (2008). "Stress relaxation characteristics of low-fat chicken sausages made in Argentina." *Meat science* 79(3): 589-594.
- Andrés, S., Zaritzky, N. y Califano, A. (2009). "Innovations in the development of healthier chicken sausages formulated with different lipid sources." *Poultry Science* 88(8): 1755-1764.
- Anese, M., Manzocco, L., Nicoli, M. C. y Lerici, C. R. (1999). "Antioxidant properties of tomato juice as affected by heating." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79(5): 750-754.
- Angulo, A. J., Romera, J. M., Ramirez, M. y Gil, A. (1997). "Determination of cholesterol oxides in dairy products. Effect of storage conditions." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(11): 4318-4323.
- Aranberri, I., Binks, B., Clint, J. y Fletcher, P. (2006). "Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensioactivos." *Revista Iberoamericana de Polímeros* 7(3): 211-231.

- Arcia, P., Costell, E. y Tárrega, A. (2011). "Inulin blend as prebiotic and fat replacer in dairy desserts: Optimization by response surface methodology." *Journal of Dairy Science* 94(5): 2192-2200.
- Ares, G., Giménez, A. N. A. y Gámbaro, A. (2006). "Instrumental methods to characterize nonoral texture of dulce de leche." *Journal of Texture Studies* 37(5): 553-567.
- Ares, G., Giménez, A. N. A. y Gámbaro, A. (2006). "Preference mapping of texture of dulce de leche." *Journal of Sensory Studies* 21(6): 553-571.
- Assisi, A., Banzi, R., Buonocore, C., Capasso, F., Di Muzio, V., Michelacci, F., Renzo, D., Tafuri, G., Trotta, F. y Vitocolonna, M. (2006). "Fish oil and mental health: The role of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in cognitive development and neurological disorders." *International Clinical Psychopharmacology* 21(6): 319-336.
- AOAC (1984). Official methods of analysis (14th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC (1984).
- Ayo, J., Carballo, M.T., Serrano, J., Olmedilla-Alonso, B., Ruiz-Capillas, C. y Jiménez-Colmenero, F. (2007). "Effect of total replacement of pork backfat with walnut on the nutritional profile of frankfurters". *Meat Science*, 77, 173–181.
- Bais, D., Trevisan, A., Lapasin, R., Partal, P. y Gallegos, C. (2005). "Rheological characterization of polysaccharide–surfactant matrices for cosmetic o/w emulsions." *Journal of colloid and interface science* 290(2): 546-556.
- Bakker, J. y Clarke, R. J. (2011). *Wine: Flavour chemistry*, Wiley.
- Bancroft, W. D. (1913). "The theory of emulsification, v." *The Journal of Physical Chemistry* 17(6): 501-519.
- Banks, J. M., Brechany, E. Y. y Christie, W. (1989). "The production of low fat cheddar-type cheese." *International Journal of Dairy Technology* 42(1): 6-9.
- Barnes, H. A. (2001). "An examination of the use of rotational viscometers for the quality control of non-newtonian liquid products in factories." *Applied Rheology* 11(2): 82-101.
- Barnes, H. A., Hutton, J. F. y Walters, K. (1991). *An Introduction to Rheology*. Elsevier. Amsterdam.
- Barnes, H. y Walters, K. (1985). "The yield stress myth?" *Rheologica Acta* 24(4): 323-326.
- Barriuso, B., Astiasarán, I. y Ansorena, D. (2013). "A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: A challenging task." *European Food Research and Technology* 236(1): 1-15.

- Baumgaertel, M. y Winter, H. H. (1989). "Determination of discrete relaxation and retardation time spectra from dynamic mechanical data." *Rheologica Acta* 28(6): 511-519.
- Baumgaertel, M., Schausberger, A. y Winter, H. H. (1990). "The relaxation of polymers with linear flexible chains of uniform length." *Rheologica Acta* 29(5): 400-408.
- Baumgärtel, M., De Rosa, M.E., Machado, J., Masse, M., y Winter, H.H. (1992). "The relaxation time spectrum of nearly monodisperse polybutadiene melts". *Rheologica Acta* 31: 75-82.
- Bayarri, S., Chuliá, I. y Costell, E. (2010). "Comparing λ -carrageenan and an inulin blend as fat replacers in carboxymethyl cellulose dairy desserts. Rheological and Sensory Aspects." *Food Hydrocolloids* 24(6-7): 578-587.
- BeMiller, J. N. y Whistler, R. L. (2000). Carbohidratos. Química de los alimentos. Fennema O. R. Zaragoza. Acribia: 187-267.
- Bengoechea, C., Puppo, M. C., Romero, A., Cordobés, F. y Guerrero, A. (2008). "Linear and non-linear viscoelasticity of emulsions containing carob protein as emulsifier." *Journal of Food Engineering* 87(1): 124-135.
- Benichou, A., Aserin, A., Lutz, R. y Garti, N. (2007). "Formation and characterization of amphiphilic conjugates of whey protein isolate (wpi)/xanthan to improve surface activity." *Food Hydrocolloids* 21(3): 379-391.
- Berjano, M., Muñoz, J., Guerrero, A., Flores, V. y Gallegos, C. (1991). "Comparison of steady and dynamic shear viscosities of a commercial mayonnaise". *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos* 31 (3): 400-410.
- Berland, S. y Launay, B. (1995). "Rheological properties of wheat flour doughs in steady and dynamic shear: effect of water content and some additives". *Cereal Chemistry* 72(1): 48-52.
- Bezemer L., Ubbink J.B., Kooker J.A., Kuil M.E. y Leyte J.C. (1993). "On the Conformational Transitions of Native Xanthan". *Macromolecules* 26 (24): 6436-6446.
- Bigliardi, B. y Galati, F. (2013). "Innovation trends in the food industry: The case of functional foods." *Trends in Food Science & Technology* 31(2): 118-129.
- Bigwood, T., Delve, R. y Read, G. (1990). "A novel iron(iii) catalysed degradation of aliphatic aldehydes to their lower homologues with implications for lipid peroxidation chemistry." *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*(10): 776-778.

- Bird, R.B., Armstrong, R. y Hassager, O. (1977). *Dynamic of polymeric liquid*. Vol I. New York. John Wiley & Sons.
- Bistany, K. L. y Kokini, J. L. (1983). "Comparison of steady shear rheological properties and small amplitude dynamic viscoelastic properties of fluid food materials." *Journal of Texture Studies* 14(2): 113-124.
- Bonnet, C., Corredig, M. y Alexander, M. (2005). "Stabilization of caseinate-covered oil droplets during acidification with high methoxyl pectin." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(22): 8600-8606.
- Borrelli, R. C., Fogliano, V., Monti, S. M. y Ames, J. M. (2002). "Characterization of melanoidins from a glucose-glycine model system." *European Food Research and Technology* 215(3): 210-215.
- Bourne, M.C. 1982. *Food texture and viscosity: concept and measurement*. New York. Academic Press.
- Bryant, A., Ustunol, Z. y Steffe, J. (1995). "Texture of cheddar cheese as influenced by fat reduction." *Journal of Food Science* 60(6): 1216-1219.
- Bryant, C. M. y McClements, D. J. (1998). "Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey." *Trends in Food Science & Technology* 9(4): 143-151.
- Bryant, C. M. y McClements, D. J. (2000). "Influence of xanthan gum on physical characteristics of heat-denatured whey protein solutions and gels." *Food Hydrocolloids* 14(4): 383-390.
- Buera, M. d. P., Chirife, J., Resnik, S. L. y Lozano, R. D. (1987). "Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: Kinetics of color changes due to caramelization of various single sugars." *Journal of Food Science* 52(4): 1059-1062.
- Buera, M., Hough, G., Martinez, E. y Resnik, S. (1990). "Colorimetric, spectrophotometric and sensory color measurements of a dairy product - dulce de leche". *Anales de la Asociación Química Argentina* 78 (5): 291-299.
- Buyze, H.G. (1952) Seed-lactose for the manufacture of condensed milk. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 6: 218–231.
- Buzina, R., Subotičanec, K. y Šarić, M. (1991). "Diet patterns and health problems: Diet in southern europe." *Annals of Nutrition and Metabolism* 35(1): 32-40.
- CAA - Código Alimentario Argentino. (2015). Capítulo 18. De la Canale y Asociados. Buenos Aires.

- Cáceres, E., García, M. L., y Selgas, M. D. (2006). "Design of a new cooked meat sausage enriched with calcium". *Meat Science*, 7, 368–377.
- Calder, P. C. (2006). "N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases." *The American Journal of Clinical Nutrition* 83(6): 1505-1519.
- Camacho, M. M., Martínez-Navarrete, N. y Chiralt, A. (2005). "Rheological characterization of experimental dairy creams formulated with locust bean gum (lbg) and λ -carrageenan combinations." *International Dairy Journal* 15(3): 243-248.
- Candebat, Z. E. V., Álvarez, D. M. G. y González, E. G. (1998). "Enranciamiento en algunos productos lácteos de humedad intermedia durante su almacenamiento." *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* 12(1): 24-28.
- Caprioli, I., O'Sullivan, M. y Monahan, F. (2011). "Interference of sodium caseinate in the tbars assay." *Food Chemistry* 124(3): 1284-1287.
- Carey, A. N., Poulouse, S. M. y Shukitt-Hale, B. (2012). "The beneficial effects of tree nuts on the aging brain." *Nutrition and Aging* 1(1): 55-67.
- Carić, M. (1994). Concentrated and Dried Dairy Products. New York. VCH Publishers.
- Carnali J.O. (1991). "A Dispersed Anisotropic Phase as the Origin of the Weak-Gel Properties of Aqueous Xanthan Gum". *Journal of Applied Polymer Science* 43: 929-941.
- Castañeda, R., Muset, G., Castells, L., Aranibar, G., Murphy, M., Rodríguez, G. (2004). Dulce de Leche Argentino variedad tradicional – Su Caracterización. Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI). 5° Jornadas de Desarrollo e Innovación. Noviembre 2004.
- Cenens, C., Van Beurden, K., Jenn, R. y Van Impe, J. (2002). "On the development of a novel image analysis technique to distinguish between flocs and filaments in activated sludge images." *Water Science & Technology* 46(1-2): 381-387.
- Chacón-Villalobos, A., Pineda-Castro, M. L. y Méndez-Rojas, S. G. (2013). "Efecto de la proporción de leche bovina y caprina en las características del dulce de leche." *Agronomía Mesoamericana* 24: 149-167.
- Chamberlain, E.K. y Rao, M.A. (2000). "Effect of concentration on rheological properties of acid-hydrolyzed amylopectin solutions". *Food Hydrocolloids* 14(2): 163-171.
- Cheng, D. C. (1986). "Yield stress: A time-dependent property and how to measure it." *Rheologica Acta* 25(5): 542-554.
- Christiansen, P.S.D., Edelsten, J.R., Kristiansen, J. y Siegaard, P. (1987) Production of low-lactose dulce de leche. En: Dairy Science Abstracts: 482.

- Clandinin, M. (1999). "Brain development and assessing the supply of polyunsaturated fatty acid." *Lipids* 34(2): 131-137.
- Clark, A. H. y Ross-Murphy, S. B. (1987). "Structural and mechanical properties of biopolymer gels". *Biopolymers*: 57-192.
- Clarke, S. D. y Jump, D. B. (1994). "Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription." *Annual review of nutrition* 14(1): 83-98.
- Clough, R.L., Yee, B.G. y Foote, C.S. (1979). "Chemistry of singlet oxygen. 30. The unstable primary product of tocopherol photooxidation". *Journal of the American Chemical Society* 101: 683-686.
- Comeron, R. (2012). Desarrollo de Queso Untable Probiótico con Colesterol Reducido. Influencia de las Concentraciones de Calcio y Caseína sobre las Características Finales del Producto". Tesis de grado, UNL.
- Corradini, M. G. y Peleg, M. (2000). "Lubricated squeezing flow viscometry for dulce de leche (milk sweet) viscometría de extensión biaxial sin fricción de dulce de leche." *Food Science and Technology International* 6(4): 339-344.
- Corradini, M. G. y Peleg, M. (2000). "Lubricated squeezing flow viscometry for dulce de leche (milk sweet) viscometría de extensión biaxial sin fricción de dulce de leche." *Food Science and Technology International* 6(4): 339-344.
- Corredig, M., Sharafbafi, N. y Kristo, E. (2011). "Polysaccharide-protein interactions in dairy matrices, control and design of structures." *Food Hydrocolloids* 25(8): 1833-1841.
- Costell Ibañez, E. (2010). Influencia de los sustitutos de grasa en la textura, en la liberación y percepción del sabor y en la aceptabilidad de productos lácteos. Disponible en: http://www.fiab.es/es/innovacion/innov_paginaMaster.asp?tipo=220&id=1828
Acceso 21/01/2015.
- Coxon, D. T., Rigby, N. M., Chan, H. W. S., Lund, B. M. y George, S. M. (1987). "The occurrence of hydrogen peroxide in edible oils; chemical and microbiological consequences." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 40(4): 367-379.
- Damechki, M., Sotiropoulou, S. y Tsimidou, M. (2001). "Antioxidant and pro-oxidant factors in oregano and rosemary gourmet olive oils". *Grasas y Aceites* 52: 207-213.
- Darby, R. (1976). *Viscoelastic fluids*. New York. Marcel Dekker.
- Datta, N. y Deeth, H. (2001). "Age gelation of uht milk—a review." *Food and Bioproducts Processing* 79(4): 197-210.

- De Block, J., Merchiers, M. y Van Renterghem, R. (1998). "Capillary electrophoresis of the whey protein fraction of milk powders. A possible method for monitoring storage conditions." *International Dairy Journal* 8(9): 787-792.
- de Kruif, C.G. y Holt, C. (2002). Casein micelle structure, functions and interactions. Chapter 3. En: *Advances in Dairy Chemistry*. Fox P.F. y McSweeney P.L.H. Berlín. Springer.
- De Wijk, R., Prinz, J. y Janssen, A. (2006). "Explaining perceived oral texture of starch-based custard desserts from standard and novel instrumental tests." *Food Hydrocolloids* 20(1): 24-34.
- de Wit, J., Hontelez-Backx, E. y Adamse, M. (1988). "Evaluation of functional properties of whey protein concentrates and whey protein isolates, 3: Functional properties in aqueous solution." *Netherlands Milk and Dairy Journal* (Netherlands).
- Dealy, J.M. (1982). Rheometer for molten plastics. Nueva York. Van Nostrand.
- Decker, E. (1998). "Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of foods to maximize oxidative stability." *Trends in Food Science & Technology* 9(6): 241-248.
- deMan, J., Tie, F. y deMan, L. (1987). "Formation of short chain volatile organic acids in the automated aom method." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 64(7): 993-996
- Devittori, C., Gumy, D., Kusy, A., Colarow, L., Bertoli, C. y Lambelet, P. (2000). "Supercritical fluid extraction of oil from millet bran." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77(6): 573-579.
- Dickinson, E. (1988). The structure and stability of emulsions. En: *Food structure – its creation and evaluation*. Blanshard J.M. y Mitchell J.R. Londres. Butterworths: 41-57.
- Dickinson, E. (1997). "Properties of emulsions stabilized with milk proteins: Overview of some recent developments." *Journal of Dairy Science* 80(10): 2607-2619.
- Dickinson, E. (1998). "Proteins at interfaces and in emulsions stability, rheology and interactions." *Journal of the Chemical Society* 94(12): 1657-1669.
- Dickinson, E. (2001). "Milk protein interfacial layers and the relationship to emulsion stability and rheology." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 20(3): 197-210.
- Dickinson, E. (2009). "Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers." *Food Hydrocolloids* 23(6): 1473-1482.
- Dickinson, E. (2010). "Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 81(1): 130-140.

- Dickinson, E. (2012). "Use of nanoparticles and microparticles in the formation and stabilization of food emulsions." *Trends in Food Science & Technology* 24(1): 4-12.
- Dickinson, E. y Stainsby, G. (1982). *Colloids in food*. Applied Science Publishers.
- Dirección de Industria Alimentaria – S.A.G.P. y A. (2012). Estadísticas. Disponible en: http://64.76.123.202/site/subsecretaria_de_lecheria/lecheria/07_Estad%C3%ADsticas/index.php. Acceso: 23/04/2014.
- Donato, L. y Guyomarc'h, F. (2009). "Formation and properties of the whey protein/kappa-casein complexes in heated skim milk—a review." *Dairy Science and Technology* 89(1): 3-29.
- Doraiswamy, D., Mujumdar, A.N., Tsao, I., Beris, A.N., Danforth, S.C. y Metzner, A.B. (1991). "The Cox–Merz rule extended: A rheological model for concentrated suspensions and other materials with a yield stress". *Journal of Rheology* 35: 647-685.
- Doublier, J.-L. y Durand, S. (2008). "A rheological characterization of semi-solid dairy systems." *Food Chemistry* 108(4): 1169-1175.
- Doyle, M. P., Beuchat, L. R. y Montville, T. J. (2001). *Microbiología de los alimentos: Fundamentos y fronteras*. Zaragoza. Acribia.
- Du, Z. y Bramlage, W. J. (1992). "Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40(9): 1566-1570.
- Dunkley, W. L. y Jennings, W. G. (1951). "A procedure for application of the thiobarbituric acid test to milk." *Journal of Dairy Science* 34(11): 1064-1069.
- Dupont, J., White, P., Johnston, K., Heggveit, H., McDonald, B., Grundy, S. y Bonanome, A. (1989). "Food safety and health effects of canola oil." *Journal of the American College of Nutrition* 8(5): 360-375.
- Edelsten, D., Christiansen, P.S., Meersohn, M. y Jensen, P.F. (1987). "Production of low-lactose dulce de leche from UF milk". En: *Dairy Science Abstracts*: 398.
- Elisia, I., Young, J. W., Yuan, Y. V. y Kitts, D. D. (2013). "Association between tocopherol isoform composition and lipid oxidation in selected multiple edible oils." *Food Research International* 52(2): 508-514.
- Eriksson, C. (1982). "Lipid oxidation catalysts and inhibitors in raw materials and processed foods." *Food Chemistry* 9(1): 3-19.
- Eriksson, C. (1987). "Oxidation of lipids in food systems." En: *Autoxidation of unsaturated lipids*. Chan, H. W. S. London. Academic Press: 207-231.

- European Commission (2012). Commission Regulation (EU) No 432/2012 of 16 May 2012 [Internet] Official Journal of the European Union [Acceso 23-06-2012] Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:136:0001:0040:en:PDF>. Acceso 12-08-2013.
- FAO - Food and Agriculture Organization. (2010). Energy requirements of children and adolescents. En: Human energy requirements: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. Paris, pp.29-30.
- Feather, M. S. y Harris, J. F. (1973). "Dehydration reactions of carbohydrates." *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry* 28: 161-224.
- Fennema, O. (2010). *Química de alimentos*. Artmed Editora.
- Ferguson, J. y Kemplowski, Z. (1991). *Applied fluid rheology*, London. Elsevier Applied Science
- Fernández, J., Pérez-Álvarez, J. A. y Fernández-López, J. A. (1997). "Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat." *Food Chemistry* 59(3): 345-353.
- Ferramondo, A., Chirife, J., Parada, J. L. y Vigo, S. (1984). "Chemical and microbiological studies on "duke de leche" a typical argentine confectionery product." *Journal of Food Science* 49(3): 821-823.
- Ferry, J. D. (1980). *Viscoelastic properties of polymers*, New York. Wiley.
- Finot, P. A. (1990). *The maillard reaction in food processing, human nutrition and physiology*, Berlín. Springer.
- Flory, P. J. (1953). *Principles of Polymer Chemistry*. Ithaca, New York. Cornell University Press.
- Franco, J. M., Berjano, M. y Gallegos, C. (1997). "Linear viscoelasticity of salad dressing emulsions." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(3): 713-719.
- Frankel, E. (1993). "In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids." *Trends in Food Science & Technology* 4(7): 220-225.
- Frankel, E. N. (1991). "Review. Recent advances in lipid oxidation." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 54(4): 495-511.
- Frankel, E. N. (2005). *Lipid oxidation*, Oily Press.
- Friedrich, C., Waizenegger, W. y Winter, H. H. (2008). "Relaxation patterns of long, linear, flexible, monodisperse polymers: Bsw spectrum revisited." *Rheologica acta* 47(8): 909-916.

- Frøst, M. B. y Janhøj, T. (2007). "Understanding creaminess." *International Dairy Journal* 17(11): 1298-1311.
- Frøst, M. B., Heymann, H., Bredie, W. L., Dijksterhuis, G. B. y Martens, M. (2005). "Sensory measurement of dynamic flavour intensity in ice cream with different fat levels and flavourings." *Food Quality and Preference* 16(4): 305-314.
- Funahashi, H., Satake, M., Hasan, S., Sawai, H., Reber, H., Hines, O. y Eibl, G. (2006). "The n-3 polyunsaturated fatty acid epa decreases pancreatic cancer cell growth in vitro." *Pancreas* 33(4): 462.
- Garcia, P. T. (2009). "Aspectos nutricionales de la carne porcina." *Veterinaria Cuyana*: 58.
- García-Ochoa, F., Santos, V., Casas, J. y Gomez, E. (2000). "Xanthan gum: Production, recovery, and properties." *Biotechnology Advances* 18(7): 549-579.
- Garitta, L., Hough, G. y Sánchez, R. (2004). "Sensory shelf life of dulce de leche." *Journal of Dairy Science* 87(6): 1601-1607.
- Gaudin, S., Lourdin, D., Le Botlan, D., Ilari, J.L. y Colonna, P. (1999). "Plasticisation and mobility in starch-sorbitol films". *Journal of Cereal Science* 29: 273-284.
- Gaze, L., Costa, M., Monteiro, M., Lavorato, J., Conte Júnior, C., Raices, R., Cruz, A. y Freitas, M. (2015). "Dulce de Leche, a typical product of latin america: Characterization by physicochemical, optical and instrumental methods." *Food Chemistry* 169: 471-477
- Gharavi, N. y El-Kadi, A. (2005). "Tert-Butylhydroquinone is a novel aryl hydrocarbon receptor ligand". *Drug Metabolism and Disposal* 33: 365-372.
- Jiménez, A. N. A., Ares, G. y Gámbaro, A. (2008). "Consumer perception of sandiness in dulce de leche." *Journal of Sensory Studies* 23(2): 171-185.
- Girard, M., Turgeon, S. y Paquin, P. (2002). "Emulsifying properties of whey protein-carboxymethylcellulose complexes." *Journal of Food Science* 67(1): 113-119.
- Goh, K. K., Sarkar, A. y Singh, H. (2009). Milk protein-polysaccharide interactions. En: *Milk proteins: From expression to food*. Thompson, A., Boland, M. y Singh H. New York. Academic Press: 347-376.
- González-Tomás, L., Bayarri, S., Taylor, A. y Costell, E. (2007). "Flavour release and perception from model dairy custards." *Food Research International* 40(4): 520-528.
- Graber, R., Sumida, C. y Nunez, E. (1994). "Fatty acids and cell signal transduction." *Journal of lipid mediators and cell signalling* 9(2): 91.

- Guillen-Sans, R. y Guzman-Chozas, M. (1998). "The thiobarbituric acid (tba) reaction in foods: A review." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38(4): 315-350.
- Gunasekaran, S. y Ak, M. M. (2000). "Dynamic oscillatory shear testing of foods—selected applications." *Trends in Food Science & Technology* 11(3): 115-127.
- Gunstone, F. (2011). *Vegetable oils in food technology: Composition, properties and uses*. New York. John Wiley & Sons.
- Gutiérrez Rosales, F. (1989). "Determinación de la estabilidad oxidativa de aceites de oliva vírgenes: Comparación entre el método del oxígeno activo (aom) y el método rancimat." *Grasas y Aceites* 40(1): 1-5.
- Guy, E. y Edmondson, L. (1978). "Preparation and properties of sirups made by hydrolysis of lactose." *Journal of Dairy Science* 61(5): 542-549.
- Guyomarc'h, F., Warin, F., Donald Muir, D. y Leaver, J. (2000). "Lactosylation of milk proteins during the manufacture and storage of skim milk powders." *International Dairy Journal* 10(12): 863-872.
- Guzey, D., Kim, H. J. y McClements, D. J. (2004). "Factors influencing the production of o/w emulsions stabilized by b-lactoglobulin–pectin membranes". *Food Hydrocolloids*, 18, 967-975.
- Hacche L. S., Washington G.E. y Brant D.A. (1987). "A Light-Scattering Investigation of the Temperature-Driven Conformation Change in Xanthan". *Macromolecules* 20: 2179-2187.
- Haddad, E., Jambazian, P., Karunia, M., Tanzman, J. y Sabaté, J. (2006). "A pecan-enriched diet increases γ -tocopherol/cholesterol and decreases thiobarbituric acid reactive substances in plasma of adults." *Nutrition Research* 26(8): 397-402.
- Hageman, J., Bast, A. y Vermeulen, N. (1992). "Monitoring of oxidative free radical damage in vivo: Analytical aspects." *Chemico-biological Interactions* 82(3): 243-293.
- Halliwel, B. (1997). "Antioxidants and human disease: A general introduction." *Nutrition reviews* 55(1): 44-49.
- Hayase, F. y Kato, H. (1994). "Maillard reaction products: safety and physiologic effects". *Comments on Agricultural and Food Chemistry* 3: 111-128.
- Hedegaard, R., Kristensen, D., Nielsen, J. H., Frøst, M. B., Østdal, H., Hermansen, J. E., Kröger-Ohlsen, M. y Skibsted, L. H. (2006). "Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk." *Journal of Dairy Science* 89(2): 495-504.

- Heimlich, W., Bórquez, R. y Céspedes, I. (1994). "Effect of milk replacement by whey protein concentrates on the rheological properties of dulce de leche." *LWT - Food Science and Technology* 27(3): 289-291.
- Heimlich, W., Bórquez, R. y Céspedes, I. (1994). "Effect of milk replacement by whey protein concentrates on the rheological properties of dulce de leche." *LWT - Food Science and Technology* 27(3): 289-291.
- Heimlich, W., Bórquez, R. y Céspedes, I. (1994). "Effect of milk replacement by whey protein concentrates on the rheological properties of dulce de leche." *LWT - Food Science and Technology* 27(3): 289-291.
- Hemar, Y., Tamehana, M., Munro, P. A., y Singh, H. (2001). "Viscosity, microstructure and phase behavior of aqueous mixtures of commercial milk protein products and xanthan gum". *Food Hydrocolloids* 15(4): 565-574.
- Hernandez R.J. y Giacín, J.R. (2010). Factors affecting permeation, sorption, and migration processes in package-product systems. Capítulo X. En: Food Storage stability. Taub I.A., Singh R. P.. Londres. CRC Press
- Hidalgo, F. J. y Zamora, R. (2000). "The role of lipids in nonenzymatic browning." *Grasas y Aceites* 51(1-2): 35-49.
- Higgs, S. J., y Norrington R. J. (1971). Rheological properties of selected foodstuffs. *Process Biochemistry* 6(5): 52.
- Ho Lee, C., Soon An, D., Cheol Lee, S., Jin Park, H. y Sun Lee, D. (2004). "A coating for use as an antimicrobial and antioxidative packaging material incorporating nisin and α -tocopherol." *Journal of Food Engineering* 62(4): 323-329.
- Holt, C. (1992). "Structure and stability of bovine casein micelles." *Advances in Protein Chemistry* 43: 63-151.
- Holzwarth G.M. (1976). "Conformation of the extracellular Polysaccharide of *Xanthomonas campestris*". *Biochemistry* 15 (19): 4332-4339.
- Holzwarth, G., y Prestridge E. B. (1977). "Multi-stranded helix in xanthan polysaccharide". *Science* 197(4305):757-759.
- Hough, G., Buera, M. d. P., Martinez, E. y Resnik, S. (1991). "Effect of composition on non enzymatic browning rate in dulce de leche-like systems". *Anales de la Asociación Química Argentina* 79 (1): 31-40.
- Hough, G., Martinez, E. y Contarini, A. (1990). "Sensory and objective measurement of sandiness in dulce de leche, a typical argentine dairy product." *Journal of Dairy Science* 73(3): 604-611.

- Hough, G., Moro, O. y Luna, J. (1986). "Thermal conductivity and heat capacity of dulce de leche, a typical argentine dairy product." *Journal of Dairy Science* 69(6): 1518-1522.
- Hough, G., Contarini, A. y Moro, O. (1986). "Análisis sensorial de preferencia en dulce de leche." *La Alimentación Latinoamericana* 20(161): 72-75.
- Hough, G., Moro, O., Segura, J. y Calvo, N. (1988). "Flow properties of dulce de leche, a typical argentine dairy product." *Journal of Dairy Science* 71(7): 1783-1788.
- Hu, M., McClements, D. J. y Decker, E. A. (2003). "Lipid oxidation in corn oil-in-water emulsions stabilized by casein, whey protein isolate, and soy protein isolate." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(6): 1696-1700.
- Huck-Iriart, C., Rincón-Cardona, J. y Herrera, M. (2014). "Stability of whey protein concentrate/sunflower oil emulsions as affected by sucrose and xanthan gum." *Food and Bioprocess Technology* 7(9): 2646-2656.
- Hudson, N. E. y Ferguson, J. (1994). "The anomalous shear flow properties of s1." *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics* 52(2): 105-119.
- Hunziker, O.F. (1946). Condensed milk and milk powder. Publicado por el autor. La Grange, IL.482 p.
- Hynes, E. y Zalazar, C. (2009). Lactose in dulce de leche. Advanced dairy chemistry: Volume 3: En: Lactose, water, salts and minor constituents. McSweeney P. L. H. y Fox P. F. NewYork, Springer: 58-79.
- IARC - International Agency for Research on Cancer (1986). Butylated hydroxytoluene (BHT), IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 41, 161-206.
- INDEC (2013). 3° Encuesta Nacional de Factores de Riesgo. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/images/stories/publicaciones/pdf/11.09.2014-tercer-encuentro-nacional-factores-riesgo.pdf>. Acceso 6/1/15.
- INTI (2008). Productos Lácteos. Elaboración de Dulce de Leche. Cuadernillo para unidades de producción, 2. Disponible en: http://www.inti.gob.ar/atp/pdf/cuadernilloDulcedeLeche_2Edic.pdf. Acceso: 20/05/2010.
- IOM - Institute of Medicine (2012). Accelerating progress in obesity prevention: Solving the weight of the nation. National Academy of Sciences (pp. 462).
- Iseki, T., Takahashi, M., Hattori, H., Hatakeyama, T. y Hatakeyama, H. (2001). "Viscoelastic properties of xanthan gum hydrogels annealed in the sol state." *Food Hydrocolloids* 15(4-6): 503-506.

- Jackson, J. K., De Rosa, M. E. y Winter, H. H. (1994). "Molecular weight dependence of relaxation time spectra for the entanglement and flow behavior of monodisperse linear flexible polymers." *Macromolecules* 27(9): 2426-2431.
- Jang, H. D. y Swaisgood, H. E. (1990). "Analysis of ligand binding and β -lactoglobulin denaturation by chromatography on immobilized trans-retinal." *Journal of Dairy Science* 73(8): 2067-2074.
- Jardine, D., Antolovich, M., Prenzler, P. D. y Robards, K. (2002). "Liquid chromatography-mass spectrometry (lc-ms) investigation of the thiobarbituric acid reactive substances (tbars) reaction." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(6): 1720-1724.
- Jeanes, A., Pittsley, J. y Senti, F. (1961). "Polysaccharide b-1459: A new hydrocolloid polyelectrolyte produced from glucose by bacterial fermentation." *Journal of Applied Polymer Science* 5(17): 519-526.
- Jennes, S. y Patton, S. 1959. Principles of Dairy Chemistry. New York. John Wiley & Sons: 446 p.
- Jennings, W., Dunkley, W. y Reibeb, H. (1955). "Studies op certain red pigments formed from 2-thiobarbituric acida." *Journal of Food Science* 20(1): 13-22.
- Johnson, G. H., Keast, D. R. y Kris-Etherton, P. M. (2007). "Dietary modeling shows that the substitution of canola oil for fats commonly used in the united states would increase compliance with dietary recommendations for fatty acids." *Journal of the American Dietetic Association* 107(10): 1726-1734.
- Jung, M. Y. y Min, D. B. (1990). "Effects of α -, γ -, and δ -tocopherols on oxidative stability of soybean oil." *Journal of Food Science* 55(5): 1464-1465.
- Kaanane, A. y Labuza, T. (1988). "The maillard reaction in foods." *Progress in Clinical and Biological Research* 304: 301-327.
- Kang, K. y Pettitt, D. (1993). Xanthan, gellan, welan, and rhamsan. En: Industrial gums: Polysaccharides and their derivatives. BeMiller J. N. y Whistler R. L. New York Academic Press: 341-393.
- Katzbauer, B. (1998). "Properties and applications of xanthan gum." *Polymer Degradation and Stability* 59(1-3): 81-84.
- Kessler, H.-G. y Fink, R. (1986). "Changes in heated and stored milk with an interpretation by reaction kinetics." *Journal of Food Science* 51(5): 1105-1111.
- Kiessling, L., DeGrado, W. F. y Eckstein, F. (1999). "Biopolymers: Modulation of nucleic acids, carbohydrates and proteins to different task." *Current Opinion in Chemical Biology* 3(6): 641-642.

- Kim, J.Y., Park, H. D., Park, E., Chon, J.W. y Park, Y. K. (2009). "Growth-inhibitory and proapoptotic effects of alpha-linolenic acid on estrogen-positive breast cancer cells." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1171(1): 190-195.
- Kinsella, J. y Whitehead, D. (1989). "Proteins in whey: Chemical, physical, and functional properties." *Advances in Food and Nutrition Research* 33: 343-438.
- Knight, H., Eddy, C. R. y Swern, D. (1951). "Reactions of fatty materials with oxygen. Viii. Cis-trans isomerization during autoxidation of methyl oleate." *Journal of the American Oil Chemists Society* 28(5): 188-192.
- Kocak, H. y Zadow, J. (1985). "Age gelation of uht whole milk as influenced by storage temperature." *Australian Journal of Dairy Technology* 40 (1): 14–21.
- Kokini, J. L., Kadane, J. B. y Cussler, E. L. (1977). "Liquid texture perceived in the mouth." *Journal of Texture Studies* 8(2): 195-218.
- Kornsteiner, M., Wagner, K.H. y Elmalfa, I. (2006). "Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types." *Food Chemistry* 98(2): 381-387.
- Kosugi, H., Kato, T. y Kikugawa, K. (1987). "Formation of yellow, orange, and red pigments in the reaction of alk-2-enals with 2-thiobarbituric acid." *Analytical Biochemistry* 165(2): 456-464.
- Kovalskys, I., Bay, L., Rausch Herscovici, C. y Berner, E. (2005). "Prevalencia de obesidad en una población de 10 a 19 años en la consulta pediátrica." *Revista chilena de pediatría* 76: 324-325.
- Kris-Etherton, P.M., Pearson, T.A., Wan, Y., Hargrove, R.L., Moriarty, K., Fishell, V. y Etherton, T.D. (1999). "High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations". *The American Journal of Clinical Nutrition* 70, 1009-1015.
- Kristensen, D., Hansen, E., Arndal, A., Trinderup, R. A. y Skibsted, L. H. (2001). "Influence of light and temperature on the colour and oxidative stability of processed cheese." *International Dairy Journal* 11(10): 837-843.
- Krystijan, M., Sikora, M., Adamczyk, G. y Tomasik, P. (2012). "Caramel sauces thickened with combinations of potato starch and xanthan gum." *Journal of Food Engineering* 112(1–2): 22-28.
- Kulmyrzaev, A. y McClements, D. J. (2000). "High frequency shear rheometry of honey". *Journal of Food Engineering* 45: 219–224.
- Kulmyrzaev, A., Bryant, C. y McClements, D. J. (2000). "Influence of sucrose on the thermal denaturation, gelation, and emulsion stabilization of whey proteins." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(5): 1593-1597.

- Kuster, B. F. M. y Temmink, H. M. G. (1977). "The influence of ph and weak-acid anions on the dehydration of d-fructose." *Carbohydrate Research* 54(2): 185-191.
- Labuza, T. P. y Baisier, W. (1992). "The kinetics of nonenzymatic browning." *Physical Chemistry of Foods*: 595-649.
- Labuza, T. y Saltmarch, M. (1981). The nonenzymatic browning reaction as affected by water in foods. New York. Academic Press.
- Lal S.N. (2003). Increasing the good health profile of dairy products, MSc Thesis, The University of Auckland, New Zealand.
- Lamothe, L. (2006). Efecto de la temperatura de enfriamiento y formulación en la elaboración de dulce de leche. Proyecto de Graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria, Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras. 38 p.
- Larrosa, V., Lorenzo, G., Zaritzky, N. y Califano, A. (2013). "Optimization of rheological properties of gluten-free pasta dough using mixture design." *Journal of Cereal Science* 57(3): 520-526.
- Larson, R., Sridhar, T., Leal, L., McKinley, G., Likhtman, A. y McLeish, T. (2003). "Definitions of entanglement spacing and time constants in the tube model." *Journal of Rheology* (1978-present) 47(3): 809-818.
- Li, Z., Marshall, R., Heymann, H. y Fernando, L. (1997). "Effect of milk fat content on flavor perception of vanilla ice cream." *Journal of Dairy Science* 80(12): 3133-3141.
- Lin, L., Allemekinders, H., Dansby, A., Campbell, L., Durance-Tod, S., Berger, A. y Jones, P. J. (2013). "Evidence of health benefits of canola oil." *Nutrition Reviews* 71(6): 370-385.
- Lindmark-MaËnsson y kesson (2000). "Antioxidative factors in milk". *British Journal of Nutrition* 84(1): 103-110.
- Long, Z., Zhao, M., Zhao, Q., Yang, B., y Liu, L. (2012). Effect of homogenisation and storage time on surface and rheology properties of whipping cream. *Food Chemistry* 131(3): 748-753.
- Lopes da Silva, J.A.; Goncalves, M.P. y Rao, M.A. (1993). "Viscoelastic behaviour of mixtures of locust bean gum and pectin dispersions". *Journal of Food Engineering*, 18(3): 211-228.
- Lorenzo, G., Zaritzky, N. y Califano, A. (2008). "Modeling rheological properties of low-in-fat o/w emulsions stabilized with xanthan/guar mixtures." *Food Research International* 41(5): 487-494.

- Lorenzo, G., Checmarev, G., Zaritzky, N. y Califano, A. (2011). "Linear viscoelastic assessment of cold gel-like emulsions stabilized with bovine gelatin." *LWT - Food Science and Technology* 44(2): 457-464.
- Love, J. (1983). "The role of heme iron in the oxidation of lipids in red meats." *Food Technology* 37: 117-129.
- Lucca, P. A. y Tepper, B. J. (1994). "Fat replacers and the functionality of fat in foods." *Trends in Food Science & Technology* 5(1): 12-19.
- Lucey, J. (2002). "Formation and physical properties of milk protein gels." *Journal of Dairy Science* 85(2): 281-294.
- Lucey, J. A., Srinivasan, M., Singh, H. y Munro, P. A. (2000). "Characterization of commercial and experimental sodium caseinates by multiangle laser light scattering and size-exclusion chromatography." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(5): 1610-1616.
- Mackley, M., Marshall, R., Smeulders, J. y Zhao, F. (1994). "The rheological characterization of polymeric and colloidal fluids." *Chemical Engineering Science* 49(16): 2551-2565.
- Macosko, C. W. (1994). "Rheology principles, measurements, and applications." . New York. VCH.
- Madiedo, J.M., Berjano, M., Guerrero, A., Muñoz, J., Gallegos, C. (1994). "Influence of surfactant concentration and temperatura on the flow behavior of sucrose oleate aqueous systems". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 82(1): 59-69.
- Malec, L. S., Llosa, R. A. y Vigo, M. S. (1999). "Sugar formulation effect on available lysine content of dulce de leche." *Journal of dairy research* 66(2): 335-339.
- Manoj, P., Kasapis, S. y Chronakis, I. S. (1996). "Gelation and phase separation in maltodextrin-caseinate systems." *Food Hydrocolloids* 10(4): 407-420.
- Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M. C. y Lerici, C. R. (2000). "Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods." *Trends in Food Science & Technology* 11(9): 340-346.
- Marchetti, L., Andrés, S. C. y Califano, A. N. (2013). "Textural and thermal properties of low-lipid meat emulsions formulated with fish oil and different binders". *LWT-Food Science and Technology* 51(2): 514-523.
- Marcillo Molina, R.L. y Villavicencio Cedeño, M.M. (2012). Evaluación de agentes espesantes y porcentajes de sólidos grasos lácteos sobre las propiedades del

- dulce de leche. Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Ecuador.
- Martinez, E., Hough, G. y Contarini, A. (1990). "Sandiness prevention in dulce de leche by seeding with lactose microcrystals." *Journal of Dairy Science* 73(3): 612-616.
- Martinez, M. y Ballabriga, A. (1987). "Effects of parenteral nutrition with high doses of linoleate on the developing human liver and brain." *Lipids* 22(3): 133-138.
- Mastrocola, D. y Munari, M. (2000). "Progress of the maillard reaction and antioxidant action of maillard reaction products in preheated model systems during storage." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(8): 3555-3559.
- Matia-Merino, L. y Dickinson, E. (2004). High-sugar content acid-induced caseinate gels and emulsion gels: influence of low-methoxyl pectin. En, Gums and stabilisers for the food industry 12. Williams, P. A. y Phillips G. O. Cambridge, UK. Royal Society of Chemistry: 461-474).
- McClements, D. J. (1998). Food emulsions: Principles, practice, and techniques, CRC press.
- McKellar, R. C., Froehlich, D. A., Butler, G., Cholette, H. y Campbell, C. (1984). "The effect of uncooled storage on proteolysis bitterness and apparent viscosity in ultra-high-temperature milk." *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 17(1): 14-17.
- Miccolo M. E., Celegghin A. G., Rubiolo A. C. (2009). Efecto de los hidratos de carbono en la desnaturalización de las proteínas de suero. XII Congreso CYTAL-AATA Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER, Entre Ríos, Argentina, 7-9 de octubre de 2009.
- Miettinen, S. M., Piironen, V., Tuorila, H. y Hyvönen, L. (2002). "Electronic and human nose in the detection of aroma differences between strawberry ice cream of varying fat content." *Journal of Food Science* 67(1): 425-430.
- Ministerio de Salud de la Nación (2013). Estadísticas Vitales - Información Básica Año 2012. Serie 5 - Número 56. Disponible en: <http://www.deis.gov.ar/Publicaciones/Archivos/Serie5Nro56.pdf>. Acceso: 29-11-2014.
- Ministerio de Salud Presidencia de la Nación (2012). Indicadores básicos Argentina 2012. Disponible en <http://www.msal.gov.ar/images/stories/pdf/indicadores-basicos-2012.pdf>. Acceso 6/1/15.
- Miranda, I., Ventura, H., Suárez, C. y Fuertes, R. (2007). "Actividad citotóxica y antioxidante de los productos de la reacción de maillard de los sistemas modelo d-

- glucosa-glicina y d-glucosa-l-lisina." *Revista de la Sociedad Química del Perú* 73(4): 215-225.
- Moro, O. y Hough, G. (1985). "Total solids and density measurements of dulce de leche, a typical argentine dairy product." *Journal of Dairy Science* 68(3): 521-525.
- Morr, C. y Ha, E. (1993). "Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties." *Critical Reviews in Food Science & Nutrition* 33(6): 431-476.
- Morris, E., Rees, D., Young, G., Walkinshaw, M. y Darke, A. (1977). "Order-disorder transition for a bacterial polysaccharide in solution. A role for polysaccharide conformation in recognition between Xanthomonas pathogen and its plant host." *Journal of Molecular Biology* 110(1): 1-16.
- Moschakis, T., Murray, B. S. y Dickinson, E. (2005). "Microstructural evolution of viscoelastic emulsions stabilised by sodium caseinate and xanthan gum." *Journal of colloid and interface science* 284(2): 714-728.
- Moschakis, T., Murray, B. S. y Dickinson, E. (2006). "Particle tracking using confocal microscopy to probe the microrheology in a phase-separating emulsion containing nonadsorbing polysaccharide." *Langmuir* 22(10): 4710-4719.
- Mours, M., Winter, H. (2000). "Mechanical Spectroscopy". En: *Methods in Polymer Science: Modern Methods in Polymer Research and Technology*. Tanaka, T.. San Diego. Academic Press: 495-546.
- Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P., Hugo, A. y Raats, J. (2009). "Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review." *Food Chemistry* 112(2): 279-289.
- Müller (1973). *An introduction to food rheology*. William Heinemann Ltd. London, UK.: 1-8.
- Murillo Ross, L. (2008). *Desarrollo y caracterización sensorial y físico-química de un dulce de leche sin grasa y sin azúcar elaborado a nivel de laboratorio*. Trabajo final de graduación, Universidad de Costa Rica.
- Navarro, A. S., Ferrero, C. y Zaritzky, N. E. (1999). "Rheological characterization of "dulce de leche" by dynamic and steady shear measurement." *Journal of Texture Studies* 30(1): 43-58.
- Nawar, W. W. (1996). *Lipids. Food chemistry, third edition*. O. R. Fennema. Londres. Taylor & Francis.
- Nawar, W. W. (2010). *Lípidos. Química de alimentos de fennema*. Fennema, O. R. Puerto Alegre. Artmed Editora.

- NIH - National Institute of Health. (2013). Butylated Hydroxyanisole (BHA). Report on Carcinogens, Eleventh Edition, National Institutes of Health. CAS No. 25013-16-5.
- Norton, I., Goodall, D., Frangou, S., Morris, E. y Rees, D. (1984). "Mechanism and dynamics of conformational ordering in xanthan polysaccharide." *Journal of Molecular Biology* 175(3): 371-394.
- Novoa D. F., Ramírez -Navas J. S. (2013). "Caracterización reológica de manjar blanco del valle del cauca". *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 22 (28).
- Nowzari, F., Shábanpour, B. y Ojagh, S. M. (2013). "Comparison of chitosan–gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout." *Food Chemistry* 141(3): 1667-1672.
- NPSA (2014). National Pecan Sellers Association. <http://www.ilovepecans.org>. Acceso 17/6/14.
- O'Byrne DJ, Knauft DA y Shireman RB (1997). "Low fat monounsaturated rich diets containing high-oleic peanuts improve serum lipoprotein profiles". *Lipids* 32, 687-695.
- Oba, T.; Higashimura, M.; Iwasaki, T.; Matser, A.M.; Steeneken, P.A.M.; Robijn, G.W. y Sikkema, J. (2000). "Viscoelastic properties of aqueous solutions of the phosphopolysaccharide "viilian" from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SBT 0495". *Carbohydrate Polymers* 39(3): 275-281.
- Oliveira, M. N., Penna, A. L. B., y Nevarez, H. G. (2009). Production of evaporated milk, sweetened condensed milk and 'Dulce de Leche'. En Tamime A. Y., Dairy powders and concentrated products. Oxford. Blackwell Publishing: 149-180.
- Olson, N. y Johnson, M. (1990). "Light cheese products: Characteristics and economics." *Food Technology* 44(10): 93-96.
- OMS - Organización Mundial de la Salud. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series no. 916. Geneva: WHO. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_916.pdf. Acceso: 25/10/2014.
- OMS - Organización Mundial de la Salud. (2008). Organización Mundial de la Salud. WHO/World Economic Forum Report of a Joint Event. Disponible en: http://www.who.int/entity/dietphysicalactivity/WHOWEF_report_Jan2008_FINAL.pdf. Acceso: 25-02-2009.
- OMS (2015). Las 10 causas principales de defunción en el mundo. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/index2.html>. Acceso: 5/1/15.

- Orellana, C., Peña, F., García, A., Perea, J., Martos, J., Domenech, V. y Acero, R. (2009). "Carcass characteristics, fatty acid composition, and meat quality of criollo argentino and braford steers raised on forage in a semi-tropical region of argentina." *Meat Science* 81(1): 57-64.
- Papastergiadis, A., Mubiru, E., Van Langenhove, H. y De Meulenaer, B. (2012). "Malondialdehyde measurement in oxidized foods: Evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (tbars) test in various foods." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(38): 9589-9594.
- Parker, A., Gunning, P. A., Ng, K. y Robins, M. M. (1995). How does xanthan stabilize salad dressing? *Food Hydrocolloids*, 9, 333-342.
- Pathare, P. B., Opara, U. L. y Al-Said, F. A.-J. (2013). "Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review." *Food and Bioprocess Technology* 6(1): 36-60.
- Patil, G. y Patel, A. (1992). "Viscoelastic properties of sweetened condensed milk as influenced by storage." *Milchwissenschaft* 47.
- Patton, S. y Kurtz, G. W. (1951). "2-thiobarbituric acid as a reagent for detecting milk fat oxidation." *Journal of Dairy Science* 34(7): 669-674.
- Patton, S. y ParkKurtz, G. W. (1955). "A note on the thiobarbituric acid test for milk lipid oxidation^{1,2}." *Journal of Dairy Science* 38(8): 901.
- Pauletti, M., Castelao, E. y Bernardi, M. (1996). "Nota: Influencia de los sólidos solubles, de la acidez y del azúcar sobre el color del dulce de leche/note: Influence of soluble solids, acidity and sugar on the color of dulce de leche." *Food Science and Technology International* 2(1): 45-49.
- Pauletti, M., Castelao, E., Sabbag, N. y Costa, S. (1995). "Nota: Velocidad de las reacciones responsables del color del dulce de leche/note: Color development rate in dulce de leche." *Food Science and Technology International* 1(2-3): 137-140.
- Pauletti, M., Matta, E. y Rozycki, S. (1999). "Kinetics of heat-induced browning in concentrated milk with sucrose as affected by ph and temperature". *Food Science and Technology International* 5(5): 407-413.
- Pauletti, M., Venier, A., Sabbag, N. y Stechina, D. (1990). "Rheological characterization of dulce de leche, a confectionery dairy product." *Journal of Dairy Science* 73(3): 601-603.
- Pavlovich-Abril, A., Salazar-García, M. G., Cinco, J., Ortega, R. y Gámez, N. (2009). "Efectos de una mezcla de estearina de palma y aceite de canola sobre los

- parámetros reológicos de la masa de trigo y características del pan." *Interciencia* 34(8): 577-582.
- Pavón, Y. L., Lazzaroni, S. M., Sabbag, N. G. y Rozycki, S. D. (2014). "Simultaneous effects of gelatin and espina corona gum on rheological, physical and sensory properties of cholesterol-reduced probiotic yoghurts." *International Journal of Food Science & Technology* 49(10): 2245-2251.
- Pedrero, E.M., Partal, P., Franco, J. M., Zaritzky, N., y Califano, A. (2001). Caracterización reológica de "Dulce de leche". Actas de la VII Reunión del Grupo Español en Polímeros y XXIII Reunión del Grupo Especializado en Reología. San Lorenzo del Escorial, 16-19 de setiembre de 2001.
- Pegg, R. B. (2001). "Spectrophotometric measurement of secondary lipid oxidation products." *Current protocols in food analytical chemistry*.
- Pegg, R. B., Shahidi, F. y Jablonski, C. R. (1992). "Interactions of sulfanilamide and 2-thiobarbituric acid with malonaldehyde: Structure of adducts and implications in determination of oxidative state of nitrite-cured meats." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40(10): 1826-1832.
- Penna, A. L. B., Sivieri, K. y Oliveira, M. N. (2001). "Relation between quality and rheological properties of lactic beverages." *Journal of Food Engineering* 49(1): 7-13.
- Pennisi Forell, S.C., Ranalli, N., Zaritzky, N.E., Andrés, S.C. y Califano, A.N. (2010). "Effect of type of emulsifiers and antioxidants on oxidative stability, colour and fatty acid profile of low-fat beef burgers enriched with unsaturated fatty acids and phytosterols". *Meat Science* 86: 364-370.
- Pérez Chiquito, M.D.C (2013). Análisis comparativo de propiedades, textura y estabilidad de mayonesas comerciales. Disponible en: digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/19089/3/TFM%20Yarima%20Perez%20Chiquito.pdf. Acceso: 30/10/2014.
- Pokorný, J., Janitz, W., Viden, I., Velišek, J., Valentová, H. y Davidek, J. (1987). "Reaction of oxidized lipids with protein part 14. Aldolization reactions of lower alkanals in presence of nonlipidic substances." *Food/Nahrung* 31(1): 63-70.
- Pompe, W., Worch, H., Epple, M., Friess, W., Gelinsky, M., Greil, P., Hempel, U., Scharnweber, D. y Schulte, K. (2003). "Functionally graded materials for biomedical applications." *Materials Science and Engineering*, 362(1): 40-60.
- Prado, A. C. P., Manion, B. A., Seetharaman, K., Deschamps, F. C., Barrera Arellano, D. y Block, J. M. (2013). "Relationship between antioxidant properties and

- chemical composition of the oil and the shell of pecan nuts [*caryaillinoensis* (wangenh) c. Koch]." *Industrial Crops and Products* 45(0): 64-73.
- Prentice, J. H. (1992). Dairy rheology: A concise guide. WashingtonWiley.
- Quintana, J. M., Califano, A. y Zaritzky, N. (2002). "Microstructure and stability of non-protein stabilized oil-in-water food emulsions measured by optical methods." *Journal of Food Science* 67(3): 1130-1135.
- Quintana, M., Califano, A. y Zaritzky, N. (2004). Influence of polysaccharides on the rheological characteristics and stability of low-in-fat O/W emulsions. –International Congress on Engineering and Food Proceedings del 9th International Congress on Engineering and Food (ICEF9). 7 al 11 de marzo, Montpellier, France. Acta en CD.
- Rajaram, S., Burke, K., Connell, B., Myint, T. y Sabaté, J. (2001). "A monounsaturated fatty acid–rich pecan-enriched diet favorably alters the serum lipid profile of healthy men and women." *The Journal of Nutrition* 131(9): 2275-2279.
- Rao, M. A. (1999). Flow and functional models for rheological properties of fluid foods. En: *Rheology of Fluid and Semisolid Foods. Principles and Applications*. Barbosa-Rao, M. y Cooley, H. (1984). "Determination of effective shear rates in rotational viscometers with complex geometries." *Journal of Texture Studies* 15(4): 327-335.
- Rao, M., Okechukwu, P., Da Silva, P. y Oliveira, J. (1997). "Rheological behavior of heated starch dispersions in excess water: Role of starch granule." *Carbohydrate Polymers* 33(4): 273-283.
- Rao, M.A. y Cooley, H.J. (1992). "Rheological behavior of tomato pastes in steady and dynamic shear". *Journal of Texture Studies* 23: 415–425.
- Rayan, A., Kalab, M. y Ernstrom, C. (1980). "Microstructure and rheology of process cheese." *Scanning Electron Microscopy*(3): 635-643.
- Rehage, H. (1994). Interesting correlations between the rheological properties of rod-shaped micelles and dye assemblies. Structure and flow in surfactant solutions. Herb, C. A. y Prud'homme, R. K.. Washington. American Chemical Society
- Reiner, M. (1960). Deformation, strain and flow. Londres. Lewis
- RESOLUCIÓN GMC N° 137/96, CAA, Capítulo 8 (2015). Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VIII.pdf. Acceso: 05/01/2015.
- Rha, C. (1975). Theories and principles of viscosity. Theory, determination and control of physical properties of food materials. Berlín. Springer: 7-24.
- Riande, E., Diaz-Calleja, R., Prolongo, M., Masegosa, R. y Salom, C. (1999). Polymer viscoelasticity: Stress and strain in practice, CRC Press.

- Roca, E., y Cáceres, P. (2011). Determinación del mejor proceso de elaboración de dulce de leche a partir de la sustitución parcial o total de leche fresca por leche en polvo. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/16045/1/Determinaci%C3%B3n%20del%20Mejor%20Proceso%20de%20Elaboraci%C3%B3n%20de%20Dulce%20de%20Leche%20a%20Partir%20de%20la%20Sustituci%C3%B3n%20Parcial%20o%20Total%20de%20Leche%20Fresca%20por%20Leche%20en%20Polvo.pdf>. Acceso: 22/11/14.
- Rodd, A., Dunstan, D. y Boger, D. (2000). "Characterisation of xanthan gum solutions using dynamic light scattering and rheology." *Carbohydrate Polymers* 42(2): 159-174.
- Rodríguez, A., Piagentini, A., Rozycki, S., Lema, P., Pauletti, M. S. y Panizzolo, L. (2012). "Evolución del desarrollo del color en sistema modelo de composición similar al dulce de leche. Influencia del tiempo de calentamiento y del ph." *Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay* 7: 38-42.
- Rollema, H. y Fox, P. (1992). *Advanced dairy chemistry: Proteins*.(Ed. 2): 111-140.
- Romeih, E. A., Michaelidou, A., Biliaderis, C. G. y Zerfiridis, G. K. (2002). "Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: Chemical, physical and sensory attributes." *International Dairy Journal* 12(6): 525-540.
- Rosenberg, M. (1992). "Cheese: The toughest lowfat challenge." *Dairy Foods* 93(5): 44.
- Rosenberg, M., Wang, Z., Chuang, S. y Shoemaker, C. (1995). "Viscoelastic property changes in cheddar cheese during ripening." *Journal of Food Science* 60(3): 640-644.
- Ross-Murphy, S. B., Morris, V. J. y Morris, E. R. (1983). Molecular viscoelasticity of xanthan polysaccharide. *Faraday Symposia of the Chemical Society* 18: 115-129.
- Rovedo, C. O., Viollaz, P. E. y Suarez, C. (1991). "The effect of ph and temperature on the rheological behavior of dulce de leche, a typical dairy argentine product." *Journal of Dairy Science* 74(5): 1497-1502.
- Rozycki (2008). Estudio de los Procesos de Gelificación Térmica y de Pardeamiento no Enzimático, de Proteínas de Leche en Presencia de Azúcares. Tesis Doctoral, UNL.
- Rozycki, S., Buera, M. y Pauletti, M. (2010). "Heat-induced changes in dairy products containing sucrose." *Food Chemistry* 118(1): 67-73.

- Rudolph, C. J., Odell, G. V., Hinrichs, H. A., Hopfer, D. A. y Kays, S. J. (1992). "Genetic, environmental, and maturity effects on pecan kernel lipid, fatty acid, tocopherol, and protein composition." *Journal of Food Quality* 15(4): 263-278.
- Sabioni, J.G., Silva, D.O., Pinheiro, A.J.R., Borges, A.C. y Chavez, J.B.P. (1984). "Control of lactose crystallization in dulce de leche by *Kluyveromyces lactis* fermentation". *Journal of Dairy Science*, 67: 1694–1698.
- Saito, M., Yin, L.J., Kobayashi, I. y Nakajima, M. (2005). "Preparation characteristics of monodispersed oil-in-water emulsions with large particles stabilized by proteins in straight-through microchannel emulsification." *Food Hydrocolloids* 19(4): 745-751.
- Sánchez, M. C., Valencia, C., Franco, J. M. y Gallegos, C. (2001). "Wall slip phenomena in oil-in-water emulsions: Effect of some structural parameters." *Journal of Colloid and Interface Science* 241(1): 226-232.
- Satia-Abouta, J., Patterson, R. E., Neuhausser, M. L. y Elder, J. (2002). "Dietary acculturation: Applications to nutrition research and dietetics." *Journal of the American Dietetic Association* 102(8): 1105-1118.
- Sato, T., Norisuye, T. y Fujita, H. (1984). "Double-stranded helix of xanthan in dilute solution: Evidence from light scattering." *Polymer Journal* 16(4): 341-350.
- Schausberger, A., Schindlauer, G. y Janeschitz-Kriegl, H. (1985). "Linear elasto-viscous properties of molten standard polystyrenes - i. Presentation of complex moduli; role of short range structural parameters." *Rheologica Acta* 24(3): 220-227.
- Scheffe, H. (1958). "Experiments with mixtures." *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*: 344-360.
- Schramm, G. y Haake, G. (1994). A practical approach to rheology and rheometry, Karlsruhe. Haake.
- Shah, N. y Nickerson, T. (1978). "Functional properties of hydrolyzed lactose: Solubility, viscosity and humectant properties." *Journal of Food Science* 43(4): 1081-1084.
- Shantha, N. y Decker, E. (1993). "Conjugated linoleic acid concentrations in processed cheese containing hydrogen donors, iron and dairy-based additives." *Food Chemistry* 47(3): 257-261.
- Sherman, P. (1970). "Rheological properties of foodstuffs". En: *Industrial rheology with particular reference to foods, pharmaceutical, and cosmetics*. London y New York. Academic Press Inc.: 185-316.

- Sidwell, C. G., Salwin, H. y Mitchell, J. H., Jr. (1955). "Measurement of oxidation in dried milk products with thiobarbituric acid." *Journal of the American Oil Chemists Society* 32(1): 13-16.
- Singh, H. (2004). "Heat stability of milk." *International Journal of Dairy Technology* 57(2-3): 111-119.
- Singh, H. y Fox, P. F. (1987). "Heat stability of milk: Influence of colloidal and soluble salts and protein modification on the ph-dependent dissociation of micellar κ -casein." *Journal of Dairy Research* 54(4): 523-534.
- Sinnhuber, R. O. y Yu, T. C. (1958). "Characterization of the red pigment formed in the 2-thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity, b." *Journal of Food Science* 23(6): 626-634.
- Sleeter, R. (1985). Instrumental analysis for quality control and quality assurance. En: Bailey's industrial oil and fat products. Swern, D. New York. John Wiley and Sons, Inc: 3: 203.
- Smith, D.M. (1994). Protein interactions in gels: Protein-protein interactions. En: Thermal Analysis of Foods, Harwalkar V.R. y Ma C.Y.. New York. Elsevier Applied Sci.: 209-224.
- Smith, J. (1991). Food Additive Use Handbook. New York. Blackie & Son Ltd: 286 p.
- Sociedad Argentina de Pediatría (2005). Consenso sobre factores de riesgo de enfermedad cardiovascular en pediatría. Obesidad. Subcomisión de Epidemiología y Comité de Nutrición. Archivos argentinos de pediatría, 103, 262-281.
- Sosa-Herrera, M., Berli, C. y Martínez-Padilla, L. (2008). "Physicochemical and rheological properties of oil-in-water emulsions prepared with sodium caseinate/gellan gum mixtures." *Food Hydrocolloids* 22(5): 934-942.
- Sosa, M., Martinez, C., Marquez, F. y Hough, G. (2008). "Location and scale influence on sensory acceptability measurements among low- income consumers." *Journal of Sensory Studies* 23(5): 707-719.
- Southwick J.G., Lee H., Jamieson A.M. y Blackwell J. (1980). "Self-Association of Xanthan in Aqueous Media". *Carbohydrate Research* 84: 287-295.
- Spotti, M. J., Perduca, M. J., Piagentini, A., Santiago, L. G., Rubiolo, A. C. y Carrara, C. R. (2013). "Gel mechanical properties of milk whey protein-dextran conjugates obtained by maillard reaction." *Food Hydrocolloids* 31(1): 26-32.

- Stapelfeldt, H., Nielsen, B. R. y Skibsted, L. H. (1997). "Effect of heat treatment, water activity and storage temperature on the oxidative stability of whole milk powder." *International Dairy Journal* 7(5): 331-339.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*, Freeman Press.
- Stewart-Knox, B., Parr, H., Bunting, B. y Mitchell, P. (2003). "A model for reduced fat food product development success." *Food Quality and Preference* 14(7): 583-593.
- Subhadra, B., Lochmann, R., Rawles, S., y Chen, R. (2006). "Effect of dietary lipid source on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)". *Aquaculture* 255: 210-222.
- Sun, C., Gunasekaran, S. y Richards, M. P. (2007). "Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions." *Food Hydrocolloids* 21(4): 555-564.
- Swaisgood, H. E. (2010). Las características de la leche. En: *Química de los Alimentos*, Fennema O. Zaragoza. Acribia: 883-920.
- Syrbe, A., Bauer, W. y Klostermeyer, H. (1998). "Polymer science concepts in dairy systems - an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction." *International Dairy Journal* 8(3): 179-193.
- Tarrega, A. y Costell, E. (2006a). "Effect of composition on the rheological behaviour and sensory properties of semisolid dairy dessert." *Food Hydrocolloids* 20(6): 914-922.
- Tárrega, A. y Costell, E. (2006b). "Effect of inulin addition on rheological and sensory properties of fat-free starch-based dairy desserts." *International Dairy Journal* 16(9): 1104-1112.
- Tenorio, M. L. O. (2012). "Effect of α -tocopherol concentration and production process on lipid oxidation of fish oil enriched milk emulsions." *Alimentos Hoy* 21(25): 41-57.
- Theander O. (1981). "Novel developments in caramelization". *Progress in food & nutrition science* 5:471-478.
- Thomson, J. J. (1888). *Applications of dynamics to physics and chemistry*, London. Macmillan.
- Tolstoguzov, V. (2000). "Foods as dispersed systems. Thermodynamic aspects of composition-property relationships in formulated food." *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 61(2): 397-409.
- Toro-Vazquez, J., Charo-Alonso, M. y Perez-Briceno, F. (1999). "Fatty acid composition and its relationship with physicochemical properties of pecan (*Carya illinoensis*) oil." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 76(8): 957-965.

- Tsai, P.J., Yu, T.Y., Chen, S.H., Liu, C.C. y Sun, Y.F. (2009). "Interactive role of color and antioxidant capacity in caramels." *Food Research International* 42(3): 380-386.
- Tschoegl, N. W. (1989). *The phenomenological theory of linear viscoelastic behavior: An introduction*. Berlin Springer.
- Tschoegl, N. W. (1998). *Time-dependence in materials*. Berlín. Springer.
- Ulbricht, T.L.V., y Southgate, D.A.T. (1991). "Coronary heart-disease: 7 dietary factors". *The Lancet* 338(8773): 985-992.
- Ulu, H. (2004). "Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products." *Meat Science* 67(4): 683-687.
- Uruakpa, F. O. y Arntfield, S. (2005). "Emulsifying characteristics of commercial canola protein-hydrocolloid systems." *Food Research International* 38(6): 659-672.
- USDA (2010). U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services. *Dietary Guidelines for Americans, 2010. 7th Edition*, Washington, DC: U.S. Government Printing Office, December 2010, <http://www.health.gov/dietaryguidelines/dga2010/DietaryGuidelines2010.pdf> accesed 22/04/2014.
- USDA, 2015. Food Group. <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/> . Acceso 16/01/2015.
- Valencia García, F., De Jesús Millán Cardona, L. y Ramirez Herrera, N. (2008). "Evaluation of the effects on the physical, chemical, sensorial and textural properties of polydextrose, fructose and sorbitol as sugar substitutes in the making of arequipe (a Colombian dessert)". *Revista Lasallista de Investigación* 5(2): 20-27.
- Valenzuela, A. y Nieto, M. S. (2001). "Acido docosahexaenoico (dha) en el desarrollo fetal y en la nutrición materno-infantil." *Revista Médica de Chile* 129(10): 1203-1211.
- Valenzuela, A., Ronco, C. y Nieto, S. (1995). "Tecnologías aplicables a la industrialización de los aceites marinos para permitir su aplicación en la alimentación". *Alimentos* 20: 1-14.
- Valls, J. S., Prieto, E. B. y de Castro Martín, J. J. (1999). *Introducción al análisis sensorial de los alimentos*, Universidad de Barcelona.

- Van Bockstaele, F., De Leyn, I., Eeckhout, M. y Dewettinck, K. (2011). "Non-linear creep-recovery measurements as a tool for evaluating the viscoelastic properties of wheat flour dough." *Journal of Food Engineering* 107(1): 50-59.
- Van Boekel, M. (1998). "Effect of heating on maillard reactions in milk." *Food Chemistry* 62(4): 403-414.
- van Vliet, T., van Aken, G. A., de Jongh, H. H. J. y Hamer, R. J. (2009). "Colloidal aspects of texture perception." *Advances in Colloid and Interface Science* 150(1): 27-40.
- Van Wazer, J. R., Colwell, R., Lyons, J. y Kim, K. (1963). Viscosity and flow measurement: A laboratory handbook of rheology. New York. Interscience Publishers.
- Vélez-Ruiz, J. F. y Barbosa-Cánovas, G. V. (1998). "Rheological properties of concentrated milk as a function of concentration, temperature and storage time." *Journal of Food Engineering* 35(2): 177-190.
- Vigo, M.S., Chirife, J., Scorza, O.C., Catta'neo, P., Bertoni, M.H., and Sarrailh. P. 1983. "Factores que condicionan la estabilidad microbiológica de diversos alimentos semi-húmedos de elaboración nacional. I. Determinación de actividad acuosa, (a_w), PH, humedad y sólidos solubles". *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos* (Spain) 21: 91.
- Villarroel, L., Alvarez, J. y Maldonado, D. (2003). "Aplicación del análisis de componentes principales en el desarrollo de productos". *Revista Acta Nova* 2(3): 399-408.
- Walstra, P., Geurts, T., Normen, A., Jellema, A. y van Boekel, M. (1999). Dairy Technology. New York. Marcel Dekker: 727 p.
- Walstra, P., Jenness, R. y Badings, H. T. (1984). Dairy chemistry and physics, Washington. Wiley.
- Wang, H. y Simon, H. W. (2004). Properties of dendrimers and hyperbranched polymers and their blends. En: Advanced polymeric materials: Structure property relationships. Shonaike G. O. y Advani S. G.. CRC Press.
- Whitcomb, P. y Macosko, C. (1978). "Rheology of xanthan gum." *Journal of Rheology* 22(5): 493-505.
- White, G. (1970). "Rheology in food research." *International Journal of Food Science & Technology* 5(1): 1-32.

- White, P. y Xing, Y. (1997). Antioxidants from cereals and legumes. En: Natural antioxidants: Chemistry, health effects, and applications. Shahidi F. The American Oil Chemists Society: 25-63.
- Whorlow, R.W. (1992) Rheological Techniques. Nueva York. Ellis Horwood.
- Winter, H. H. y Chambon, F. (1986). "Analysis of linear viscoelasticity of a crosslinking polymer at the gel point." *Journal of Rheology* 30(2): 367-382.
- Winter, H. H. y Mours, M. (2006). "The cyber infrastructure initiative for rheology." *Rheologica Acta* 45(4): 331-338.
- Wu, S. (1989). "Chain structure and entanglement." *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* 27(4): 723-741.
- Yanagimoto, K., Lee, K.-G., Ochi, H. y Shibamoto, T. (2002). "Antioxidative activity of heterocyclic compounds found in coffee volatiles produced by maillard reaction." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(19): 5480-5484.
- Yang, J. (2009). "Brazil nuts and associated health benefits: A review." *LWT-Food Science and Technology* 42(10): 1573-1580.
- Yang, J., Liu, R. H. y Halim, L. (2009). "Antioxidant and antiproliferative activities of common edible nut seeds." *LWT-Food Science and Technology* 42(1): 1-8.
- Ye, A., Cui, J., Taneja, A., Zhu, X. y Singh, H. (2009). "Evaluation of processed cheese fortified with fish oil emulsion." *Food Research International* 42(8): 1093-1098.
- Yilmaz, Y. y Toledo, R. (2005). "Antioxidant activity of water-soluble maillard reaction products." *Food Chemistry* 93(2): 273-278.
- Yoshimura, A. S., Prud'homme, R. K., Princen, H. y Kiss, A. (1987). "A comparison of techniques for measuring yield stresses." *Journal of Rheology* 31(8): 699-710.
- Young, S., Wong, M., Tabata, Y. y Mikos, A. G. (2005). "Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules." *Journal of Controlled Release* 109(1): 256-274.
- Zamboni E. F. y Zalazar C. A. (1994). Fundamentos de la elaboración de Dulce de Leche. En Ciencia y Tecnología de los Productos Lácteos. Diagramma SA. Santa Fe, Argentina. CERIDE: 311-336.
- Zavala Pope, J.M. (2005). Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche. Dirección General de Promoción Agraria. Ministerio de Agricultura. Dirección de crianzas. México. Disponible en [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/\\$FILE/Aspectosnutricionalesytecn%C3%B3gicodelaleche.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/$FILE/Aspectosnutricionalesytecn%C3%B3gicodelaleche.pdf). Acceso 11/06/14.

- Zhao, Q., Zhao, M., Yang, B. y Cui, C. (2009). "Effect of xanthan gum on the physical properties and textural characteristics of whipped cream." *Food Chemistry* 116(3): 624-628.
- Zimeri, J. E. y Kokini, J. L. (2003). "Rheological properties of inulin–waxy maize starch systems." *Carbohydrate Polymers* 52(1): 67-85.
- Zunino, A. (1998). Dulce de Leche, aspectos básicos para su adecuada elaboración. Publicación Técnica del Depto. De Fiscalización de Industrias Lácteas, Ministerio de Asuntos Agrarios. Buenos Aires, Argentina. 28 p.