

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL  
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del Litoral, para la obtención del Grado Académico de:  
*Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.*

**“Harinas enriquecidas en proteínas: Efecto del procesamiento tecnológico sobre la calidad nutricional de productos Panificados”**

Instituto de Tecnología de Alimentos

**Lic. Melina Erben**

**Director: Mg. Carlos A. Osella**

---

**El presente trabajo de tesis doctoral dio lugar a las publicaciones y presentaciones a reuniones científicas que se detallan a continuación:**

***Publicaciones en revistas científicas:***

Erben, M.; Piagentini, A.M. y Osella C.A. (2015). *Kinetics of color development in fortified cookies. Journal of Food and Nutrition Sciences*. 3(5): 196-202.

Erben, M.; Sánchez, H.D. y Osella, C.A. (2014). *Effects of whey protein concentrate on shelf life of cookies using corn and sunflower oils*. (2014). *Journal of Food and Nutrition Science*. 2(4): 195-199.

***Presentaciones en reuniones científicas:***

Erben, M.; Piagentini, A.M. y Osella C.A. (2015). *Evaluación del tiempo óptimo de cocción y nivel de lisina disponible en cookies fortificadas*. XV Congreso de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL). Buenos Aires, Argentina.

Erben, M.; Sánchez, H.D. y Osella, C.A. (2014). *Efecto del agregado de concentrado proteico de suero en la vida útil de cookies elaboradas con aceite*. V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICYTAC). Córdoba, Argentina.

Erben, M.; de La Torre, M.A.; Sánchez, H.D. y Osella, C.A. (2014). *Utilización de un diseño mezcla para la elaboración de cookies*. V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICYTAC). Córdoba, Argentina. Distinción al mejor trabajo en el área Ingeniería de Alimentos.

Erben, M. (2014). *Optimización del tiempo de cocción en cookies fortificadas*. XVIII Encuentro de Jóvenes Investigadores, Santa Fe, Argentina. Distinción al mejor trabajo en el área Ingeniería de Alimentos.

Erben, M.; Gallardo, A.E. y de la Torre, M.A. (2012). *Calidad de harinas de trigo comercializadas en supermercados*. IX Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICYTAC). Córdoba, Argentina.

Gallardo, A.E y Erben, M. (2011). *Relevamiento de calidad de harinas de trigo comerciales: Aspectos Químicos*. XV Encuentro de Jóvenes Investigadores de la

---

---

UNL, VI Encuentro de Jóvenes Investigadores de Universidades de Santa Fe. Santa Fe, Argentina.

---

---

## AGRADECIMIENTOS

*Frente a la finalización de este trabajo de Tesis Doctoral debo manifestar mi infinito agradecimiento a todas aquellas personas que me han apoyado desde el inicio de este proyecto, durante el largo camino recorrido.*

*Agradecer a la educación pública de nuestro país, a la Universidad Nacional del Litoral, a la Facultad de Ingeniería Química y al Instituto de Tecnología de los Alimentos, por permitirme realizar la carrera de Doctorado y por brindarme los elementos necesarios para mi formación científica y académica.*

*Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por las becas recibidas, a través de las cuales pude realizar la presente Tesis Doctoral.*

*A mi inicial Director de Doctorado, actualmente jubilado, Prof. Ing. Hugo D. Sánchez, por confiar en mí, por las enseñanzas y oportunidades, por su apoyo, por los consejos recibidos, por ser un referente y por brindarme la posibilidad de continuar avanzando en mi formación académica.*

*A mi inicial Codirector de Doctorado, actualmente Director y guía, Prof. Mg. Carlos A. Osella “Charly”, por acompañarme en todo momento en este largo camino y a pesar de todo. Por toda su sabiduría, por su generosidad y por compartir sus experiencias que hicieron de este trabajo un desafío y un placer.*

*A Marisa, por los retos y las correcciones, pero fundamentalmente por el apoyo y el cariño recibido a lo largo de estos años.*

*A todos mis compañeros del Instituto de Tecnología de Alimentos, por lo compartido, por el día a día.*

*A mis compañeros docentes de la Cátedra de Química Orgánica de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL), en especial a mis amigos del “Organic Team”: Álvaro, Vero y Nati.*

*A Georgina Tonarelli por la libertad concedida para mi formación.*

*A María Gimena Galán, por ser esa insuperable compañera de trabajo, de viajes, de decisiones, de estudio, pero por sobre todas las cosas mi gran amiga.*

*A mis amigos, los “de acá” y “de allá”, por ser parte de mi vida, por tantos*

---

---

*momentos felices y por elegirnos siempre más allá de las frecuencias.*

*A mi familia, por el cariño, a cada uno, mis abuelos, mis padres, mis hermanos, a mi amada Milagros, gracias por ser parte de esto.*

*A mi amor, por el apoyo, por entender y por la posibilidad de toda una vida juntos.*

---

---

*“Empieza por hacer lo necesario, luego haz lo posible,  
y de pronto te encontrarás haciendo lo imposible”*, San Francisco de Asís.

---

---

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

Índice de Contenidos.....	i
Índice de Tablas.....	iiv
Índice de Figuras.....	xi
Lista de abreviaturas.....	xiii
Resumen.....	xv

### Índice de contenidos

#### I. INTRODUCCIÓN

<b>I.1. Alimentación y Nutrición.....</b>	<b>2</b>
I.1.1. Principales compuestos químicos.....	2
I.1.1.a. Proteínas.....	2
I.1.1.b. Hidratos de carbono.....	5
I.1.1.c. Fibra.....	6
I.1.2. Alimentos de interés social.....	8
<b>I.2. Trigo.....</b>	<b>9</b>
I.2.1. Aspectos generales.....	9
I.2.2. Utilización.....	10
I.2.3. Composición química.....	12
I.2.4. Aspectos nutricionales.....	13
I.2.5. Harina de trigo.....	14
I.2.5.a. Caracterización fisicoquímica y reológica de harinas.....	15
<b>I.3. Soja.....</b>	<b>18</b>
I.3.1. Aspectos generales.....	18
I.3.2. Utilización.....	18
I.3.3. Composición química.....	19
I.3.4. Aspectos nutricionales.....	21
I.3.5. Harina de soja.....	22
<b>I.4. Arveja.....</b>	<b>23</b>
I.4.1. Aspectos generales.....	23
I.4.2. Utilización.....	24
I.4.3. Composición química.....	24

---

I.4.4. Aspectos nutricionales.....	26
I.4.5. Harina de arveja.....	27
<b>I.5. Concentrado de proteínas del lactosuero.....</b>	<b>28</b>
I.5.1. Aspectos generales.....	28
I.5.2. Utilización.....	29
I.5.3. WPC 35.....	30
<b>I.6. Productos panificados.....</b>	<b>31</b>
I.6.1. Pan.....	31
I.6.1.a. Aspectos generales en la elaboración del pan.....	32
I.6.1.b. Atributos de calidad.....	33
I.6.1.c. Utilización de harina de soja en pan.....	33
I.6.1.d. Utilización de harina de arveja en pan.....	35
I.6.1.e. Utilización de concentrado de proteínas del lactosuero en pan.....	36
I.6.1.f. Efecto del procesamiento sobre la calidad.....	37
I.6.2. Galletitas dulces ( <i>cookies</i> ).....	38
I.6.2.a. Aspectos generales en la elaboración.....	39
I.6.2.b. Atributos de calidad.....	40
I.6.2.c. Utilización de harina de soja en <i>cookies</i> .....	41
I.6.2.d. Utilización de harina de arveja en <i>cookies</i> .....	43
I.6.2.e. Utilización de concentrado de proteínas del lactosuero en <i>cookies</i> ...	43
I.6.2.f. Efecto del procesamiento sobre la calidad.....	44
<b>I.7. Justificación del presente trabajo de tesis.....</b>	<b>45</b>
<b>II. OBJETIVOS</b>	
<b>II.1. Objetivo general.....</b>	<b>46</b>
<b>II.2. Objetivos específicos.....</b>	<b>46</b>
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
<b>III.1. Harinas de trigo comercial.....</b>	<b>47</b>
III.1.1. Composición química.....	47
III.1.2. Ensayos reológicos.....	47
III.1.2.a. Ensayo Farinográfico.....	47
III.1.2.b. Ensayo Alveográfico.....	48
III.1.3. Ensayo de panificación.....	48
<b>III.2. Ingredientes proteicos.....</b>	<b>49</b>

---

---

III.2.1. Obtención de harina de arveja inactivada.....	49
III.2.1.a. Inactivación de la lipoxigenasa.....	49
III.2.1.b. Técnica de molienda.....	49
III.2.2. Composición química.....	50
III.2.2.a. Humedad.....	50
III.2.2.b. Cenizas.....	50
III.2.2.c. Proteínas.....	50
III.2.2.d. Materia grasa.....	50
III.2.3. Ensayo farinográfico.....	50
<b>III.3. Pan de molde.....</b>	<b>51</b>
III.3.1. Elección de puntos extremos.....	51
III.3.1.a. Evaluación sensorial.....	51
III.3.1.b. Volumen específico.....	52
III.3.2. Combinación de los ingredientes proteicos.....	52
III.3.3. Variables de proceso.....	55
III.3.3.a. Parámetros de color.....	56
III.3.3.b. Volumen, peso y volumen específico.....	56
III.3.3.c. Lisina Disponible.....	56
<b>III.4. Cookies.....</b>	<b>57</b>
III.4.1. Formulación utilizada en la elaboración.....	57
III.4.2. Procedimiento de elaboración.....	57
III.4.3. Selección de la materia grasa a utilizar.....	57
III.4.3.a. Parámetros sensoriales.....	58
III.4.3.b. Índice de peróxido.....	58
III.4.4. Elección de punto extremos.....	58
III.4.4.a. Determinación de la consistencia de la masa.....	58
III.4.4.b. Evaluación sensorial.....	60
III.4.5. Combinación de ingredientes proteicos.....	61
III.4.6. Determinación del tiempo óptimo de cocción.....	62
III.4.6.a. Evaluación sensorial.....	63
III.4.6.b. Parámetros de color.....	63
III.4.6.c. Modelado matemático del cambio de color.....	63
III.4.6.d. Diseño experimental.....	64

---

---

III.4.7. Variables de proceso.....	64
III.4.7.a. Lisina disponible.....	64
<b>III.5. Evaluación de los productos (pan de molde y <i>cookies</i>) obtenidos según diseños experimentales 2 y 4 (puntos óptimos).....</b>	<b>65</b>
III.5.1. Composición química.....	65
III.5.1.a. Determinación de almidón resistente.....	65
III.5.1.b. Determinación del contenido de minerales (Fe, Zn, Ca y Na).....	66
III.5.2. Parámetros físicos.....	66
III.5.2.a. Índice de amarramiento.....	66
III.5.2.b. Volumen específico en pan de molde.....	66
III.5.2.c. Espesor, diámetro y encogimiento en <i>cookies</i> .....	67
III.5.3. Estudio de la composición proteica.....	67
III.5.3.a. Perfil de aminoácidos.....	67
III.5.3.b. Digestibilidad proteica in vitro (%DP).....	68
III.5.3.c. Lisina Disponible.....	68
III.5.3.d. Computo aminoacídico o <i>score</i> químico.....	68
III.5.3.e. <i>Score</i> químico de aminoácidos corregido por digestibilidad.....	69
III.5.4. Análisis sensorial.....	69
III.5.4.a. Evaluación sensorial con panel de expertos.....	69
III.5.4.b. Ensayo de aceptabilidad con consumidores.....	69
<b>III.6. Análisis estadístico.....</b>	<b>70</b>
<b>III.7. Desarrollo experimental.....</b>	<b>71</b>
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
<b>IV.1. Harinas de trigo comercial.....</b>	<b>72</b>
IV.1.1. Composición química.....	72
IV.1.2. Ensayos reológicos.....	73
IV.1.2.a. Ensayo farinográfico.....	74
IV.1.2.b. Ensayo alveográfico.....	75
IV.1.3. Ensayos de panificación.....	75
IV.1.4. Conclusiones parciales.....	77
<b>IV.2. Ingredientes proteicos.....</b>	<b>78</b>
IV.2.1. Harina de arveja inactivada.....	78
IV.2.1.a. Técnica de molienda.....	78

---

---

IV.2.2. Composición química.....	79
IV.2.3. Ensayo farinográfico.....	79
<b>IV.3. Pan de molde.....</b>	<b>82</b>
IV.3.1. Elección de puntos extremos.....	82
IV.3.2. Combinación de ingredientes proteicos.....	84
IV.3.2.a. Aplicación del diseño experimental.....	84
IV.3.2.b. Optimización del diseño experimental.....	91
IV.3.2.c. Validación de los modelos obtenidos.....	92
IV.3.3. Variables de proceso.....	92
IV.3.3.a. Aplicación del diseño experimental.....	91
IV.3.3.b. Optimización del diseño experimental.....	100
IV.3.3.c. Validación de los modelos obtenidos.....	101
IV.3.3.d. Efecto del nivel de agua en la formulación.....	102
IV.3.4. Conclusiones parciales.....	104
<b>IV.4. Cookies.....</b>	<b>106</b>
IV.4.1. Selección de la materia grasa a utilizar.....	106
IV.4.2. Elección de puntos extremos.....	108
IV.4.3. Combinación de ingredientes proteicos.....	111
IV.4.3.a. Aplicación del diseño experimental.....	111
IV.4.3.b. Optimización del diseño experimental.....	114
IV.4.3.c. Validación de los modelos obtenidos.....	115
IV.4.4. Determinación del tiempo óptimo de cocción.....	116
IV.4.4.a. Evaluación sensorial.....	116
IV.4.4.b. Parámetros de color.....	118
IV.4.4.c. Modelado matemático del cambio de color.....	119
IV.4.4.d. Diseño experimental.....	123
IV.4.4.e. Validación de los modelos.....	124
IV.4.5. Variables de proceso.....	125
IV.4.5.a. Aplicación del diseño experimental.....	125
IV.4.5.b. Optimización del diseño experimental.....	127
IV.4.6. Conclusiones parciales.....	129
<b>IV.5. Evaluación de los productos (pan de molde y cookies) obtenidos según diseños experimentales 2 y 4 (puntos óptimos).....</b>	<b>131</b>

---

---

IV.5.1. Composición química.....	131
IV.5.1.a. Determinación del contenido de minerales.....	134
IV.5.2. Determinaciones físicas.....	135
IV.5.2.a. Pan de molde.....	135
IV.5.2.b. <i>Cookies</i> .....	137
IV.5.3. Estudio de la composición proteica.....	137
IV.5.3.a. Perfil de aminoácidos.....	137
IV.5.3.b. Digestibilidad proteica in vitro (%DP).....	142
IV.5.3.c. Lisina disponible.....	144
IV.5.4. Análisis sensorial.....	147
IV.5.4.a. Pan de molde.....	147
IV.5.4.b. <i>Cookies</i> .....	150
IV.5.5. Valor nutricional.....	153
IV.5.6. Conclusiones parciales.....	155
<b>V. CONCLUSIONES GENERALES.....</b>	<b>156</b>
<b>VI. PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>162</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>163</b>

---

## ÍNDICE DE TABLAS

### I. INTRODUCCIÓN

<b>I.1</b>	Características de los distintos tipos de harinas obtenidas por molienda...	<b>15</b>
<b>I.2</b>	Composición química promedio de harina de trigo.....	<b>15</b>
<b>I.3</b>	Composición química del grano de soja y sus componentes.....	<b>19</b>
<b>I.4</b>	Calidad proteica de la soja en relación con otros alimentos.....	<b>20</b>
<b>I.5</b>	Composición química de la arveja ( <i>Pisum sativum</i> L.).....	<b>25</b>
<b>I.6</b>	Composición química del WPC 35.....	<b>31</b>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

<b>III.1</b>	Atributos sensoriales evaluados en pan de molde y puntajes máximos.....	<b>52</b>
<b>III.2</b>	Diseño experimental 1. Variables y niveles evaluados en la combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de pan de molde.....	<b>54</b>
<b>III.3</b>	Diseño experimental 1. Combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de pan de molde.....	<b>54</b>
<b>III.4</b>	Diseño experimental 2. Variables y niveles evaluados en el estudio de las variables de proceso en pan de molde.....	<b>55</b>
<b>III.5</b>	Atributos sensoriales y puntajes máximos asignados en <i>cookies</i> .....	<b>60</b>
<b>III.6</b>	Diseño experimental 3. Variables y niveles evaluados en la combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de <i>cookies</i> .....	<b>61</b>
<b>III.7</b>	Diseño experimental 3. Combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de <i>cookies</i> .....	<b>61</b>
<b>III.8</b>	Diseño experimental 4. Variables y niveles evaluados en el estudio de las variables de proceso en <i>cookies</i> .....	<b>64</b>
<b>III.9</b>	Escala estructurada utilizada en ensayos de aceptabilidad.....	<b>70</b>

### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

<b>IV.1</b>	Composición química de harinas de trigo comercial 000.....	<b>71</b>
<b>IV.2.a</b>	Ensayo farinográfico en harinas de trigo comercial 000.....	<b>73</b>
<b>IV.2.b</b>	Ensayo alveográfico en harinas de trigo comercial 000.....	<b>74</b>
<b>IV.3</b>	Ensayo de panificación con harinas de trigo comercial 000.....	<b>76</b>

---

<b>IV.4</b>	Composición química de las materias prima utilizadas en la elaboración de pan de molde y cookies.....	<b>79</b>
<b>IV.5</b>	Resultados farinográficos de HT pura y sus mezclas con HS, WPC y HA.	<b>80</b>
<b>IV.6</b>	Volumen específico y evaluación sensorial de pan de molde con HS, HA y WPC.....	<b>82</b>
<b>IV.7</b>	Niveles evaluados en la combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de pan de molde.....	<b>84</b>
<b>IV.8</b>	Resultados experimentales del diseño 1: combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de pan de molde.....	<b>85</b>
<b>IV.9</b>	Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 1.....	<b>86</b>
<b>IV.10</b>	Valores observados y criterios utilizados en la función de deseabilidad para la optimización del diseño experimental 1.....	<b>91</b>
<b>IV.11</b>	Mezcla óptima en pan de molde.....	<b>91</b>
<b>IV.12</b>	Validación de los modelos para pan de molde. Valores experimentales y predichos por el diseño experimental 1.....	<b>92</b>
<b>IV.13</b>	Resultados experimentales del diseño 2: parámetros instrumentales de color en corteza de pan de molde.....	<b>93</b>
<b>IV.14</b>	Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 2: parámetros instrumentales de color en corteza de pan de molde.....	<b>94</b>
<b>IV.15</b>	Resultados experimentales del diseño 2: parámetros instrumentales de color en miga de pan de molde.....	<b>95</b>
<b>IV.16</b>	Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 2: parámetros instrumentales de color en miga de pan de molde.....	<b>95</b>
<b>IV.17</b>	Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 2: volumen, peso y volumen específico en pan de molde.....	<b>97</b>
<b>IV.18</b>	Resultados experimentales del diseño 2: lisina disponible en pan de molde.....	<b>98</b>
<b>IV.19</b>	Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 2: lisina disponible en pan de molde.....	<b>98</b>
<b>IV.20</b>	Coefficientes de correlación entre LD y parámetros de color en corteza de pan de molde*.....	<b>100</b>
<b>IV.21</b>	Valores observados y criterios utilizados en la función de deseabilidad para la optimización múltiple del diseño experimental 2.....	<b>101</b>

---

---

<b>IV.22</b>	Condiciones óptimas de las variables de proceso para pan de molde.....	<b>101</b>
<b>IV.23</b>	Validación de los modelos para pan de molde. Valores experimentales y predichos por el diseño experimental 2.....	<b>102</b>
<b>IV.24</b>	Parámetros de color y LD en pan de molde con variación en el contenido de agua de la formulación.....	<b>103</b>
<b>IV.25</b>	Puntaje asignado al sabor y rancidez en <i>cookies</i> durante el almacenamiento.....	<b>106</b>
<b>IV.26</b>	Niveles evaluados en la combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de <i>cookies</i> .....	<b>109</b>
<b>IV.27</b>	Análisis sensorial en <i>cookies</i> con sustitución de harina de soja.....	<b>110</b>
<b>IV.28</b>	Análisis sensorial en <i>cookies</i> con sustitución de harina de arveja.....	<b>110</b>
<b>IV.29</b>	Análisis sensorial en <i>cookies</i> con sustitución de concentrado de proteínas del lactosuero.....	<b>110</b>
<b>IV.30</b>	Resultados experimentales del diseño 3: combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de <i>cookies</i> .....	<b>111</b>
<b>IV.31</b>	Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 3.....	<b>112</b>
<b>IV.32</b>	Valores observados y criterios utilizados en la función de deseabilidad para la optimización múltiple del diseño experimental 3.....	<b>115</b>
<b>IV.33</b>	Mezcla óptima en <i>cookies</i> .....	<b>115</b>
<b>IV.34</b>	Validación de los modelos para <i>cookies</i> . Valores experimentales y predichos por el diseño experimental 3.....	<b>115</b>
<b>IV.35</b>	Tiempo óptimo de cocción (min) determinado mediante evaluación sensorial en <i>cookies</i> .....	<b>117</b>
<b>IV.36</b>	Parámetros de color ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $C_{ab}^*$ , $h_{ab}^*$ ) en <i>cookies</i> al tiempo óptimo de cocción determinado por evaluación sensorial.....	<b>119</b>
<b>IV.37</b>	Constante de reacción ( $k_q$ ) y coeficientes de determinación ( $R^2$ ) del cambio de color en <i>cookies</i> .....	<b>122</b>
<b>IV.38</b>	Constante de reacción ( $k_q$ ) y coeficientes de determinación ( $R^2$ ) del cambio de color en <i>cookies</i> .....	<b>124</b>
<b>IV.39</b>	Parámetros $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $C_{ab}^*$ y $h_{ab}^*$ determinados experimentalmente, puntos predichos y error porcentual.....	<b>125</b>
<b>IV.40</b>	Resultados experimentales del diseño 4: efecto de las variables de proceso en los niveles de LD en <i>cookies</i> .....	<b>125</b>

---

---

<b>IV.41</b>	Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 4: lisina disponible.....	<b>126</b>
<b>IV.42</b>	Condiciones óptimas de las variables de proceso para <i>cookies</i> .....	<b>128</b>
<b>IV.43</b>	Formulación y condiciones de elaboración de las muestras testigo y optimizadas de pan de molde y <i>cookies</i> .....	<b>131</b>
<b>IV.44</b>	Composición química de las muestras testigo y optimizada de pan de molde.....	<b>132</b>
<b>IV.45</b>	Composición química de las muestras testigo y optimizada de <i>cookies</i> .....	<b>132</b>
<b>IV.46</b>	Contenido mineral en las muestras testigo y optimizada de pan de molde.	<b>134</b>
<b>IV.47</b>	Contenido mineral en las muestras testigo y optimizada de <i>cookies</i> .....	<b>134</b>
<b>IV.48</b>	Parámetros físicos en muestras testigo y optimizada de pan de molde....	<b>136</b>
<b>IV.49</b>	Parámetros físicos en muestras testigo y optimizada de <i>cookies</i> .....	<b>137</b>
<b>IV.50</b>	Perfil de aminoácidos en las muestras testigo y optimizada de pan de molde.....	<b>138</b>
<b>IV.51</b>	Perfil de aminoácidos en las muestras testigo y optimizada de <i>cookies</i> ...	<b>138</b>
<b>IV.52</b>	SQ de las muestras testigo y optimizadas de pan de molde y <i>cookies</i> .....	<b>142</b>
<b>IV.53</b>	SQ de aminoácidos corregido por la digestibilidad (PDCAAS) en las muestras testigo y optimizadas de pan de molde y <i>cookies</i> .....	<b>143</b>
<b>IV.54</b>	Valores de lisina total y lisina disponible en muestras testigos y optimizadas de pan de molde y <i>cookies</i> .....	<b>145</b>
<b>IV.55</b>	SQ de aminoácidos corregido por la digestibilidad (PDCAAS).....	<b>145</b>
<b>IV.56</b>	Información nutricional de las muestras testigo y optimizada de pan de molde.....	<b>153</b>
<b>IV.57</b>	Información nutricional de las muestras testigo y optimizada de <i>cookies</i>	<b>153</b>

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

### I. INTRODUCCIÓN

<b>I.1</b>	Esquema de utilización del grano de trigo.....	<b>11</b>
<b>I.2</b>	Farinograma representativo de una harina de trigo.....	<b>16</b>
<b>I.3</b>	Alveograma representativo de una harina de trigo.....	<b>17</b>

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

<b>III.1</b>	<b>a)</b> Farinógrafo Brabender. <b>b)</b> Alveógrafo de Chopin.....	<b>48</b>
<b>III.2</b>	<b>a)</b> Esquema de molino a martillo. <b>b)</b> Molino a martillo utilizado en la molienda de arveja a escala piloto.....	<b>49</b>
<b>III.3</b>	Espacio experimental para un diseño de mezcla de tres componentes.....	<b>53</b>
<b>III.4</b>	Esquema del dispositivo empleado en la determinación de dureza.....	<b>59</b>
<b>III.5</b>	Desarrollo experimental del trabajo de investigación.....	<b>71</b>

### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

<b>IV.1</b>	Farinogramas obtenidos con las HT comercial 1, 2, 3, 4, 5 y 6.....	<b>74</b>
<b>IV.2</b>	Esquema del proceso de molienda de arveja.....	<b>78</b>
<b>IV.3</b>	Gráfica de contorno para volumen específico en pan de molde.....	<b>87</b>
<b>IV.4</b>	Gráfica “ <i>trace</i> ” para volumen específico en pan de molde.....	<b>87</b>
<b>IV.5</b>	Gráfica mezcla dos componentes para volumen específico en pan de molde: <b>a)</b> HS-WPC, <b>b)</b> HT-WPC y <b>c)</b> WPC- HA.....	<b>88</b>
<b>IV.6</b>	Gráfica de contorno para puntaje total en pan de molde.....	<b>89</b>
<b>IV.7</b>	Gráfica mezcla dos componentes para puntaje total en pan de molde: HS-WPC.....	<b>90</b>
<b>IV.8</b>	Gráfica de contorno para proteína en pan de molde.....	<b>90</b>
<b>IV.9</b>	Superficie de respuesta para nivel de LD en pan de molde.....	<b>99</b>
<b>IV.10</b>	Índice de peróxidos en <i>cookies</i> durante el almacenamiento.....	<b>107</b>
<b>IV.11</b>	Gráfica de contorno para puntaje total en <i>cookies</i> .....	<b>113</b>
<b>IV.12</b>	Gráfica mezcla dos componentes para puntaje total en <i>cookies</i> : WPC-HA.	<b>113</b>
<b>IV.13</b>	Gráficas de contorno para proteína en <i>cookies</i> .....	<b>114</b>

---

<b>IV.14</b>	<i>Cookies</i> a diferentes tiempos y temperaturas de horneado. <b>a)</b> 23 % de agua, <b>b)</b> 26 % de agua, <b>c)</b> 29 % de agua.....	<b>118</b>
<b>IV.15</b>	Perfil experimental de los parámetros de color $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $C_{ab}^*$ y $h_{ab}^*$ en <i>cookies</i> .....	<b>121</b>
<b>IV.16</b>	Superficie de respuesta para nivel de LD en <i>cookies</i> .....	<b>127</b>
<b>IV.17</b>	Cromatogramas obtenidos del análisis de pan de molde Testigo y Optimo por HPLC.....	<b>140</b>
<b>IV.18</b>	Cromatogramas obtenidos del análisis de <i>Cookie</i> Testigo y Optima por HPLC.....	<b>141</b>
<b>IV.19</b>	Calidad proteica: PT y PO.....	<b>146</b>
<b>IV.20</b>	Calidad proteica: CT y CO.....	<b>146</b>
<b>IV.21</b>	Evaluación sensorial en PO realizada por evaluadores expertos.....	<b>147</b>
<b>IV.22</b>	Distribución por sexo y edad de los consumidores.....	<b>148</b>
<b>IV.23</b>	Frecuencia de aceptabilidad sensorial del PO.....	<b>149</b>
<b>IV.24</b>	Puntajes promedio del grado de gusto del PO por franja etaria.....	<b>149</b>
<b>IV.25</b>	Evaluación sensorial en las CO realizada por evaluadores expertos.....	<b>150</b>
<b>IV.26</b>	Distribución por sexo y edad de los consumidores.....	<b>151</b>
<b>IV.27</b>	Frecuencia de aceptabilidad sensorial en <i>cookies</i> .....	<b>151</b>
<b>IV.28</b>	Puntajes promedio del grado de gusto de <i>cookies</i> por franja etaria.....	<b>152</b>
<b>IV.29</b>	Porcentaje de lisina cubiertos: <b>a)</b> por porción de PT y PO en adultos. <b>b)</b> por porción de CT y CO en niños de aproximadamente 10 años de edad...	<b>154</b>

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>a*</b>	Componente cromático (amarillo)
<b>AA</b>	Aminoácido
<b>AAe</b>	Aminoácidos esenciales
<b>AF</b>	Alimentos fortificados
<b>AIS</b>	Alimentos de interés social
<b>Ala</b>	Alanina
<b>AR</b>	Almidón resistente
<b>Arg</b>	Arginina
<b>Asp</b>	Ácido aspártico
<b>B</b>	Bueno
<b>b*</b>	Componente cromático (rojo)
<b>BI</b>	Índice de amarronamiento
<b>CAA</b>	Código Alimentario Argentino
<b>C<sub>ab</sub>*</b>	Componente cromático (croma)
<b>CH</b>	Hidratos de carbono
<b>Cis</b>	Cisteína
<b>CO</b>	<i>Cookie</i> optima
<b>CT</b>	<i>Cookie</i> testigo
<b>%DP</b>	Digestibilidad proteica
<b>E</b>	Excelente
<b>ENNyS</b>	Encuesta Nacional de Nutrición y Salud
<b>FAO</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
<b>FDA</b>	Administración de Medicamentos y Alimentos
<b>FD</b>	Fibra dietética
<b>Fen</b>	Fenilalanina
<b>Gli</b>	Glicina
<b>Glu</b>	Ácido glutámico
<b>HA</b>	Harina de arveja
<b>h<sub>ab</sub>*</b>	Componente cromático (tono)
<b>His</b>	Histidina
<b>HS</b>	Harina de soja

---

<b>HT</b>	Harina de trigo
<b>IDR</b>	Ingesta diaria recomendada
<b>Ile</b>	Isoleucina
<b>IP</b>	Índice de peróxidos
<b>L*</b>	Componente cromático (luminosidad)
<b>LD</b>	Lisina disponible
<b>Leu</b>	Leucina
<b>Lis</b>	Lisina
<b>LT</b>	Lisina Total
<b>MB</b>	Muy bueno
<b>Met</b>	Metionina
<b>MPE</b>	Malnutrición proteico-energética
<b>NNP</b>	Nitrógeno no proteico
<b>NPV</b>	Nitrógeno de proteína verdadera
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PDCAAS</b>	Digestibilidad de una proteína corregida para el contenido de aminoácidos
<b>PER</b>	Relación de eficacia proteica
<b>Pro</b>	Prolina
<b>PO</b>	Pan de molde optimo
<b>PT</b>	Pan de molde testigo
<b>R</b>	Regular
<b>Ser</b>	Serina
<b>SQ</b>	<i>Score</i> químico
<b>Tir</b>	Tirosina
<b>T<sub>op</sub></b>	Tiempo óptimo
<b>Tre</b>	Treonina
<b>Tri</b>	Triptofano
<b>UB</b>	Unidades Brabender
<b>Val</b>	Valina
<b>VDR</b>	Valor diario de referencia
<b>VB</b>	Valor biológico
<b>WPC</b>	Concentrado de proteínas del lactosuero

---

---

## RESUMEN

El objetivo general de esta propuesta fue desarrollar pan de molde y *cookies*, incorporando proteínas de alto valor biológico, que presenten aceptables características físicas y sensoriales con mejoramiento de la calidad nutricional.

En una primera etapa, se evaluaron las harinas de trigo (HT) comerciales en relación a su composición, comportamiento reológico y respuesta panadera, con el propósito de seleccionar para la formulación de pan de molde, una HT capaz de tolerar una sustitución parcial, sin generar un deterioro significativo en la calidad final del producto. Además se analizaron las características de composición y el comportamiento reológico de los ingredientes proteicos utilizados: harina de soja (HS), harina de arveja (HA) y concentrado de proteínas del lactosuero (WPC). Estos ingredientes afectaron ligeramente parámetros farinográficos como estabilidad y ablandamiento, además la absorción de agua aumentó con el agregado de HS y HA, y disminuyó con el agregado de WPC.

En una segunda etapa, se elaboraron panes de molde y *cookies* con sustitución de 5, 10, 15 y 20 % de cada uno de los ingredientes proteicos (expresado como porcentaje de sustitución de HT), para establecer los niveles de reemplazo máximos a utilizar en la combinación de ingredientes proteicos, teniendo en cuenta los atributos sensoriales del producto obtenido. Con esta información se aplicaron diseños experimentales de mezcla para evaluar los productos al utilizar en forma combinada los ingredientes proteicos. A partir del proceso de optimización de las respuesta y en busca de una solución de compromiso entre calidad sensorial y valor nutricional (expresado como aporte proteico) se obtuvieron las formulaciones óptimas para pan de molde (HT: 88,8 %, HS: 8,2 %, HA: 0 % y WPC 3 %) y *cookies* (HT: 75 %, HS: 19 %, HA: 3 % y WPC: 3 %). Sobre estas formulaciones se evaluaron las variables de proceso: temperatura y tiempo de horneado y nivel de agua agregado a la formulación. Las condiciones de procesamiento óptimas, que permitieron generar un pan de molde con desarrollo de color aceptable y máximo contenido de lisina disponible (LD), correspondieron a una temperatura de 160°C y un tiempo de horneado de 28 minutos. En el caso de las *cookies*, las condiciones de procesamiento que maximizaron los niveles de LD fueron 29 % de agua en la formulación y temperatura de horneado de 250°C con un tiempo de cocción de 4,5 minutos.

Finalmente, las formulaciones de pan de molde y *cookies* descriptas anteriormente y con las condiciones de procesamiento citadas, fueron determinadas en sus características

---

químicas, físicas y se evaluó la composición proteica a través del perfil de aminoácidos, digestibilidad proteica *in vitro* y determinación de los niveles de LD. La utilización de HS, HA y WPC permitió desarrollar formulaciones de pan de molde y *cookies* con mejores características nutricionales sin perjudicar la calidad organoléptica de los productos. Las mezclas optimizadas resultaron fuentes de proteínas, permitieron un aumento en el contenido de fibra dietética, con una mejora en el aporte de calcio. En caso de las *cookies* también aumentó el aporte de hierro. En cuanto a la calidad proteica, las muestras optimizadas presentaron muy buena digestibilidad y mayores niveles de lisina total, LD, *score* químico y digestibilidad proteica corregida por el contenido de aminoácidos (PDCAAS), respecto a las formulaciones elaboradas con 100 % de HT (testigos).

Por otra parte, los resultados del análisis sensorial a partir de la evaluación realizada con consumidores sugieren que la mezcla de ingredientes incorporados resultó exitosa, al no perjudicar características generales de los productos desarrollados.

## ***I. INTRODUCCIÓN***

---

La malnutrición está ampliamente distribuida en todo el mundo, siendo la Malnutrición Proteico-Energética (MPE) el principal problema nutricional, especialmente en niños de países en vías de desarrollo (Padula y Salceda, 2013).

La MPE es un estado fisiopatológico caracterizado por una insuficiencia nutricional, determinado por un aporte inadecuado de energía y proteínas para satisfacer las necesidades individuales durante un tiempo considerable, en razón de una disminución en la ingesta (malnutrición primaria) o como consecuencia de una patología de base que impide la absorción y/o utilización de nutrientes (malnutrición secundaria) (Padula y Salceda, 2013).

Las poblaciones de menores ingresos son particularmente vulnerables, debido al bajo poder adquisitivo y a que las fuentes convencionales de proteínas son generalmente más costosas y están fuera del alcance de dicho grupo. Por este motivo, se debe enfocar la atención en proteínas de origen vegetal, mejorando la calidad de las mismas, ya que provienen de alimentos fácilmente disponibles y accesibles (Iqbal y col., 2006). En los países desarrollados, los factores genéticos explican en su mayoría los retardos del crecimiento, pero en países en desarrollo la principal influencia corresponde a las deficiencias nutricionales que pueden generar una MPE (Padula y Salceda, 2013).

Desde hace varias décadas el Gobierno Argentino viene implementando, a través de diversos organismos, una diversidad de programas de intervención relacionados con la asistencia alimentaria a grupos vulnerables (Plan Materno Infantil, copa de leche en comedores escolares, asistencia a la tercera edad (programa ASOMA), etc.). El agravamiento de la situación alimentaria de los sectores de menores ingresos de la sociedad, iniciado a partir de los 90' y profundizado luego de la crisis del 2001 (aparición de casos de niños con desnutrición extrema), obligó tanto a las autoridades nacionales y provinciales, como a numerosas organizaciones no gubernamentales, a intensificar los programas de ayuda alimentaria. Estos programas, salvo algunas excepciones, consisten en la distribución de alimentos básicos a los sectores indigentes y en la atención de comedores institucionales. Sin embargo, la utilización de Alimentos de Interés Social (AIS), es decir alimentos de consumo masivo pero con valor nutricional mejorado y de bajo costo, en esos programas, ha sido escasa (Drago y col., 2007).

En este contexto, es importante el desarrollo de alimentos de consumo masivo que contengan buena densidad de nutrientes y sean aceptables desde el punto de vista de sus propiedades organolépticas, para ser empleados como vehículos que permitan mejorar el

estado nutricional de las poblaciones vulnerables.

## **I.1. ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN**

Para mantener la salud y la actividad es necesario consumir una cantidad adecuada de todos los nutrientes, existiendo necesidades adicionales en las épocas de crecimiento, gestación, lactancia y en las situaciones que generan tensión, como por ejemplo las infecciones. Todas las fases de la vida requieren de una adecuación de la dieta a las necesidades propias de cada condición fisiológica. Otro condicionante es la presencia de enfermedades y/o intolerancias o alergias alimentarias, que normalmente suelen restringir la variedad y cantidad de algunos grupos de productos a ingerir. Las cantidades necesarias difieren de unos individuos a otros y dependen, no sólo de los factores fácilmente cuantificables, como la estatura, el peso o el sexo, sino también de la actividad física desarrollada a lo largo del día, la tasa de actividades fisiológicas y el clima (Stipanuk y Caudill, 2013).

La conformación de la dieta está condicionada por la disponibilidad de alimentos, que depende de las condiciones climáticas, edafológicas y de ubicación geográfica de cada región, pero también es consecuencia de razones religiosas, culturales e ideológicas, así como de fenómenos históricos, sociales, económicos y políticos. Las carencias nutricionales han pasado de las prioridades de investigación a las de las políticas públicas y, actualmente, el interés se centra en la relación entre el consumo de alimentos con atributos saludables, su rol en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles y el mantenimiento de una salud acorde al incremento de la longevidad.

Los alimentos están destinados a suministrar estructuras químicas que permiten desarrollar las funciones del organismo y mantener la salud. En consecuencia, la salud y el buen funcionamiento del organismo depende de la dieta que se ingiera durante toda la vida (Stipanuk y Caudill, 2013).

### **I.1.1. Principales compuestos químicos**

#### *I.1.1.a. Proteínas*

Las proteínas ocupan un lugar cuanti y cualitativamente muy importante entre las moléculas constituyentes de los seres vivos. En animales superiores, las proteínas son los

compuestos orgánicos más abundantes, pues representan alrededor del 50 % del peso seco de los tejidos. Desde el punto de vista funcional, su papel es fundamental. No existe proceso biológico alguno que no dependa de la presencia y/o actividad de las proteínas (Blanco, 2006).

La mayor demanda de proteínas corresponde a los niños lactantes y en crecimiento. Dietas suficientes para mantener el balance nitrogenado en los adultos no lo son para los niños. A ello se debe que en los últimos años se hayan desarrollado mezclas ricas en proteínas para la alimentación infantil (Macías y col., 2013; Cerezal Mezquita y col., 2012; Pérez y col., 2008; Alasino y col., 2008; Cerezal Mezquita y col., 2007).

El valor proteico de un alimento corresponde a su capacidad para satisfacer las necesidades del consumidor en nitrógeno y aminoácidos y asegurar así un crecimiento y mantenimiento convenientes. Esto depende del contenido y calidad de las proteínas (Cheftel y col., 1989). La calidad de una proteína alimentaria depende de la naturaleza y cantidades de aminoácidos que contiene. Una proteína de alta calidad posee los Aminoácidos Esenciales (AAe) en proporciones correspondientes a las necesidades humanas.

El Comité de Expertos estableció en 1985, un patrón aminoacídico de referencia que asegura los requerimientos de proteínas para cada grupo etario (FAO/OMS/UNU, 1985). Los preescolares son el grupo de más alta exigencia proteica, por lo que se aconseja utilizar el patrón destinado a este grupo etario para evaluar la calidad de las proteínas de la dieta. De este modo, si el patrón aminoacídico es adecuado al preescolar, también lo será para todos los otros grupos de la población por tener menores requerimientos de aminoácidos.

La calidad de las proteínas también depende de su digestibilidad, que viene determinada por los factores no proteicos, fibra y polifenoles entre otros, y por la secuencia de los aminoácidos dentro de la cadena proteica (Suarez López y col., 2006).

El *Score* Químico (SQ) se expresa como la cantidad (mg) de AAe por gramo de la proteína en estudio, en relación con la cantidad del mismo compuesto en la proteína de referencia, es decir, el patrón aminoacídico establecido para el preescolar. El resultado se expresa de manera porcentual. El valor más bajo es el que corresponde al *score* y el aminoácido que lo produce se denomina “primer limitante”. Si el valor obtenido para cada aminoácido fuese mayor a 100 %, el SQ del alimento se establece en 100. Esto es así debido a que mientras que el SQ se determina sólo para AAes (y por lo general sólo para

aquellos pocos aminoácidos que limitan la calidad de la proteína en la práctica), la demanda metabólica es tanto para AAes como para aminoácidos prescindibles. Debido a esto, cuando cualquiera o todos los AAes están presentes en exceso respecto de las necesidades, la mezcla absorbida es desbalanceada y limitada por los aminoácidos prescindibles. Se supone que estos aminoácidos no esenciales serán suministrados por la oxidación de los AAes excedentes. Si ocurre tal interconversión, entonces todo el nitrógeno absorbido se utilizará de la misma manera que la de una mezcla absorbida que exactamente coincide con la demanda (el patrón de referencia). Sobre esta base, se concluye que no hay ningún beneficio en un  $SQ > 100$ , con la posibilidad teórica de una desventaja si la interconversión fuera incompleta (Millward, 2012).

Valores de SQ superiores a 80 se consideran recomendables (Alviña, 2009).

$$SQ = \frac{\text{mg de aminoácido esencial /g proteína (estudio)}}{\text{mg de aminoácido esencial /g proteína (referencia)}} \times 100$$

Los cereales son deficientes en lisina, por lo que los productos de panificación y galletería, al tener como ingrediente básico algún cereal, presentan valores de SQ inferiores a 100 (Dewettinck y col., 2008; Potter y Hotchkiss, 1999). Esta situación es superada cada vez que se incluyen en la dieta ingredientes de origen animal (carne, huevo, leche) o leguminosas.

Cuando se necesita conocer la utilización de los aminoácidos en el organismo es necesario realizar la corrección del valor de *score* según la digestibilidad proteica (Millward, 2012). El *score* de aminoácidos (basado en el contenido de los aminoácidos limitantes) corregido por la verdadera digestibilidad de la proteína (determinada biológicamente en ratas) es en la actualidad el mejor método de rutina para determinar la calidad de proteínas de origen vegetal y de otros alimentos.

La fórmula adaptada por la FAO/OMS (1991) y por otras organizaciones para calcular la Digestibilidad de una Proteína Corregida para el Contenido de Aminoácidos o PDCAAS de sus siglas en inglés, equivale a:

$$PDCAAS = \frac{\text{mg de aminoácido esencial /g proteína (estudio)}}{\text{mg de aminoácido esencial /g proteína (referencia)}} \times \text{Digestibilidad}$$

El informe de la FAO de 1989 usaba valores de  $SQ > 100$  y asignaba un valor máximo de 100 para la PDCAAS. Esto implicaba que podían obtenerse valores de

PDCAAS superiores a la digestibilidad (de alguna manera compensar la pérdida de nitrógeno total durante la digestión y absorción con un exceso de AAes). Esto es claramente incorrecto si la digestibilidad es el primer limitante. Por ejemplo, un concentrado de soja con valores de digestibilidad de aminoácidos de 95 % y *score* de 1,04, tendrá un PDCAAS de 0,99. Los valores de PDCAAS deben calcularse entonces a partir de un SQ máximo de 100, de modo que el valor PDCAAS para el ejemplo anterior sería de 0,95, es decir, el valor de digestibilidad (Millward, 2012).

#### *1.1.1.b. Hidratos de Carbono*

Los carbohidratos (CH) o hidratos de carbono son moléculas que tienen como función primordial dotar de energía al cuerpo humano, a través de la formación de glucosa. Se consideran dentro del grupo de los nutrientes básicos y siempre han tenido una gran importancia en la alimentación, incluso aquellos no digeribles se consideran de gran interés para una alimentación equilibrada (Mollinedo Patzi y Benavides Calderón, 2014).

Se clasifican en dos grupos:

- CH simples: son los monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos. Azúcares que tienen una absorción rápida y aportan al organismo solamente energía.

- CH complejos: son los polisacáridos. Éstos se absorben de forma lenta, por lo tanto el tiempo de digestión es más prolongado y se comportan como energía de reserva. Existen varios tipos de polisacáridos siendo el almidón el de mayor interés en nutrición humana (Mollinedo Patzi y Benavides Calderón, 2014).

Los cereales constituyen una importante fuente de CH complejos. Las legumbres son ricas en CH complejos de absorción lenta y fibras, por lo que la glucosa pasa a la sangre de forma progresiva evitando así un sobreesfuerzo del páncreas en la secreción de insulina (Aumiller y col., 2015).

Hace algunos años, se pensaba que prácticamente todo el almidón que se consumía era digerido y absorbido en el intestino delgado (Goodhart y Shils, 1980). Hoy en día se ha comprobado que aproximadamente entre el 8 y 10 % del almidón contenido en la dieta, resiste el ataque enzimático de las secreciones intestinales. Este almidón se conoce actualmente como Almidón Resistente (AR). Los ARs son incluidos en la definición de la fibra dietaria bajo el nombre de carbohidratos análogos. Esta fracción resistente se define fisiológicamente como la suma de almidón y productos de la degradación del almidón no absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (Westenbrink y col., 2013). El AR,

está siendo estudiado por considerarse como un componente de la fibra dietética que posee las bondades fisiológicas que a ésta se le atribuyen (Westenbrink y col., 2013; Fuentes Zaragoza y col., 2011; Fuentes Zaragoza y col., 2010; Homayouni y col., 2008; Sharma y col., 2008).

#### *1.1.1.c. Fibra*

El debate sobre la definición de fibra dietética (FD) se finalizó en 2008/2009. La Comisión del *Codex Alimentarius* define la FD de la siguiente manera (Codex, 2009): “Se entiende por fibra dietética, los polímeros de CH con diez o más unidades monoméricas, que no son hidrolizados por las enzimas endógenas en el intestino delgado de los seres humanos y pertenecen a una de las siguientes categorías:

- Polímeros de CH presentes en forma natural en los alimentos.
- Polímeros de CH, los cuales han sido obtenidos a partir de materias primas alimentarias por medios físicos, enzimáticos o químicos y que se ha demostrado tienen un efecto fisiológico beneficioso para la salud.
- Polímeros de CH sintéticos que se ha demostrado que tienen un efecto fisiológico beneficioso para la salud”.

La Comisión Europea adoptó esta definición e incluye además a los polímeros con tres o más unidades monoméricas (European Commission, 2008).

En nuestro país, el Código Alimentario Argentino (CAA) define la fibra alimentaria como “cualquier material comestible que no sea hidrolizado por las enzimas endógenas del tracto digestivo humano”, e incluye polisacáridos no almidón, pectinas, almidón resistente, inulina, oligofruktosa, polidextrosa, maltodextrinas resistentes, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, transgalactooligosacáridos, y todos los que en el futuro incorpore la Autoridad Sanitaria Nacional (CAA, cap. XVII).

En las últimas décadas los conocimientos sobre la FD han incrementado considerablemente. Los beneficios para la salud se asocian a la mejora en la función intestinal, reducción del riesgo de enfermedades coronarias, diabetes tipo 2 y a la mejora en el mantenimiento de peso (Hauner y col., 2012; EFSA, 2010). Cabe destacar que no todos los tipos de fibra ejercen los efectos fisiológicos con la misma intensidad. Las fibras solubles suelen tener mayor impacto sobre el vaciamiento gástrico, el tiempo de tránsito por el intestino delgado, la producción de ácidos grasos de cadena corta en la parte proximal del colon, la masa microbiana y la estimulación de la proliferación del epitelio

colónico. En cambio, la fibra más insoluble ejerce su efecto máximo sobre el volumen fecal, el mantenimiento de la capa muscular del colon, la prevención de la translocación bacteriana y la producción de ácidos grasos de cadena corta en el colon distal (Green, 2001).

Por otro lado, dietas con alto contenido de FD total reducen la digestibilidad de las proteínas (Falcón y col., 2011; Wong y Cheung, 2003) y aumentan la excreción de nitrógeno fecal en humanos y animales de laboratorio (Mariotti y col., 2001; Frias y Sgarbieri, 1998). Hurrell y Egli (2010) han observado una disminución en la bioaccesibilidad de algunos minerales como el calcio, hierro, cobre y zinc cuando se consumen dietas ricas en fibra.

Diferentes organizaciones internacionales han elaborado recomendaciones nutricionales para FD. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda una ingestión diaria de 27 a 40 gramos de FD mientras que la *Food and Drugs Administration* (FDA) propone a individuos adultos un consumo de 25 gramos de fibra por día cada 2000 kcal. Por otra parte el *National Cancer Institute* (NCI, EEUU) considera un consumo óptimo entre 20-30 g/día para la prevención de cáncer de colon, sugiriendo no excederse de los 35 g/día (Olagnero y col., 2007). El valor diario de referencia establecido por el CAA para el consumo de FD es de 25 g (CAA, cap. V). Sin embargo, según la primera Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNyS), el 97,2 % de la población argentina presenta un consumo menor a la ingesta adecuada (mediana de ingesta: 9,39 g) (ENNyS, 2007). En la actualidad, se está llevando a cabo una segunda encuesta comparable con la anterior, para poder detectar cambios epidemiológicos en la población y facilitar la reorientación de las intervenciones de las políticas sociales en nutrición y salud, no obstante, los resultados aún no están disponibles.

Los productos de panificación y horneados en general representan una buena alternativa para elaborar alimentos ricos en fibras. Los consumidores saben reconocer un producto de panificación alto en fibra y el término “integral” ya está incorporado en el lenguaje cotidiano. Sin embargo, hay muchas alternativas poco exploradas en este vasto ámbito de alimentos, en los que es posible considerar la incorporación de numerosas variedades de harinas de distintos cereales con grados de extracción variables, así como también otros ingredientes tales como harinas de leguminosas.

### **I.1.2. Alimentos de interés social**

Una de las herramientas utilizadas para combatir los efectos de la malnutrición en niños ha sido el desarrollo de alimentos de consumo masivo con propiedades nutricionales mejoradas mediante el agregado de ingredientes de alto valor nutricional (Pérez y col., 2008).

Al formular Alimentos de Interés Social (AIS) se deben considerar dos aspectos básicos, por un lado la optimización del valor nutricional y por otro, la utilización de tecnologías apropiadas para asegurar el bajo costo. Tanto el contenido y la calidad proteica como la biodisponibilidad de nutrientes son importantes. La mejora de la calidad proteica implica la utilización de fuentes de proteínas disponibles y de bajo costo. Los AIS deben asegurar también un adecuado aporte de nutrientes esenciales, con el fin de lograr un buen estado nutricional (Drago y col., 2007).

Entre los alimentos cuya composición es modificada para otorgarles un atributo de beneficio saludable se encuentran los alimentos enriquecidos y los alimentos fortificados (AF). La fortificación de alimentos para el consumo masivo es una importante estrategia para mejorar la situación nutricional de las poblaciones.

El CAA entiende por AFs aquellos alimentos en los cuales la proporción de proteínas y/o aminoácidos y/o vitaminas y/o sustancias minerales y/o ácidos grasos esenciales es superior a la del contenido natural medio del alimento corriente, por haber sido suplementado significativamente (CAA, Cap. XVII).

Entre los productos de panificación, destacan las galletitas dulces, que debido a sus características de vida de anaquel (baja actividad de agua, por lo que resultan menos susceptible a crecimiento microbiano), su bajo costo y formulación, pueden ser enriquecidas al adicionar otras proteínas, como concentrados o aislados proteicos de diversas leguminosas (Guemes Vera y col., 2009).

Las condiciones a tener en cuenta para programas exitosos de fortificación y enriquecimiento incluyen el consumo generalizado y regular del vehículo alimentario, alta biodisponibilidad del nutriente agregado, bajo costo del nutriente y del vehículo fortificado, centralización del proceso, características organolépticas que aseguren aceptabilidad, estabilidad del producto durante el almacenamiento y cocción, ningún riesgo de toxicidad, y un control adecuado durante el proceso, distribución, mercadeo y consumo del alimento o vehículo fortificado (Torún, 1988).

Las legumbres son muy atractivas desde el punto de vista nutricional y comercial, pero tradicionalmente han estado desprestigiadas por ser consideradas alimento de pobres, estar pasadas de moda o necesitar mucho tiempo de preparación (Schneider, 2002). Además, se las ha caracterizado como poseedoras de sustancias antinutritivas (por ejemplo Inhibidor de Tripsina) que pueden dificultar la absorción de algunos nutrientes. Un aporte a su consumo es el desarrollo de nuevos alimentos elaborados con legumbres, y en tal sentido el enriquecimiento de productos de panadería constituye un ejemplo. Con ellos se conseguiría aumentar el aporte nutricional para gran parte de la población, ya que son ampliamente aceptados y consumidos. Por otro lado, durante las etapas de elaboración, como el remojo o la cocción, gran parte de las sustancias antinutritivas se eliminan, desapareciendo los problemas que pudieran ocasionar. Por tanto, la elaboración de estos productos enriquecidos con legumbres permitiría mejorar las características nutricionales a bajo precio.

## I.2. TRIGO

### I.2.1. Aspectos generales

Se designa con el nombre de trigo a especies del género *Triticum*, de la familia de las gramíneas (Calvel, 1983). El trigo es el segundo cereal más consumido del mundo, le sigue al maíz. De su procesamiento surgen dos ramas de productos, los denominados de primera industrialización, entre los que se encuentra la harina, y los de segunda industrialización, tales como los panificados, las galletitas y las pastas (Lezcano, 2010).

Las diversas formas del género *Triticum* se agrupan de la siguiente manera (Pomeranz, 1988): T. Monococcum (Eikorn), T. Diccoccum (Emmer), T. Durum (Durum), T. Polonicum (Polaco), T. Turgidum (Poulard), T. Vulgare (Pan), T. Spelta (Spelta) y T. Compactum (Club). Se cultivan unas diez especies del género *Triticum*, pero sólo dos de éstas presentan interés desde el punto de vista comercial: el *Triticum Vulgare* y el *Triticum Durum*. El *Triticum Vulgare* se muele con el fin de producir una harina que se emplea para la elaboración de pan, tortas, galletas o productos similares. El *Triticum Durum*, una vez molido, se emplea para la producción de pastas alimenticias (Quaglia, 1991).

El grano de trigo, como todos los cereales, está compuesto por: el pericarpio, el endospermo y el germen o embrión. El pericarpio está formado por las capas más externas del grano y sus células tienen un alto contenido de celulosa y hemicelulosa. El

endospermo, está constituido por dos partes, capa aleurona y endospermo harinoso, cuyas células almacenan proteínas de reserva y energía en forma de almidón. Por último, el germen situado en la base de la semilla, es rico en grasas no saturadas, razón por la cual es eliminado de la harina con el fin de evitar el enranciamiento (Hoseney, 1994).

### **I.2.2. Utilización**

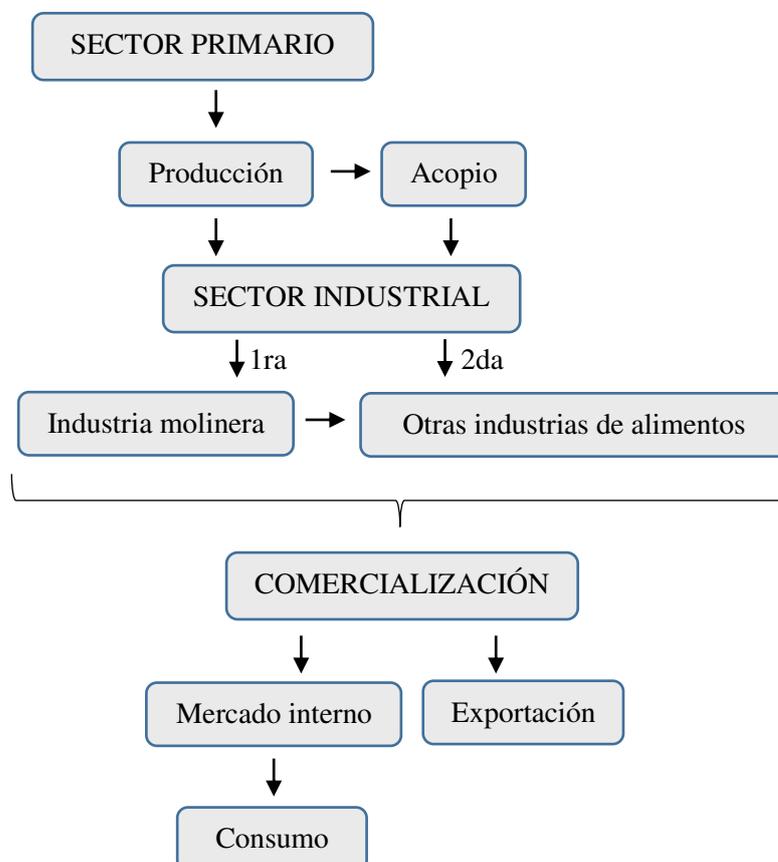
En nuestro país la cadena de trigo comienza con una gran cantidad de productores agropecuarios que cultivan el cereal a lo largo de la pampa argentina durante el invierno. La producción se encuentra altamente concentrada en la provincia de Buenos Aires y le siguen las provincias de Córdoba y Santa Fe.

El segundo eslabón en la cadena, corresponde al sector industrial que está formado por dos grandes actores, el sector de la primera transformación, que son los molinos harineros y las industrias de segunda transformación, conformadas por las panaderías, las fábricas de pastas y las fábricas de galletitas y bizcochos (Barberis, 2014). En la Figura I.1 se presenta en forma esquemática la utilización del grano de trigo en nuestro país.

Desde fines de los '90 hasta el año 2006 el 34 % de la producción de la primera transformación se destinaba al mercado interno y el 66 % restante se exportaba al mundo. En ese período los molinos harineros locales procesaban en promedio 4,8 millones de toneladas anuales. La exportación, por su parte, copiaba los vaivenes de la producción, creciendo en los años de buena cosecha y contrayéndose en los ciclos adversos (Barberis, 2014). A partir del año 2007 comienzan a observarse algunos cambios importantes en el mercado. Por un lado, la producción y las exportaciones se reducen en forma abrupta en dos campañas sucesivas (2008/09 y 2009/10) y por otro lado, aumenta el trigo destinado al mercado interno. Así, la molienda supera las 5 millones de toneladas en 2007 y las 6 millones de toneladas a partir de 2008 (IERAL, 2011a). Este número se mantiene hasta 2012 y desciende al año siguiente por debajo de los 5 millones de toneladas debido a una reducción en la superficie sembrada y menores rendimientos (Barberis, 2014).

Dentro del eslabón de segunda transformación se destaca por su importancia la industria de la panificación, la cual absorbe el 73 % de la harina destinada al mercado interno. Esta actividad abarca la panificación artesanal y la industrial, siendo la primera la más significativa, aunque una investigación de mercado llevada a cabo por *Euromonitor International* indica que la demanda de pan industrial crece con mayor rapidez que la del pan tradicional de panadería debido al creciente número de consumidores que carecen de

tiempo para comprar pan fresco diariamente. La industria de pastas consume el 10 % (2 % las pastas frescas y 8 % las pastas secas), la de galletitas y bizcochos el 7 %, y el consumidor final el 10 % restante en forma de harina fraccionada (IERAL, 2011a).



**Figura I.1.** Esquema de utilización del grano de trigo

Durante el año 2013, el consumo de harina de trigo per-cápita en Argentina fue de 84,4 kg/año, respetándose como en años anteriores el patrón del mayor consumo entre los meses de marzo y agosto. El consumo de pan se estimó en 70,6 kg/hab/año para el pan tradicional de panadería y en 4,6 kg/hab/año para el pan industrial (pan de molde y bollería), mientras que el consumo de galletitas y bizcochos en este mismo periodo, creció un 2,4 % respecto al periodo 2012, alcanzando en promedio los 10,2 kg/hab/año.

Argentina está posicionada como uno de los principales países consumidores de productos panificados elaborados con harina de trigo (Lezcano, 2013).

### I.2.3. Composición química

El contenido de agua puede ser de 8 % en granos de trigos obtenidos en zonas o climas secos y de 17-18 % en granos producidos en zonas de clima particularmente húmedos. La humedad representa un índice comercial muy importante, ya que influye en el peso específico del grano y aun cuando no afecta el rendimiento molinero, influye en la conservación de la harina durante el almacenamiento y en sus características tecnológicas (Alasino y col., 2008).

El 72 % del peso del grano de trigo está constituido por CH, de los cuales 60-68 % es almidón, 6,5 % pentosanos, 2-2,5 % celulosa y 1,5 % azúcares reductores. El almidón es una mezcla de dos polisacáridos muy similares, amilosa y amilopectina, presentes en el almidón de los cereales en proporciones de 25 % y 75 % respectivamente (Quaglia, 1991).

Las proteínas son uno de los componentes de mayor importancia en el grano de trigo. Su contenido varía entre un 8 % y un 17 %, dependiendo de la genética y de factores ambientales (Peña, 2002). La relación entre el endospermo, el pericarpio y la capa de aleurona influye en la concentración de proteínas en el cereal. Un aumento en el llenado del grano mediado por factores ambientales (disponibilidad de agua, temperatura, intensidad lumínica) aumenta el contenido de almidón y altera esta relación, por lo que los niveles de proteínas disminuyen (Skovmand y col., 1984).

Dada la importancia del gluten, la clasificación de las proteínas del trigo, se realiza según sean proteínas formadoras o no formadoras de esta masa viscoelástica (Peña, 2002).

Las proteínas que no forman gluten representan entre un 15-20 % del total de las proteínas del trigo, son solubles en soluciones salinas diluidas y corresponden a las albúminas y globulinas. Son proteínas monoméricas, metabólicamente activas y/o estructurales que se ubican en las capas más externas del grano de trigo, no siendo clara su función en la panificación (Delcour y col., 2012).

Las proteínas formadoras de gluten se denominan también proteínas de reserva (Kasarda y col., 1976), representan entre un 80-85 % del total de las proteínas del trigo y sirven como fuente de nitrógeno durante la germinación de la semilla (Larroque y col., 2000). Estas proteínas pueden absorber prácticamente dos veces su peso en agua y constituir una red deformable, elástica y extensible capaz de retener CO<sub>2</sub> durante la fermentación y posterior cocción (Lee y col., 2001). Se encuentran en el endospermo del grano de trigo maduro donde forman una matriz continua alrededor de los gránulos de

almidón. Las proteínas del gluten son insolubles en agua o en soluciones salinas diluidas y pueden ser divididas en dos grupos de acuerdo a su funcionalidad: las gliadinas monoméricas y las gluteninas poliméricas (extraíbles o no extraíbles). La composición de aminoácidos de las gliadinas y de las gluteninas es similar, se caracterizan por tener altas concentraciones de glutamina (un tercio o más del residuo total de aminoácidos) y de prolina (una séptima parte o más del residuo total de aminoácidos). Se considera en general que las gliadinas son las responsables de la viscosidad del gluten, mientras que las gluteninas son las encargadas de conferirle fuerza y elasticidad (Delcour y col., 2012).

Los lípidos representan un pequeño porcentaje de la composición química del trigo (1,5-2 %) y están localizados principalmente en el germen. Los componentes lipídicos más importantes son los glicéridos, los fosfolípidos y los esteroides; el germen es particularmente rico en tocoferol que toma comúnmente el nombre de vitamina E. En la composición en ácidos grasos de los glicéridos y de los fosfolípidos, sobresalen los ácidos grasos insaturados, como el ácido oleico y el linoleico (Alasino y col., 2008).

Al igual que en el caso de las proteínas, el contenido de sales minerales en el grano de trigo aumenta del centro del grano a su periferia, por lo que las harinas con mayor contenido de salvado tendrán superiores cantidades de sales inorgánicas. Entre los elementos inorgánicos sobresalen el fósforo, potasio, magnesio, calcio, azufre, hierro y galio (Mahecha, 2009).

### **I.2.4. Aspectos nutricionales**

Los cereales desempeñan un papel predominante en el aporte de nutrimentos a la población. De hecho, en el mundo entero los cereales constituyen la principal fuente de energía y son, por ende, la base de la alimentación. En Argentina el consumo de harina de trigo es alto, especialmente entre los sectores de bajos ingresos, siendo los productos de panificación como panes, galletas, bizcochos las principales formas de consumo, proporcionando un alto porcentaje de calorías a la población (Gómez Pallares y col., 2007).

Si se analiza cualquier pirámide nutricional se puede observar que la base está compuesta por productos ricos en CH complejos, como el almidón. Los cereales son una buena fuente de CH de lenta asimilación, una fuente importante, aunque incompleta, de proteínas y apenas contienen grasa. Además, los cereales aportan fibra, vitaminas y sales

minerales. Sin embargo, aunque aporta energía y otros nutrientes, el trigo es pobre desde el punto de vista nutricional. Sus proteínas presentan un bajo valor biológico atribuible a una deficiencia en aminoácidos esenciales como lisina y treonina. Para mejorar la calidad proteica de la dieta se puede recurrir a la combinación de cereales y leguminosas, ya que ambas proteínas se complementan. El perfil aminoacídico también puede mejorar con la ingesta de proteínas más completas, como las de la leche. Además de las proteínas, este tipo de materias primas aporta minerales intrínsecos (Visentín y col., 2009).

Ciertos componentes del trigo se concentran en el salvado y el germen, por lo que las harinas blancas contienen una proporción menor de estos componentes que las harinas integrales. Esto se verifica principalmente con las vitaminas, las sales minerales, la fibra y ciertas sustancias antioxidantes. En algunos países es habitual enriquecer las harinas blancas para compensar las pérdidas sufridas al eliminar el salvado y el germen (Gómez Pallares y col., 2007). En Argentina, la harina de trigo ha sido elegida como vehículo alimentario para el enriquecimiento con hierro (sulfato ferroso) y vitaminas tales como tiamina, riboflavina, niacina y ácido fólico (Ley 25630, Argentina, 2002).

### **I.2.5. Harina de trigo**

De acuerdo al CAA: "Con la denominación de Harina, sin otro calificativo, se entiende el producto obtenido de la molienda del endospermo del grano de trigo que responda a las exigencias de éste. Las harinas tipificadas comercialmente con los calificativos: cuatro ceros (0000), tres ceros (000), dos ceros (00), cero (0), medio cero (medio 0), harinilla de primera y harinilla segunda, corresponderán a los productos que se obtienen de la molienda gradual y metódica del endospermo en cantidad de 70-80 % del grano limpio".

Las harinas tipificadas comercialmente según se mencionó arriba deberán responder a las características que se muestran en la Tabla I.1 (CAA, Cap. IX).

La composición química de la harina de trigo (HT) respecto del grano varía durante el proceso de molienda y la modificación más importante que se produce es la disminución del contenido proteico y el aumento en la concentración del almidón (Hoseney, 1994).

**Tabla I.1.** Características de los distintos tipos de harinas obtenidas por molienda

Harina tipo	Humedad	Cenizas	Absorción	Volumen pan
	(g/100g)	(g/100g)	(mL/100g)	(cm <sup>3</sup> /100g)
	Máximo	Máximo		Mínimo
0000	15,0	0,492	56-62	550
000	15,0	0,650	57-63	520
00	14,7	0,678	58-65	500
0	14,7	0,873	60-67	475
½ 0	14,5	1,000	-	350

En la Tabla I.2 se muestra la composición química promedio de la HT (Gómez Pallares y col., 2007).

**Tabla I.2.** Composición química promedio de harina de trigo

Componente	Composición (g/100g)
Humedad	13,4
Proteínas (N x 5,75)	12,0
Carbohidratos	72,5
Grasa	1,7

Cultivares de trigo sembrados en una variada gama de ambientes hace que se obtengan harinas de distinta calidad debido a la interacción genotipo-ambiente. Esto tiene como consecuencia que, para poder ofrecer una calidad consistente a través del tiempo, las harinas comerciales provengan de mezclas de dos o más variedades de trigo de distintas características (Kamal y col., 2009). Lo cual permite al molinero ofrecer un producto de calidad relativamente constante, pero también contribuye a enmascarar la calidad de los trigos y su potencial tecnológico.

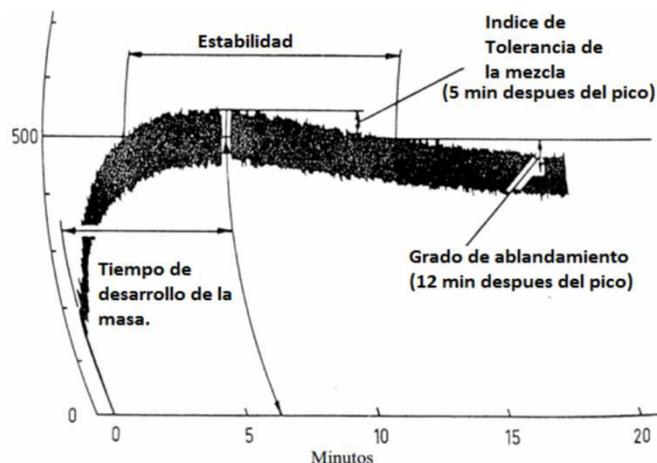
#### *1.2.5.a. Caracterización físicoquímica y reológica de harinas*

La caracterización físicoquímica y reológica de las harinas y la elaboración de un producto panificado a partir de éstas es la forma ideal de establecer su calidad (Osella y col., 2008). Se utilizan diversos ensayos físicoquímicos como la determinación de porcentaje de proteína, gluten y cenizas. También se evalúa la capacidad de retención de solventes y la actividad enzimática por el método de *Falling Number* (de la Horra y col.,

2012).

Entre los ensayos reológicos tradicionales más utilizados se pueden mencionar las medidas farinográficas y alveográficas.

De acuerdo a Pantanelli (2009), el farinógrafo mide la consistencia de la masa mediante la fuerza necesaria para mezclarla a una velocidad constante y la absorción del agua para alcanzar dicha consistencia. El farinógrafo genera una curva que reproduce en forma visual el conjunto de características de calidad de la harina, va aumentando hasta un máximo de consistencia a medida que las proteínas de la harina van formando el gluten y luego la curva descende al perder resistencia por el amasado continuo. Los parámetros que normalmente se determinan con el análisis farinográfico pueden observarse en la Figura I.2 y son los que se detallan a continuación: a) absorción de agua, b) tiempo de desarrollo de la masa, c) estabilidad y d) grado de ablandamiento.



**Figura I.2.** Farinograma representativo de una harina de trigo

a) Absorción del agua: representa la cantidad de agua requerida para centrar la curva del farinógrafo en la línea de 500 unidades. Este dato orienta al fabricante acerca de la cantidad de agua que debe incorporar para lograr la consistencia óptima de la masa. La absorción se expresa como porcentaje (g agua/100g harina).

b) Tiempo de desarrollo de la masa: es el tiempo necesario para alcanzar la máxima consistencia. Este parámetro da un indicio del tiempo óptimo de mezclado bajo condiciones estandarizadas. Se expresa en minutos.

c) Estabilidad: es el intervalo de tiempo durante el cual la masa mantiene la máxima consistencia y se mide por el tiempo que la curva se encuentra por encima de 500 unidades

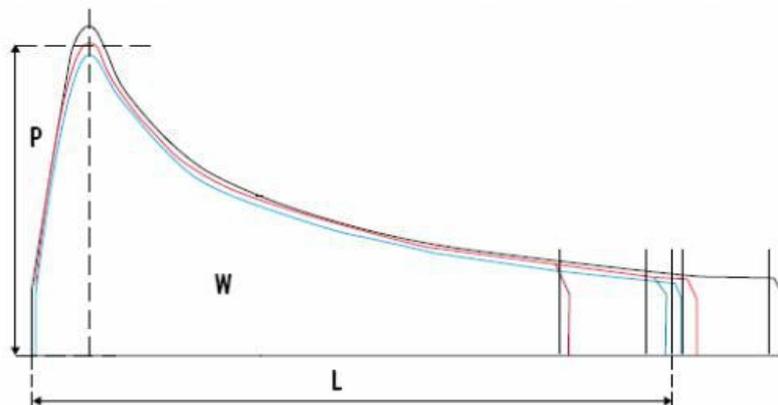
farinográficas. Se expresa en minutos.

d) Grado de ablandamiento: representa la diferencia entre el centro de la curva a la máxima consistencia y el centro de la curva 20 minutos después de alcanzado este punto. Indica el grado de ablandamiento durante el mezclado. Se expresa en unidades farinográficas.

El ensayo alveográfico por otro lado, se utiliza para estimar la calidad de trigos y harinas destinadas a todos los tipos de panificación. Sirve para el control del proceso de molienda, selección de mezclas de trigo para la producción de harinas y verificación de la acción de aditivos autorizados en el comportamiento de la harina.

El principio del funcionamiento del alveógrafo se basa en la extensión tridimensional de un disco de masa que bajo la acción de una presión de aire se infla y toma la forma de una burbuja. Se mide la presión en el interior de la burbuja hasta que ésta explota. Los cambios de presión se traducen en un gráfico de tenacidad versus extensibilidad de la masa. De modo que el equipo está diseñado para medir la resistencia a la expansión y la extensibilidad de la masa durante el ensayo (Quaglia, 1991).

Del alveograma se obtienen los parámetros que se muestran en la Figura I.3.



**Figura I.3.** Alveograma representativo de una harina de trigo

a) Tenacidad (P): presión correspondiente a la resistencia máxima de la masa a la deformación. Depende de la consistencia, de la tenacidad de la masa y del potencial de hidratación de la harina. Es indicada por la altura máxima de la curva y se expresa en milímetros.

b) Extensibilidad (L): extensibilidad que alcanza la masa antes de su ruptura. Está dada

por el largo de la curva y se expresa en milímetros.

c) Trabajo de deformación (W): representa la fuerza de una harina o su valor panadero. Es el área bajo la curva y se expresa en Joule x  $10^{-4}$ .

d) P/L: es el balance entre la tenacidad de la masa y su extensibilidad.

Cabe destacar que si bien los ensayos predictivos pueden brindar una idea acerca del comportamiento panadero y calidad de la harina, la forma idónea de establecer la calidad de una harina para elaborar un determinado producto de panificación es elaborar dicho producto (Alvis y col., 2011; Osella y col., 2006; Rubio y col., 2005). Sin embargo, en muchas ocasiones esto no es posible ya que es necesario tener esta información de manera rápida o no se cuenta con la suficiente cantidad de muestra, haciéndose necesario utilizar las pruebas predictivas que correlacionen con la aptitud de las harinas para elaborar los diferentes productos.

### **I.3. SOJA**

#### **I.3.1. Aspectos generales**

La soja o soya *Glycine max* (L.) es un miembro importante de la familia de las leguminosas y desempeña un papel primordial en la nutrición saludable, ya que representa una fuente muy importante de proteínas para el hombre y los animales.

Se originó en el este de Asia, en el territorio de lo que hoy es Vietnam. En la Argentina, las primeras plantaciones se verificaron en el año 1862, aunque a partir de 1909 se comenzó a ensayar su respuesta a las características de los suelos en diferentes escuelas agropecuarias, y recién en 1965 se intensificaron los trabajos de investigación. A partir del año 1970 se incrementó el cultivo hasta alcanzar un papel fundamental en la economía del país (Pomareda, 1991). La soja y sus derivados representan actualmente el principal producto de exportación y ubican a la Argentina como el primer exportador mundial de aceite y harina desgrasada de soja, y como tercer productor mundial de soja luego de Estados Unidos y Brasil (Reboratti, 2010).

#### **I.3.2. Utilización**

En los países occidentales productores de soja como Estados Unidos, Brasil y Argentina, los granos son empleados a nivel industrial para la extracción de aceite

quedando una harina desgrasada, rica en proteínas, la que, tanto a nivel local como en destino de exportación, se usa en su mayoría para alimentación animal (Puppo y col., 2007). Aproximadamente el 95 % de la producción sojera se orienta a la exportación, mientras que sólo el 5 % se dirige al consumo interno (Varesi, 2010).

El porcentaje de proteína de soja consumida en la nutrición humana es todavía muy bajo, siendo los principales productos derivados del grano de soja los que se detallan a continuación: aceite de soja, lecitina de soja, harina de soja, concentrados y aislados proteicos de soja, soja texturizada, leche y salsa de soja (Puppo y col., 2007).

### I.3.3. Composición química

La composición química de la semilla de soja puede variar de acuerdo a las condiciones de cultivo. Generalmente, un aumento de 1 % en el contenido de proteínas es acompañado por una disminución de 0,5 % en el contenido de aceite. En la Tabla I.3 se muestra la composición química de los distintos componentes del grano de soja (Puppo y col., 2007).

**Tabla I.3.** Composición química del grano de soja y sus componentes

Componente	Peso	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos	Cenizas
Cotiledón	90	43	23	43	5,0
Cubierta	8	9	1	86	4,3
Hipocótilo	2	41	11	43	4,4
Grano entero	100	40	20	35	4,9

Las proteínas de soja son altamente digeribles y de alto valor biológico, importantes para la síntesis de tejido corporal. Uno de los intereses mayores del grano, reside en la composición de aminoácidos presentes en las proteínas de soja, las cuales si bien son limitantes en los aminoácidos azufrados cisteína y metionina, poseen un elevado contenido de lisina, por lo que complementan muy bien con los cereales. La Tabla I.4 presenta de manera comparativa la calidad de la proteína de soja junto a otros alimentos (Hughes y col., 2011) y el patrón de aminoácidos esenciales recomendado (FAO/OMS/UNU, 2007).

**Tabla I.4.** Calidad proteica de la soja en relación con otros alimentos

Aminoácido (mg/g proteína)	Leche*	Huevo*	Carne*	Arroz*	Trigo*	Soja*	FAO**
His	27	22	34	26	25	28	15
Leu	47	54	48	40	35	50	59
Ile	95	86	81	86	72	85	30
Lis	78	70	89	40	31	70	45
Met + Cis	33	57	40	36	43	28	22
Fen + Tir	102	93	80	91	80	88	38
Tre	44	47	46	41	31	42	23
Tri	14	17	11	13	12	14	6
Val	64	66	61	58	47	53	39
Proteína (%)	3,5	12	18	7,5	12	40	
SQ (%)	94	100	100	73	56	100	
PDCAAS (%)	95	97	94	56	41	78	
PER	3,1	3,9	3	2	1,5	2,3	

*SQ: Score Químico. PDCAAS: Digestibilidad de una Proteína Corregida para el Contenido de Aminoácidos. PER: Relación de Eficiencia Proteica.*

\* *Roisinblit, 2003.*

\*\* *Patrón de requerimientos de aminoácidos indispensables para adultos (FAO/OMS/UNU, 2007).*

Como se observa en la tabla, la soja es muy adecuada para complementar las proteínas de los cereales, siendo su patrón de aminoácidos en ciertos aspectos comparable al de la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

Los lípidos presentes en la soja están representados básicamente por triglicéridos y fosfolípidos. El 93 % de los triglicéridos están constituidos por ácidos grasos insaturados. Los ácidos grasos insaturados más abundantes en la semilla son ácido oleico, linoleico y linolénico, con 18 átomos de carbono y una, dos y tres insaturaciones, respectivamente.

Los granos de soja contienen además un 35 % de CH, de los cuales un 17 % son solubles y el 21 % restante insoluble. La primera fracción está formada por azúcares de bajo peso molecular como estaquiosa, rafinosa y sacarosa, y la segunda porción por CH de alto peso molecular como arabinanos, arabinoglucanos y polisacáridos acídicos, que constituyen la FD (Puppo y col., 2007).

Además, el grano de soja posee, en menor proporción, isoflavonas también denominadas fitoestrógenos, saponinas y lisofosfolípidos, los cuales pueden poseer actividad biológica. Los minerales destacados son potasio (1,5-1,9 %), sodio (0,4-0,6 %), fósforo (0,35-0,70 %), magnesio (0,09-0,21 %), calcio (0,02-0,06 %) y hierro (0,004-0,016 %).

En la soja están presentes casi todas las vitaminas, excepto la vitamina C y D. Las

vitaminas hidrosolubles tiamina, piridoxina y ácido fólico son las que se encuentran en mayores proporciones. Los tocoferoles son de particular importancia no sólo como parte de la actividad de la vitamina K, sino también por sus propiedades antioxidantes (Puppo y col., 2007).

#### **I.3.4. Aspectos nutricionales**

El agregado de harina de soja a productos elaborados a base de cereales mejora significativamente sus propiedades nutricionales. Además de contener una elevada proporción de proteínas de alta calidad, los productos de soja poseen niveles de calcio y fósforo considerablemente más elevados que los de granos de cereales. La harina de soja, además, es una excelente fuente de hierro (Pylar, 1988).

Las proteínas de soja son altamente digeribles y de gran valor biológico. Su composición aminoacídica balanceada las convierte en un ingrediente potencial para complementar proteínas de carne o de productos lácteos. Si bien las proteínas de soja poseen una alta proporción del aminoácido lisina, son deficientes en aminoácidos azufrados (cisteína y metionina). Por el contrario, las proteínas del trigo son pobres en lisina pero ricas en cisteína (la cual puede convertirse en metionina en el organismo). Por ello, la combinación de las dos fuentes de proteínas genera un mejor balance de estos dos aminoácidos esenciales, los cuales deben ser incorporados en la dieta (Jooyandeh, 2011).

Las proteínas de la soja pueden utilizarse como ingredientes en los denominados “alimentos funcionales”, que son aquellos alimentos que proveen beneficios fisiológicos adicionales además de los requerimientos nutricionales que satisfacen. Existe amplia evidencia que las proteínas de soja tienen una influencia positiva sobre la salud. Diversos beneficios, en términos de enfermedad cardiovascular y cáncer se han atribuido al consumo de alimentos de soja, debido principalmente a las isoflavonas presentes (Kang y col., 2010; Nagata, 2010; Lee y col., 2009; Xiao, 2008).

Las consecuencias del consumo de esta oleaginosa sobre la enfermedad cardiovascular se asocia a efectos hipocolesterolémicos de sus proteínas (Friedman y Brandon, 2001). Un posible mecanismo del efecto reductor del colesterol de la proteína de soja sería su capacidad para modular los niveles del receptor de LDL en el hígado (Gudbrandsen y col., 2005). Tachibana y col. (2005) describen un patrón diferente de expresión de genes relacionados con el metabolismo de lípidos en hígado de ratas alimentadas con proteínas de soja. Las isoflavonas tienen también actividad antioxidante y

se ha planteado que la oxidación de las LDL es uno de los prerrequisitos para que éstas sean reconocidas por los macrófagos de la pared arterial y desencadenar la formación de ateromas. La prevención de la oxidación de las lipoproteínas y otras moléculas plasmáticas llevada a cabo por estos fitoquímicos contribuiría, entre otros mecanismos, a disminuir el estrés oxidativo (Vega López y col., 2005). En 1999 la FDA autorizó una declaración de salud (*health claim*) para la rotulación de alimentos que contengan proteína de soja acerca del rol de esta proteína en la reducción del riesgo de enfermedades coronarias (FDA Final Rule, 1999).

Numerosos estudios relacionan la ingestión de soja con la disminución de ciertos tipos de cáncer (Kang y col., 2010; Imhof y col., 2008). Sin embargo, de acuerdo a Patisaul y Jefferson (2010) el interrogante de si los fitoestrógenos son beneficiosos o perjudiciales para la salud humana sigue aún sin resolverse. La respuesta es probablemente compleja y puede depender de la edad, el estado de salud, e incluso la presencia o ausencia de una microflora intestinal específica en las personas evaluadas.

Se debe tener en cuenta que el valor nutricional de la soja y sus productos está dado por el contenido de nutrientes pero se reduce por la presencia de factores antinutricionales que tienen la propiedad de inhibir la acción de proteasas del sistema digestivo (Añón y col., 2009). Los porotos de soja crudos, cuando son destinados a alimentación humana, deben inactivarse ya sea por tratamiento térmico o por fraccionamiento durante la elaboración del alimento (Quicazán y Caicedo, 2012).

### **I.3.5. Harina de soja**

La harina de soja (HS) se obtiene a partir de la torta residual en el proceso de extracción de aceite, la que es sometida a un proceso de desolventización-tostado y posterior secado, enfriamiento, reducción del tamaño de partícula y tamizado. De esta forma se obtiene un producto libre de solvente y con los factores antinutricionales (factores antitripticos) inactivados. En general este tipo de harina se emplea como alimento animal dado su alto contenido de proteínas (40 a 55 %). Para uso en alimentos (humano) se pueden obtener distintos tipos de productos, las denominadas harinas y sémolas con alto contenido de materia grasa y harinas y sémolas desgrasadas. Las primeras contienen 40 % de proteínas y se obtienen por molienda de cotiledones descascarados; las segundas poseen entre 52 y 54 % de proteínas y son preparadas a partir de la extracción con solventes de escamas provenientes de granos de soja descascarados. En el mercado existen harinas con

alto contenido de materia grasa, o desgrasadas enzimáticamente activas, o con diferente solubilidad en agua. El diferente grado de solubilidad es función de las condiciones de tratamiento térmico a las que se somete este tipo de productos para inactivar la acción de la lipooxigenasa y así minimizar el desarrollo de sabor a poroto (Puppo y col., 2007).

Desde el punto de vista tecnológico, la funcionalidad de las harinas de soja se relaciona con la propiedad que tienen sus proteínas en relación a la capacidad de absorción de agua y grasa, y de pegajosidad. Estas propiedades dependen del grado de desnaturalización que tengan estas proteínas y en menor medida, del tamaño de partícula. La funcionalidad es mayor en productos no tostados y se reduce en proporción al grado del tratamiento térmico. Las harinas de soja con más proteínas, más dispersables (alto índice de nitrógeno soluble o índice de dispersibilidad de proteína), son usadas en productos de panadería, siendo agregadas directamente a la masa (Endres, 2001). Trabajos previos revelan que las proteínas de soja interfieren en forma directa e indirecta en la formación de la red de gluten, estos aspectos serán discutidos más adelante.

#### **I.4. ARVEJA**

##### **I.4.1. Aspectos generales**

La arveja (*Pisum sativum*) es una planta herbácea perteneciente a la familia botánica de las leguminosas. Es originaria del medio Oriente, se ha cultivado en Europa durante siglos y se encuentra hoy día entre las leguminosas más populares (Castillo y col., 2014).

Según datos de la FAO, de acuerdo al promedio en la producción anual, las arvejas secas constituyen la segunda legumbre en importancia en el mundo entero. La producción mundial de arvejas en 2009 fue de más de diez millones de toneladas, siendo los principales productores Canadá, la Federación de Rusa, China, los EEUU y la India (Dahl y col., 2012). Con exportaciones de 131 mil toneladas en el 2012, casi diez veces más que nueve años atrás y con el doble de producción, la Argentina logró posicionarse mundialmente, en los últimos años, como proveedor de arveja, siendo Brasil su mayor comprador (Pérez y col., 2014). Cabe señalar que la producción evolucionó considerablemente en la zona Centro y Sur de Santa Fe, Entre Ríos, Este y Sur de Córdoba y Norte de Buenos Aires. En estas regiones, el cultivo de arveja se presenta como una alternativa productiva invernal. Además, es una especie que, comparada con los otros

cultivos invernales, resulta más económica en términos del costo de fertilización, dado que la mayoría del nitrógeno lo obtiene vía fijación biológica (Castillo y col., 2014).

#### **I.4.2. Utilización**

Del volumen total de arveja producido en Argentina, el 88 a 90 % se destina a grano seco, 7 a 8 % a grano verde fresco para enlatar o congelar y el restante 2 % para chaucha fresca. Lo producido en grano seco se destina al consumo interno o bien se exporta (SAGPyA, 2012).

La arveja entera o decorticada, que no se destina a su comercialización como grano entero, es sometida a un proceso de molienda seca para obtener harina o a un proceso de molienda húmeda para ser usada en la preparación de otros alimentos. A partir del procesamiento del grano se pueden obtener subproductos como cáscara de arveja, harina de arveja, almidón de arveja y concentrado de proteínas de arveja (Naguleswaran y Vasanthan, 2010).

Cabe destacar que en Argentina el consumo per cápita de legumbres es bastante bajo respecto al de otros países donde estos alimentos se encuentran muy arraigados. El consumo interno per cápita de arveja resulta difícil de calcular con la información estadística disponible, pero se estima en alrededor de 100 g/hab/año (Shamah Levy y col., 2014).

Sin embargo, en los últimos años, mundialmente se ha renovado el interés en el uso de esta legumbre en productos con valor agregado (Alasino y col, 2011), siendo utilizada para consumo humano en fresco, seco o en productos elaborados por sus excelentes características nutricionales como ser su alto contenido de proteínas.

#### **I.4.3. Composición química**

En la Tabla I.5 se resume la composición química de la arveja (Dahl y col., 2012).

Las arvejas son una valiosa fuente de proteínas para el hombre y los animales. El contenido de proteína en las arvejas puede estar influenciado tanto por las condiciones ambientales como por factores genéticos (Hood Niefer y col., 2012; Bourgeois y col., 2011; Tosh y Yada, 2010; Dostalova y col., 2009). Tzitzikas y col. (2006) analizaron la concentración de proteínas en distintos tipos de arvejas, hallando niveles variables (13,7-30,7 %), con un promedio general de 22,3 %. La mayoría de las proteínas de las arvejas

son proteínas de almacenamiento o globulinas, y el perfil de aminoácidos determina su valor nutricional (Bourgeois y col., 2011; Boye y col., 2011). Las proteínas de esta legumbre son ricas en lisina y marginales o deficientes con respecto a la metionina. La digestibilidad *in vitro* de la proteína cruda se reduce por la presencia de inhibidores de la proteasa, aunque se ha informado que la digestibilidad de la proteína de arveja es más alta que la de la soja y otras legumbres (Boye y col., 2011; Roy y col., 2010).

**Tabla I.5.** Composición química de la arveja (*Pisum sativum* L.)

Componente	Composición (g/100 g base seca)
Proteínas (N x 6,25)	21,2–32,9
Almidón	36,9–49,0
Almidón resistente	2,1–6,3
Amilosa*	20,7–33,7
Fibra dietética total	14,0–26,0
Fibra insoluble	10,0–15,0
Fibra soluble	2,0–9,0
Grasa	1,2–2,4
Cenizas	2,3–3,4

\* Valor expresado en base al contenido de almidón.

El almidón y la fibra son sus principales componentes (Tzitzikas y col., 2006). El almidón de arveja, contiene un nivel intermedio de amilosa, que se refleja en su funcionalidad única y sus mayores niveles de AR y de lenta digestión (en comparación con almidones de cereales, raíces y tubérculos, los cuales presentan bajo contenido de amilosa) (Hoover y col., 2010). Las harinas de arveja presentan un contenido de almidón rápidamente digerible de 9,2 a 10,7 %, almidón de lenta digestión en cantidades que varían de 23,3 a 26,5 % y un nivel de AR con concentraciones entre 10,1 y 14,7 % (Chung y col., 2008).

La FD de esta legumbre proviene de la cubierta de la semilla (fibra exterior), comúnmente referida como casco, y del cotiledón (fibra interior). La cubierta de la semilla contiene polisacáridos en gran parte insolubles en agua, principalmente celulosa; mientras que la fibra del cotiledón consta de polisacáridos con diversos grados de solubilidad, incluyendo hemicelulosas y pectinas (Tosh y Yada, 2010; Guillon y Champ, 2002).

Iqbal y col. (2006) estudiaron el contenido de lípidos, y hallaron en arvejas valores menores que en otras legumbres, a saber en garbanzo 5,2 %, judías 4,2 %, lentejas 3,2 % y

arvejas 1,5 %. Los valores informados por la *Finnish Food Composition Database* (FINELI, 2009), para las diversas fracciones lipídicas (g/100g de arvejas secas), son los siguientes: ácidos grasos totales 0,9 g; ácidos grasos saturados 0,1 g; ácidos grasos monoinsaturados 0,3 g y ácidos grasos poliinsaturados 0,5 g. El contenido de ácido linoleico es de 0,41 g; ácido alfa linolénico 0,09 g y el de esteroides totales de 0,11 g.

Reichert y Mac Kenzie (1982) determinaron las concentraciones de los principales minerales en cuatro muestras de arveja. El potasio se encontró que fue el elemento predominante (1,04 % de peso seco descascarado), seguido de fósforo (0,39 %), magnesio (0,10 %) y calcio (0,08 %). Estos investigadores, midieron además las concentraciones de algunos minerales trazas como hierro (97 mg/kg), selenio (42 mg/kg), zinc (41 mg/kg), molibdeno (12 mg/kg), manganeso (11 mg/kg) y cobre (9 mg/kg). Sin embargo, a pesar del alto contenido mineral existente en las arvejas, su biodisponibilidad puede ser baja debido a las altas concentraciones de fitatos presentes. Sandberg (2002), informó que estos compuestos actúan como inhibidores de la absorción de hierro, zinc y calcio, siendo necesarias investigaciones que permitan comprender el efecto de las técnicas de procesamiento de los alimentos en la degradación de fitatos, ya que si éstos se degradan, las arvejas podrían ser consideradas una fuente importante de minerales.

Según datos obtenidos de FINELI (2009), las vitaminas presentes en arvejas secas (cada 100 g) también resultan de interés, a saber, vitamina A y equivalentes (110,2 µg) vitamina E (menor a 0,1 mg), vitamina K (99,12 µg), folato (33,0 µg), equivalentes de niacina (6,1 mg), riboflavina (0,3 mg), tiamina (0,6 mg), piridoxina (0,16 mg) y carotenoides totales (7557,2 µg).

Las concentraciones de constituyentes menores y sus posibles efectos sobre la salud humana, fueron revisadas recientemente por Campos Vega y col. (2010). Las arvejas, al igual que otras legumbres, contienen una variedad de fitoquímicos, incluyendo compuestos fenólicos, fitatos, saponinas y oxalatos. Estos compuestos, presentan bioactividad y pueden tener efectos positivos sobre la salud humana. Los compuestos fenólicos han sido reconocidos por su capacidad para actuar como antioxidantes, mientras que los fitatos y saponinas pueden exhibir efectos hipocolesterolémicos y actividades anticancerígenas (Campos Vega y col., 2010).

#### **I.4.4. Aspectos nutricionales**

Por su contenido de proteínas, CH complejos, FD, minerales, vitaminas y

compuestos antioxidantes, esta legumbre resulta interesante desde el punto de vista nutricional (Alasino y col., 2008). Al igual que la HS, el agregado de harina de arveja a productos de panadería contribuye significativamente en sus propiedades nutricionales al mejorar la calidad de sus proteínas.

Distintos estudios han demostrado el papel de la arveja y sus constituyentes en el mantenimiento metabólico y la salud cardiovascular y gastrointestinal en los seres humanos (Dahl y col., 2012). Las propiedades del almidón y constituyentes fibrosos (celulosa, hemicelulosa y lignina) hacen de la arveja un alimento de bajo índice glucémico, y por lo tanto beneficioso en la prevención y tratamiento de la diabetes tipo 2 (Trinidad y col., 2010; Marinangeli y col., 2009). Lunde y col. (2011) encontraron que el pan enriquecido con fibra de arveja aumentó la duración de la saciedad, cuando fue comparado con la ingesta de pan común. Además, la fibra puede reducir el colesterol en sangre por la disminución de la reabsorción de ácidos biliares (Dahl y col., 2012).

Los efectos asociados al consumo de arveja en la función gastrointestinal han sido investigados, encontrándose que las arvejas, al igual que otras legumbres, tienen cantidades significativas de rafinosa y otros oligosacáridos que contienen galactosa (Tosh y Yada, 2010), por lo cual, cuando es suministrada en cantidades adecuadas, ejerce un efecto prebiótico a nivel del intestino grueso (Fernando y col., 2010).

#### **I.4.5. Harina de arveja**

La harina de arveja (HA) es una fuente relativamente barata de proteínas debido a que involucra un bajo número de operaciones en su proceso. El costo de la harina es la mitad comparado con el de arvejas enlatadas (IERAL, 2011b), por lo que el precio de la proteína de esta legumbre es aproximadamente seis veces menor que el de la proteína de la carne. Además, la HA es fácil de producir y es rica en fibras, siendo además un producto poco explotado en el mercado. Es valorada no solo como una fuente proteica vegetal sino también, en parte, por sus particulares propiedades funcionales. El uso de proteínas vegetales como ingredientes funcionales en la industria alimentaria está aumentando y se ha puesto especial atención en el uso de arveja (Alasino y col., 2011).

Si bien esta legumbre es ampliamente usada en alimentación animal por sus propiedades nutricionales, el consumo en humanos no se encuentra distribuido ampliamente. Aunque, los beneficios nutricionales y las propiedades funcionales de la

arveja han aumentado el interés y demanda para la preparación de alimentos geriátricos e infantiles (Urbano y col., 2005a). Ha sido sugerida como una fuente alternativa de la proteína de soja en países donde ésta no constituye un cultivo nativo o en situaciones en que no puede ser usada la soja por intolerancia o reacciones alérgicas (Urbano y col., 2005b; Davidsson y col., 2001).

El uso de HA en panificación permite lograr un alimento más completo desde el punto de vista nutricional el cual podría ser de interés para los grupos más vulnerables como ser niños, ancianos, embarazadas y personas de menores recursos; a las personas que adoptan una dieta de tipo vegetariana pura y a la población en general que actualmente posee mayor información en materia de nutrición y salud, por lo cual está atenta a los componentes de los alimentos que elige para consumo. Desde el punto de vista tecnológico, permite ofrecer un producto novedoso en el mercado elaborado a base de un recurso existente, accesible y poco utilizado en la región.

Uno de los principales inconvenientes que presenta el uso de esta harina en la panificación es la presencia de la lipoxigenasa activa, enzima implicada en la aparición de olores y sabores desagradables, degradación de pigmentos y destrucción de ácidos grasos esenciales (Alasino y col., 2011). Por lo tanto, en la arveja como en otros vegetales, la lipoxigenasa debe inactivarse mediante un calentamiento, que puede ser el de escaldado, ya que de otra manera su acción provoca la formación de muchos derivados carbonílicos que imparten aromas desagradables en el almacenamiento. La severidad del proceso de escaldado debe ser limitada a fin de mantener el color, la textura, el sabor y aroma genuino, así como la calidad nutricional. Las condiciones de inactivación de la enzima lipoxigenasa han sido ampliamente estudiadas, ya que esta enzima ha sido propuesta como indicadora del tiempo de escaldado por diversos autores (Alasino y col., 2008; Drago y col., 2007; Garrote y col., 2001).

## **I.5. CONCENTRADO DE PROTEÍNAS DEL LACTOSUERO**

### **I.5.1. Aspectos generales**

Aproximadamente 90 % de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada como lactosuero el cual retiene cerca de 55 % del total de ingredientes de la leche: sales minerales (8-10 % de extracto seco), lactosa (4,5-5 % p/v), lípidos (0,4-0,5 % p/v) y proteínas solubles (0,6-0,8 % p/v) (Parra Huertas, 2009).

Las proteínas del lactosuero no constituyen la fracción más abundante, pero es la más interesante en los terrenos económico y nutricional. Contiene una rica y variada mezcla de proteínas que poseen amplio rango de propiedades químicas, físicas y funcionales. Sus principales componentes son la  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina, además, contiene otras proteínas como lactoferrina, lactoperoxidasa, inmunoglobulinas y glicomacropéptidos (Hinrichs y col., 2004; Baro y col., 2001). Las proteínas de este subproducto de la industria quesera desempeñan un importante papel nutritivo como una rica y balanceada fuente de AAes (Ibrahim y col., 2005; Ha y Zemel, 2003), con un alto valor biológico (por su contenido en lisina, leucina, triptófano y aminoácidos azufrados), similar a las proteínas del huevo, encontrándose que lisina y leucina son los aminoácidos que se presentan en mayor cantidad. Además, ejercen efectos biológicos y fisiológicos *in vivo*, potenciando la respuesta inmune, tanto humoral como celular (Parra Huertas, 2009).

Según el Código de EEUU de Regulaciones Federales, el concentrado de proteína del lactosuero (WPC) se define como la sustancia obtenida por la eliminación de suficiente constituyente no proteico del lactosuero para que el producto seco final contenga no menos del 25 % de proteína. El WPC es obtenido por un proceso de ultrafiltración que consiste en una membrana semipermeable, la cual selectivamente permite pasar materiales de bajo peso molecular como agua, iones y lactosa, mientras retiene materiales de alto peso molecular como las proteínas. El retenido es así concentrado por evaporación y liofilizado (Muñi y col., 2005). El WPC contiene entre 20 % y 89 % de proteínas, siendo el WPC con 35 % el producto más común en el mercado (Foegeding y Luck, 2002). Por otra parte, los aislados de proteínas del lactosuero presentan un contenido proteico superior al 90 %, el cual sólo puede ser alcanzado con la disminución de la grasa y del contenido de minerales, mediante etapas extras a la ultrafiltración (Smithers, 2008). Por su composición, las propiedades funcionales de los aislados son superiores a las del WPC y puede ser incluido en productos tales como: alimentos bajos en grasa, deslactosados, fórmulas médicas infantiles y en alimentos para deportistas. Sin embargo, las ventajas de emplear WPC son económicas y sensoriales (Lucena y col., 2007; Surh y col., 2006).

### **I.5.2. Utilización**

La concentración promedio de proteínas en el suero del queso es de aproximadamente 6 g/L. Si estimamos que en 2008 en Argentina se procesaron con

destino a quesos en el orden de 4200 millones de litros de leche anuales, se habrían generado unos 3800 millones de litros de suero y en consecuencia un volumen total de proteínas que rondaría las 23000 toneladas (Schaller, 2009). Esta simple exposición justifica ampliamente que se preste atención a las posibilidades de aprovechamiento de este subproducto.

Algunas posibilidades de utilización para este residuo han sido propuestas, pero las estadísticas indican que una importante porción es descartada como efluente el cual crea un serio problema ambiental (Aider y col., 2009; Silva y col., 2009). De la producción mundial de lactosuero, 45 % se desecha en ríos, lagos y otros centros de aguas residuales, o en el suelo, lo que representa una pérdida significativa de nutrientes y, a su vez, ocasiona serios problemas de contaminación. El 55 % restante, es tratado y transformado en varios productos alimenticios (Panesar y col., 2007). Entre los productos de exitosa aceptación debido a sus bajos costos de producción, grado de calidad alimenticia y aceptable sabor, se encuentran las bebidas refrescantes (Londoño y col., 2008), bebidas fermentadas y alcohólicas, biopelículas, producción de ácidos orgánicos, derivados de lactosa y los concentrados de proteínas, entre otros (Koutinas y col., 2009; Almeida y col., 2009).

El uso de WPC como ingrediente en productos alimenticios ha crecido constantemente en los últimos años. Los WPCs conteniendo aproximadamente 35 % de proteína son elaborados como sustitutos de leche descremada y son utilizados en la elaboración de yogur, queso procesado, bebidas (Foegeding y Luck, 2002), salsas, fideos, helados (Muñi y col., 2005), derivados lácteos, carne, formulaciones infantiles y productos de panadería, debido a las propiedades funcionales excelentes de sus proteínas y sus beneficios nutricionales (Visentín y col., 2009; Pérez y col., 2008; Díaz y col., 2004; Foegeding y Luck, 2002).

### **I.5.3. WPC 35**

En la Tabla I.6 se detalla la composición química porcentual del WPC 35 % (Roufik y col., 2005).

Las propiedades nutricionales y funcionales que presentan las proteínas del lactosuero son importantes para la industria de la panificación (Jisha y Padmaja, 2011; De Wit, 2003).

**Tabla I.6.** Composición química del WPC 35

Componente	Composición (g/100 g)
Humedad	4,2
Proteínas (N x 6,38)	36,4
Lactosa	47,9
Grasa	2,7
Cenizas	6,1

Desde el punto de vista nutricional, las proteínas del WPC poseen biodisponibilidad alta, por lo que nuestro cuerpo puede metabolizarlas de manera eficiente (Pordesimo y Onwulata, 2008). Presentan alto valor biológico, gracias a su elevado contenido en AAe especialmente lisina, triptófano, metionina y cisteína (Walzem y col., 2002). Este derivado de la leche, con un buen perfil de aminoácidos, puede ser utilizado como suplemento de las proteínas vegetales (Bulut Solak y Akın, 2012; Hoppe y col., 2008; Krissansen, 2007; Walzem y col., 2002).

Además, a estas proteínas se le atribuyen propiedades bioactivas como ser propiedad antimicrobiana, reducción de la proliferación de células cancerosas, potenciación inmune, reducción de la hipertensión, actividad antioxidante y antitrombótica y disminución de los niveles de colesterol, entre otros (Madureira y col., 2010; Pordesimo y Onwulata, 2008; Korhonen y Pihlanto, 2006; Jelen, 2003). Una posible explicación de estos efectos puede residir en los péptidos presentes y sus acciones fisiológicas relevantes al consumirlos regularmente (Chung y col., 2009).

## I.6. PRODUCTOS PANIFICADOS

### I.6.1. Pan

Los productos de panificación han ido evolucionando en diferentes formas y características distintivas. Cada país ha desarrollado su método de panificación tradicional de acuerdo a la calidad de la materia prima y a las características exigidas por los consumidores. En muchos lugares del mundo se utiliza el método de panificación tradicional, mientras que en otros se han ido cambiando las metodologías drásticamente. Diferentes tecnologías de panificación han sido desarrolladas para responder mejor a las

nuevas demandas generando constantes progresos en la industria panadera (Decock y Cappelle, 2005).

### *1.6.1.a. Aspectos generales en la elaboración del pan*

En la fabricación del pan se pueden destacar algunos pasos comunes a todas las metodologías de elaboración: mezclado de la masa (harina, agua, levadura, sal y otros ingredientes específicos en proporciones adecuadas), fermentación de la masa y el horneado (Barak y col., 2013).

El objetivo del amasado es el mezclado de los ingredientes, la obtención de una masa homogénea y el desarrollo del gluten (Wagner y col., 2007; Sluimer, 2005; Dobraszczyk y Morgenstern, 2003; Lin y col., 2003). A su vez, y gracias al trabajo mecánico que se aplica durante el proceso, las proteínas formadoras del gluten interaccionan entre sí y dan lugar a la formación de la red tridimensional viscoelástica, con capacidad de retener los gases producidos en la fermentación. El almidón también se integra en la red de gluten, al igual que el resto de los componentes de la harina. Durante el amasado las amilasas se activan y se generan azúcares fermentables que constituyen el sustrato para la acción de las levaduras, las cuales transformarán estos azúcares en alcohol, CO<sub>2</sub> y otros compuestos menores que influirán en el aroma final del pan. Como resultado de este proceso la masa se expande y cambia sus propiedades físicas, facilitando el laminado y la formación de las piezas. En los procesos de panificación es habitual realizar una fermentación inicial, en el bollo de masa, antes del formado definitivo de las piezas, y otra final, con la pieza ya formada. La primera persigue un cambio en la reología de la masa que facilita su manejo, formación o mecanización, e influirá en la calidad del pan producido. La segunda pretende incrementar el tamaño de la pieza para obtener un producto esponjoso (Calderón Domínguez y col., 2004; Basaran y Gocmen, 2003).

Una vez fermentadas las piezas deben ser introducidas en el horno. La expansión del volumen durante la primera fase del horneado (*ovenspring*) está influenciada por dos factores: por un lado los gases ocluidos en el interior de las piezas se expanden al incrementarse la temperatura; por otro, parte del agua y del etanol presentes en las masas se evaporan, pasan a los alvéolos y favorecen la expansión (Gómez Pallares y col., 2007). Durante la cocción ocurre la formación de la corteza y la miga del pan (Wagner y col., 2007; Rojas y col., 2000). La formación de la corteza comienza con la deshidratación de la capa exterior de la de masa (Wagner y col., 2007). Durante el horneado, el contenido de

agua sobre la superficie de la pieza llega a ser inferior que en el medio y esto, combinado con la alta temperatura, es uno de los factores que hace a la corteza diferente de la miga.

Según los ingredientes utilizados y la forma de elaboración, los panes se dividen en dos categorías, pan común (tipo francés) y pan especial. Dentro de la categoría de pan especial se encuentra el pan de molde, aquel que tiene una ligera corteza blanda y que para su cocción ha sido introducido en un molde (Mesas y Alegre, 2002).

#### *1.6.1.b. Atributos de calidad*

La forma tradicional de evaluación de la calidad panadera de una harina es y ha sido siempre a través del volumen específico del pan, sin embargo hay otros parámetros que intervienen, como ser su aspecto, textura, color, olor y sabor; atributos que también deben ser tomados en cuenta y analizados por un panel de evaluación sensorial.

Los alimentos en general y el pan en particular deben cumplir requisitos mínimos de higiene, inocuidad y calidad para ser aceptados por el consumidor. Las expectativas del consumidor respecto del pan de molde son las que se detallan a continuación: forma simétrica, corteza lisa y sin defectos apreciables ni separación de la miga, color dorado, miga blanda y húmeda con alveolos cerrados y uniformes, aroma característico y sabor intenso, ligeramente dulzón (Nadal y Fornos, 2004).

#### *1.6.1.c. Utilización de harina de soja en pan*

La incorporación de derivados de soja en los productos de panificación produce modificaciones en el proceso de elaboración y la calidad de los productos. Esto es debido a las características y la funcionalidad de sus componentes que afectan las propiedades sensoriales de los alimentos, como apariencia, color, sabor, olor, aroma y textura, las cuales, como se dijo anteriormente, son atributos determinantes de la aceptación por parte de los consumidores. El sabor y el olor de los derivados de soja y su interacción con los atributos sensoriales de los alimentos, son críticos para determinar el posible uso y el nivel de incorporación a emplear. Los componentes de la soja poseen propiedades funcionales que pueden ser de gran utilidad o, en ciertos casos, tener efecto negativo en los diferentes procesos de elaboración y calidad de los productos horneados (Puppo y col., 2007).

La HS se emplea en panificación tanto para mejorar las propiedades nutritivas de los productos (Guy, 1984; Bean y col., 1977; Mecham y col., 1976), como para aprovechar

los efectos beneficiosos de sus enzimas y fosfolípidos (Lai y col., 1989; Chung y col., 1981). Los derivados de la soja representan una excelente fuente de proteínas vegetales con alto contenido de lisina presentando, además, una elevada digestibilidad (entre 95 y 100 %) en los aislados proteicos (Ou y col., 2004). La fortificación de harinas con derivados de soja incrementa no sólo la cantidad de las proteínas sino también la calidad nutricional. Un pan elaborado con una receta básica tiene un porcentaje de proteínas de 8 a 9 %, valor que puede incrementarse hasta un 13 a 16 % cuando se incorporan derivados de soja (Ribotta y col., 2010).

La HS desgrasada o integral con mínimo tratamiento térmico y con sus enzimas activas, es utilizada principalmente en la elaboración de pan blanco. La incorporación de pequeñas cantidades de HS activa, hasta un 2 %, incrementa la tolerancia al amasado, mejora las propiedades reológicas y la absorción de agua y, en ciertos casos, puede aumentar el volumen de pan (Lusas y Riaz, 1995). Por otro lado, se adiciona para blanquear las harinas, mejorar la estructura de la miga y el color de la corteza debido a los azúcares presentes en los derivados de soja. La HS posee naturalmente varias enzimas, entre ellas las lipoxigenasas que a través de una serie compleja de reacciones químicas con los lípidos de la harina y el oxígeno, pueden producir la oxidación de los carotenoides y de las proteínas de la harina a través de la formación de radicales peróxidos (Belitz y Grosch, 1999; Frazier, 1979). La utilización de cantidades mayores de HS activa puede generar sabores y olores extraños.

La suplementación de HT con derivados de soja ricos en proteínas, tales como harinas desgrasadas, concentrados y aislados proteicos, en altos porcentajes (10 a 20 %) provoca inconvenientes en el proceso de elaboración y la calidad de los productos de panificación. Entre los efectos descritos se observan modificaciones de las propiedades reológicas de las masas, de la capacidad de retención de gas de éstas y del volumen y textura del producto final (Ribotta y col., 2010; Mohamed y col., 2006; Dhingra y Jood, 2004). Los efectos negativos se incrementan con el aumento de la cantidad de soja adicionada.

Las proteínas de soja interfieren en forma directa e indirecta en la formación de la red de gluten. El efecto directo está relacionado con la interacción de las proteínas de trigo y soja, mientras que el indirecto se relaciona con la competencia entre las proteínas de soja y trigo por el agua necesaria para su hidratación (Ribotta y col., 2005a; Ribotta y col., 2005b). Otros investigadores atribuyen los problemas asociados a la calidad a una dilución

del gluten (Doxastackis y col., 2002). La incorporación de gluten, emulsionantes y enzimas, puede atenuar el efecto negativo de la incorporación de proteínas de soja en la calidad de los panes (Basman y col., 2003; Ryan y col., 2002; Bean y col., 1977).

Visentín y col. (2009) al elaborar panes con el agregado de 6 % de HS observaron que la concentración de proteínas aumentó en 25,9 % e incrementó el SQ de 42,2 % para HT a 55,8 % para la mezcla. Respecto a las características sensoriales, el agregado de soja al 6 % redujo el volumen de pan aunque en forma no significativa y generó una corteza algo menos coloreada que el control y con algunos puntos oscuros debido a la presencia de partículas de HS.

Como fue demostrado en otros estudios, Ribotta y col. (2010) corroboraron el efecto negativo en la formación de la red de gluten, propiedades reológicas y la capacidad de retención de gas de la masa, así como de la calidad final del pan cuando ensayaron altos niveles de HS en este producto. No obstante, al adicionar una mezcla de aditivos constituida por estearoil-2-lactilato de sodio, transglutaminasa y xilanasas, estos autores lograron mejorar la calidad final del pan de manera significativa, alcanzando un incremento del 65 % en el volumen del pan y una reducción del 79 % y 71 % en la dureza de la miga y masticabilidad respectivamente, cuando se comparó la formulación estándar (sin aditivos) y la mejor mezcla ensayada.

#### *1.6.1.d. Utilización de harina de arveja en pan*

Existen estudios realizados en panes, tortas, galletitas y bizcochos empleando HA como sustituto de la HT. Las investigaciones realizadas indican que esta leguminosa puede emplearse en la sustitución de HT en cantidades que van de 10 a 15 % sin que el volumen y la calidad del pan se conviertan en inaceptables (Hannigan, 1979). Raidl y Klein (1983) indicaron que en panes elaborados con agregado de HA y HS, la arveja parece tener más efectos adversos que la HS en las propiedades físicas y sensoriales de los panes. Los autores observaron que al utilizar cantidades de 5, 10 y 15 % de HA como reemplazo, el volumen de pan disminuyó progresivamente con el aumento en el nivel de reemplazo utilizado, siendo en todos los casos inferior al testigo sin HA.

Más recientemente, Alasino y col. (2008) evaluaron el efecto de la inactivación enzimática de la arveja sobre las características de panes de molde formulados con niveles de sustitución de 5, 10 y 15 %. Los tiempos de tratamiento térmico utilizados para la inactivación fueron de 0, 1 y 1,5 min. El aumento del porcentaje de HA produjo un

incremento de la calidad proteica del pan pero con deterioro de su volumen específico y atributos sensoriales. La inactivación de lipoxigenasa produjo un efecto favorable sobre el volumen del pan cuando el tratamiento térmico fue de 1 min. En cambio su efecto sobre las características sensoriales resultó dependiente del nivel de sustitución con HA en la formulación, ya que fue positiva al 5 % de incorporación, pero generó resultados no favorables en los porcentajes superiores. Al analizar ambos factores se verificó que el mejor resultado hallado fue el de 5 % de sustitución con HA tratada térmicamente durante 1 min.

Por otra parte, Visentín y col. (2011) evaluaron la calidad nutricional de un pan de molde elaborado con la incorporación de 10 % de HA inactivada enzimáticamente, logrando un aumento en proteínas totales del 10,7 %, en lisina disponible del 58 % y en el SQ del 22,4 %, siempre en referencia al pan testigo, elaborado con HT 100 %.

### *1.6.1.e. Utilización de concentrado de proteínas del lactosuero en pan*

La mayoría de las propiedades funcionales que presentan las proteínas del lactosuero son importantes en la elaboración de pan, pasteles, galletas, bizcochos, etc., al mejorar la textura, la apariencia, el volumen de la masa, el tostado de la corteza, el color, el sabor, al conseguir una estructura de la miga más blanda e incluso retrasar el endurecimiento del pan manteniendo más tiempo su frescura (Guerra Araujo y col., 2015; De Wit, 2003). La lactosa y las proteínas del suero son un sustrato ideal para las reacciones de Maillard porque contribuyen positivamente al color en la preparación de estos productos (Meltretter y col., 2007; De Wit, 2003) favoreciendo la aparición de un color similar al del caramelo (“marrón - dorado”) (Morr, 1992) y permitiendo durante la cocción un desarrollo más rápido del color (Jisha y Padmaja, 2011). La lactosa también contribuye al sabor de estos productos particularmente durante la cocción (De Wit, 2003). La capacidad de ligar agua que poseen es menor que la de la harina, aunque la absorción de agua aumenta a medida que se incrementa el nivel de desnaturalización proteica (Jisha y Padmaja, 2011). Sin embargo, los efectos asociados al uso de esta fuente proteica son diversos y dependen del nivel de sustitución empleado.

Determinaciones físicas y evaluaciones sensoriales y nutricionales en pan francés elaborado por sustitución de HT con WPC, han sido realizadas por Sánchez y col. (1998). Estos autores, hallaron una disminución en los valores de absorción de agua y un aumento en la tenacidad de la masa, asociada al empleo de WPC en la formulación. Respecto a los

atributos sensoriales propiamente dichos, observaron una pérdida de calidad en las características generales de los panes cuando el concentrado proteico fue utilizado individualmente, sin embargo este deterioro en la calidad sensorial se redujo al incorporar de manera simultánea HS a la mezcla. En cuanto a los parámetros nutricionales, encontraron una mejora en el contenido de proteínas y los niveles de lisina disponible.

Por otro lado, Güemes Vera y col. (2009) observaron en bollos dulces mexicanos que la incorporación de un 10 % de suero mejora la fuerza de adhesión de la masa y las propiedades sensoriales de color y sabor, mientras que estas propiedades van en detrimento cuando se utilizan porcentajes superiores.

Al analizar el efecto de la incorporación de WPC sobre la calidad del pan de molde y la dializabilidad de minerales, Visentín y col. (2009) hallaron bajos valores en el volumen específico y en el puntaje asignado por el panel de evaluadores, no obstante los panes presentaron una corteza agradable, de color tostado intenso, como consecuencia de una mayor eficacia en la reacción de Maillard debido a la importante cantidad de lactosa presente. El agregado de WPC a un nivel de 6 % de reemplazo, incrementó el contenido de proteínas en el pan y el SQ se modificó de 42,2 % para HT a 61,2 % para la mezcla. El agregado de WPC mejoró, además, el contenido de calcio, aunque disminuyó la disponibilidad de hierro y zinc. Este efecto negativo sobre el hierro fue superado por el agregado de promotores de la absorción de minerales, siendo el agregado del EDTA el más beneficioso.

### *1.6.1.f. Efecto del procesamiento sobre la calidad*

Durante los primeros minutos dentro del horno, la masa expande su volumen rápidamente, lo que se denomina “*ovenspring*”. Los factores responsables de este fenómeno son diversos: las levaduras se tornan más activas durante un breve tiempo debido al aumento de temperatura y producen más CO<sub>2</sub>, el gas formado se expande al calentarse y el agua del interior de la masa se convierte en vapor. Cuando la temperatura alcanza los 60°C mueren las levaduras y el almidón comienza a gelatinizarse. Luego, cuando la temperatura alcanza los 60-79°C, las proteínas coagulan, proceso en el que parte del agua se libera y es atrapada por el almidón, en tanto que las proteínas coaguladas se adhieren a la superficie como una especie de cubierta elástica que mantiene en su interior las burbujas de aire. La masa incorpora aire en forma de diminutas burbujas que serán las responsables del alveolado final de la miga de pan. Durante esta fase, la gelatinización

continúa, las moléculas de cadena lineal de amilosa migran fuera de los gránulos. La amilasa en contacto con el agua forma redes gelatinosas alrededor de los amiloplastos, los que empiezan a perder su estructura cristalina en cuanto se embeben de agua, se expanden y ablandan. El proceso de gelatinización aumenta la digestibilidad del almidón.

En la segunda y última fase de cocción terminan los procesos descritos y el pan se seca: su color y flavor comienzan a cambiar, surgiendo el aroma típico del pan recién horneado. Las reacciones químicas implicadas durante esta etapa son principalmente la reacción de Maillard y la caramelización.

La reacción de Maillard se favorece en alimentos con alto contenido en proteína y carbohidratos y un contenido intermedio en humedad, a temperaturas superiores a 50°C y un pH entre 4 y 7. Como consecuencia de esta reacción se producen cambios en el color y sabor, la reacción de Maillard puede generar más de 2500 compuestos aromáticos que se relacionan con las características sensoriales de los alimentos procesados térmicamente y que inciden de manera especial en la aceptación del producto por parte del consumidor (Whitson y col., 2010; Cerny, 2008). Conjuntamente, genera cambios en las propiedades funcionales y el valor nutricional del producto. Trabajos publicados muestran que las reacciones de pardeamiento pueden tener un efecto adverso sobre la calidad nutricional de las proteínas de los alimentos, este efecto se debe al bloqueo de aminoácidos esenciales y en consecuencia, a una reducción en la disponibilidad biológica (Van Rooijen y col., 2013; Oh y col., 2013). La lisina es el aminoácido comúnmente más reactivo y su pérdida de disponibilidad puede alcanzar un 50 % (Delgado Andrade y col., 2007). Esto es importante en los alimentos en que la lisina es el aminoácido limitante (Meade y col., 2005).

El tratamiento térmico produce cambios estructurales en las proteínas, lo cual provoca una menor solubilidad y menor susceptibilidad a la acción de las enzimas digestivas. Durante el tratamiento térmico, se produce además la oxidación y destrucción de otros aminoácidos esenciales como la metionina y el triptófano y la participación de los restos arginina e histidina en el entrecruzamiento de proteínas (Morales y col., 2007).

Por otra parte, el proceso de cocción puede también ocasionar pérdidas en el orden de 15 % a 20 % de las vitaminas del grupo B en general y porcentajes mayores de pérdida para el caso de la tiamina en particular (Gliguem y col., 2005; Belitz y Grosch 1997).

### **I.6.2. Galletitas dulces (*cookies*)**

A pesar de no ser un alimento principal en la dieta, las *cookies*, ofrecen

características que las hacen atractivas como medio de fortificación. Éstas son: su larga vida útil, que permite la producción y distribución a gran escala y su alto grado de aceptabilidad (Pérez y col., 2008). Además poseen una textura y un sabor agradables, son de fácil ingestión y gran comodidad de presentación, así como fáciles de transportar y conservar (Mesías García y col., 2010).

En nuestro país, la producción anual de galletitas ostenta una tendencia creciente desde el año 2003, la evolución del consumo aparente durante el período comprendido entre los años 2001 y 2012 ha sido positiva, siendo en los últimos años la producción anual del sector de galletitas y bizcochos superior a las 400 mil toneladas (Lezcano, 2012).

Las *cookies* podrían incluirse dentro de los AIS, aquellos alimentos que como se describió anteriormente, son de consumo masivo, alta aceptabilidad, con valor nutricional mejorado y bajo costo, que aseguran además un adecuado aporte de nutrientes, a fin de contribuir a un buen estado nutricional. La matriz de este alimento, conjuntamente con las condiciones del proceso, hace que resulten óptimas para planes sociales. Además, pueden ser distribuidas en zonas alejadas en virtud de su larga vida útil (Macías y col., 2013).

### *I.6.2.a. Aspectos generales en la elaboración*

La primera etapa en la elaboración de *cookies* incluye el mezclado y dispersión de los ingredientes sólidos y líquidos y el amasado. La función básica del amasado es producir una mezcla homogénea e incorporar aire en la misma. En esta masa no se observa el desarrollo completo del gluten debido al nivel limitado de agua y a la competencia por su asociación entre las proteínas formadoras de gluten y la sacarosa de la formulación. A diferencia de lo que ocurre en el proceso de elaboración de pan o *crackers*, en la elaboración de *cookies* no tiene lugar ningún proceso de fermentación. Los gases que producen el levantamiento son generados por reacciones químicas producidas por sustancias leudantes. Los leudantes normalmente utilizados son el bicarbonato de sodio y bicarbonato de amonio (Pérez y col., 2008).

Posteriormente al amasado se realiza la laminación basada en compactar y calibrar la masa transformándola en una lámina de grosor uniforme. La masa compactada y calibrada se deja en reposo para permitir su relajación. Durante esta fase la masa se encoge y aumenta su espesor, por lo que el grosor de la lámina depende del calibre de los rodillos y de la relajación consentida. La principal razón de la relajación es controlar la forma de la *cookie* luego de la cocción.

La cocción se realiza en horno durante 2,5-15 minutos y produce una disminución de la densidad de las piezas, desarrollando una estructura abierta y porosa debido a los cambios producidos durante la cocción, como hinchamiento, gelificación del almidón, desnaturalización de las proteínas, liberación de gases, expansión y rotura de burbujas y fusión de las grasas. El grado de humedad se reduce hasta 1-4 % y la coloración de la superficie cambia por reacciones de pardeamiento químico (Maillard y caramelización) (Mesías García y col., 2010).

### *1.6.2.b. Atributos de calidad*

Las harinas idóneas para producción de *cookies* provienen de variedades de trigo denominadas “trigo blando” y se caracterizan por poseer baja capacidad de retención alcalina de agua y un bajo contenido de proteínas que producen además un gluten débil y extensible. Estas variedades no son sembradas en nuestro país, por lo que las *cookies* son producidas con harinas provenientes de las mismas variedades de trigo utilizadas en la elaboración de pan (Barrera y col., 2012). La industria galletitera argentina utiliza harinas provenientes de trigo pan de baja calidad, a las que se le incorporan aditivos específicos para controlar la formación de gluten, o se producen modificaciones en los procesos de elaboración (Moiraghi y col., 2005).

El método más aceptado para evaluar la calidad de una harina es la elaboración del producto utilizando una formulación y proceso de elaboración estandarizados. Las piezas obtenidas son posteriormente evaluadas, siendo necesario, para que el desarrollo de un nuevo alimento sea exitoso, evaluar la factibilidad de incorporación de ingredientes alternativos en los aspectos nutricionales, tecnológicos y sensoriales.

El diámetro y el espesor de las unidades son factores tecnológicos importantes. Una HT se considera que tiene buena calidad cuando produce *cookies* de gran diámetro, asignándole la mejor calidad a aquellas que producen piezas con mayor diámetro y mínimo espesor.

La calidad organoléptica se evalúa mediante paneles de evaluadores sensoriales que toman en cuenta distintos atributos. Respecto al color se busca que sea levemente tostado y homogéneo, la estructura se considera óptima cuando hay presencia de láminas o capas, la base debe presentar un color homogéneo y sin ondulaciones y la superficie de la pieza no debe poseer ampollas. También son evaluados el levantamiento o espesor, la fragilidad al romperla con las manos, la masticabilidad y por último, el sabor (Pérez y col., 2008).

En los últimos años se ha avanzado en la utilización de técnicas instrumentales que permiten la medición de parámetros relacionados con características sensoriales de alimentos, tales como propiedades reológicas y color. Estos métodos permiten obtener resultados reproducibles y manejables estadísticamente, independizándose de la subjetividad de los evaluadores sensoriales.

### *1.6.2.c. Utilización de harina de soja en cookies*

La incorporación de HS en *cookies* como forma de mejorar la calidad proteica de la HT ha sido estudiada ampliamente. La mayor parte de los trabajos realizados se basan en la utilización de HS desgrasada, subproducto del proceso de extracción de aceite de soja.

Tsen y col. (1973) encontraron que el agregado de harina entera, harina desgrasada y concentrado proteico de soja genera una reducción del diámetro y aumento de la altura de las *cookies* respecto a la pieza control, esta influencia aumenta en forma progresiva con el agregado de estos ingredientes. La harina entera muestra una menor influencia en todos los niveles, presumiblemente debido a su mayor contenido de grasa y menor contenido proteico. El agregado de surfactantes reduce el efecto de los derivados de soja. El autor explica este hecho argumentando que los surfactantes retardan la gelatinización del almidón permitiendo a la *cookie* expandirse durante más tiempo antes de afirmarse. Sin embargo, esta explicación se contradice con estudios posteriores que indican que la gelatinización del almidón no se produce durante el horneado de *cookies* debido al alto contenido de azúcar y bajo porcentaje de agua en la formulación (Chevallier y col., 2000; Kulp, 1994)

Kissell y Yamasaki (1975) hallaron que la incorporación de cantidades crecientes (5, 7,5 y 10 %) de HS produce una disminución del diámetro y calidad de la superficie en *cookies*, aunque los mismos parámetros parecen mejorar al agregar un 1 % de lecitina de soja.

McWatters (1978) reemplazó HT por HS desgrasada en *cookies*, trabajando con niveles de reemplazo de 10, 20 y 30 %. La masa obtenida con los niveles más altos (20 y 30 %) fue más seca y desgranable que la testigo. Los productos elaborados con estos reemplazos presentaban un diámetro reducido, mayor altura y dureza. Además exhibían un color más oscuro a pesar de que el tiempo de horneado fue el mismo. Los análisis sensoriales mostraron que las piezas presentaban puntajes más bajos respecto a la testigo, en los atributos apariencia, textura y sabor, como consecuencia a su espesor, dureza y

sabor a “poroto”.

Singh y col. (2000) elaboraron *cookies* fortificadas con HS utilizando niveles estandarizados de ingredientes y emulsionantes (SSL y/o GMS). Los autores analizaron la composición química, digestibilidad *in vitro* y la relación de eficacia proteica (PER). El agregado de 20 % de HS a la formulación incrementó el contenido de proteínas, cenizas, fibra cruda, calcio, hierro, azúcares (reductores y no reductores) y los niveles de lisina en la pieza. Así mismo, hallaron que los valores de digestibilidad *in vitro* de las galletas control y con soja resultaron 68,46 y 83,82 %, respectivamente. El valor de PER en las *cookies* con soja mejoró en gran medida, lo que fue atribuido a los niveles más altos de proteínas y contenido de lisina en la HS desgrasada.

Singh y Mohamed (2007) encontraron que la incorporación de HS en *cookies* destinadas a dietas bajas en carbohidratos producía una evidente mejora en la calidad nutricional sin afectar la dureza y la actividad de agua de las mismas. Sin embargo, mientras que un alto grado de sustitución tiene influencia negativa en los atributos sensoriales, el uso de bajos porcentajes (hasta 10 %) no produce cambios significativos. El uso de HS hasta 10 % de sustitución para la elaboración de galletitas, tipo *cookies*, no produce cambios en los atributos sensoriales, mientras que un mayor grado de sustitución presenta una influencia negativa. Estos problemas se relacionan principalmente con el aumento en la absorción de agua (Singh y Mohamed, 2007; Akubor, 2005).

Pérez y col. (2008) estudiaron el efecto de la incorporación de HS y proteínas del suero sobre los parámetros de calidad de *cookies*, logrando una formulación con un contenido y calidad proteica superior a las formulaciones comerciales y con aceptable calidad sensorial. El incremento del contenido de agua en la formulación tuvo como efecto un aumento de los valores de lisina disponible por provocar un retardo en el desarrollo de la reacción de Maillard, siendo 23 % su óptimo de utilización. Los valores óptimos de reemplazos con HS y WPC fueron de 13 % y 3 % respectivamente. Los autores concluyen que la incorporación de HS en *cookies* permite un aumento tanto del contenido proteico como de la calidad de la proteína resultante, mientras que, el agregado de WPC produce un aumento del contenido proteico pero genera una importante disminución de la calidad de estas proteínas debido a la pérdida de disponibilidad de lisina.

Finalmente, la sustitución de HT por HS afecta el desarrollo de la reacción de Maillard. Pérez y col. (2013) corroboraron que la incorporación de HS tuvo un efecto significativo en el desarrollo de color aunque no afecta la pérdida de lisina disponible.

Además los autores señalaron, en contraposición a los antecedentes bibliográficos, que la incorporación de HS genera masas más viscosas o tenaces, las cuales ofrecen mayor resistencia a la expansión producida durante el horneado por el efecto de los leudantes químicos presentes en la masa. Esto produciría un menor levantamiento de la masa y por lo tanto daría lugar a un producto horneado de menor espesor. La diferencia entre los resultados obtenidos por estos investigadores y los arriba mencionados podría deberse a la diferente formulación utilizada.

#### *1.6.2.d. Utilización de harina de arveja en cookies*

Los antecedentes de utilización de HA en la elaboración de *cookies* son escasos. Sin embargo, en los últimos años, mundialmente se ha renovado el interés en el uso de la arveja en productos con valor agregado.

Kamaljit y col. (2010) elaboraron *cookies* con dos niveles de reemplazo de HA (5 y 10 %) con el objetivo de mejorar la calidad nutricional del producto. Al analizar las características de elaboración y los atributos sensoriales de las piezas determinaron que el agregado de HA produjo un incremento en la absorción de agua y disminución en la pegajosidad de la masa. Así mismo, observaron una disminución en el diámetro de la *cookie*. La puntuación sensorial para las galletitas con el nivel más bajo de HA fue comparable con la testigo, por lo que concluyeron que se puede mejorar la calidad nutricional de *cookies* a través de la incorporación de un 5 % de HA sin afectar la calidad sensorial del producto.

#### *1.6.2.e. Utilización de concentrado de proteínas del lactosuero en cookies*

Las investigaciones sobre el potencial uso de WPC como ingrediente en *cookies* son limitadas cuando se las compara con las realizadas sobre otros ingredientes proteicos de origen vegetal.

Kulp y Olewnik, (1989) reportaron que la utilización de WPC en la masa de *cookies* produjo un incremento en el diámetro de las mismas y un color más oscuro. Por su parte, Kadharmestan y col. (1998) obtuvieron similares resultados utilizando el WPC sin tratamiento alguno. Sin embargo con la utilización de ese mismo WPC pero sometido a tratamiento térmico hallaron una reducción en el diámetro de las piezas elaboradas.

Como se analizó anteriormente, Pérez y col. (2008) evaluaron el efecto del

mejoramiento proteico sobre los parámetros de calidad nutricional en *cookies* y observaron que el agregado de WPC produce un aumento del contenido proteico pero genera una importante disminución de la calidad de estas proteínas asociada a la pérdida en la disponibilidad de lisina.

Al evaluar el efecto del agregado de WPC en el desarrollo de color en *cookies*, Pérez y col. (2013) hallaron que un aumento en el contenido de este ingrediente proteico genera una marcada reducción en los valores de luminosidad y un incremento lineal de la longitud de onda dominante. En el análisis colorimétrico se observa que todas las muestras se encuentran en la región del espectro correspondiente a las tonalidades verde-amarillentas, apreciándose un desplazamiento desde valores con un mayor componente de verde amarillento (valor mínimo de longitud de onda dominante) hasta valores que corresponden a un tono amarillo (valor máximo de longitud de onda dominante). Las variaciones de color pueden explicarse como el resultado del desarrollo de compuestos coloreados a través de la reacción de Maillard entre la lactosa del suero y los grupos amino libres de la lisina incorporada.

### *1.6.2.f. Efecto del procesamiento sobre la calidad*

Durante la cocción de *cookies* se dan una serie de condiciones que favorecen la reacción de Maillard: tratamiento térmico severo, producto de poco espesor que permite la penetración del calor a toda la masa, bajo contenido de humedad, pH neutro o levemente alcalino y presencia de proteínas y azúcares reductores.

Debido a su importancia, esta reacción ha sido estudiada en *cookies* a través de la evaluación de parámetros ópticos como luminosidad y saturación de color (Pérez y col., 2013; Chevallier y col., 2002), la destrucción de azúcares reductores en la superficie del producto (Chevallier y col., 2002) y la formación de furosina, derivada de la hidrólisis de productos de Amadori formados durante las primeras etapas de la reacción (Rada Mendoza y col., 2004).

Por un lado, el color y los sabores desarrollados durante los últimos pasos de la reacción contribuyen a la aceptabilidad de las galletas y otros productos horneados. Sin embargo, como se discutió anteriormente, las reacciones de condensación entre azúcares reductores y el grupo amino de la cadena lateral de la lisina conducen a una pérdida severa de la disponibilidad de este aminoácido limitante (Pérez y col., 2013).

## I.7. JUSTIFICACIÓN DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS

Los productos horneados son considerados excelentes vehículos para la fortificación y el agregado de valor nutritivo debido a su consumo masivo. Es sabido que los alimentos a base de cereales son pobres en proteínas y que además tienen un bajo valor biológico debido al escaso contenido de lisina. Mediante la fortificación a través de la incorporación de ingredientes ricos en proteínas de alto valor biológico, se puede aumentar el contenido proteico total así como mejorar la composición de aminoácidos esenciales del alimento. En el presente trabajo de investigación se busca incorporar materias primas no convencionales: harina de soja, harina de arveja y concentrado de proteínas del lactosuero, en productos de elevado consumo como el pan de molde y las galletitas dulces o *cookies*, para lograr obtener alimentos que puedan ser considerados de interés social, y utilizarlos como una estrategia que permita mejorar el estado nutricional de algún sector de la población.

Si bien existen trabajos previos donde estas materias primas han sido utilizadas en la formulación de productos horneados, estos estudios son escasos y no han analizado el efecto de la incorporación conjunta de los ingredientes proteicos. En este trabajo se estudiará el efecto de la incorporación individual y simultánea de los distintos sustituyentes, profundizando la evaluación del aspecto nutricional del producto elaborado. Además se analizará la influencia de variables de proceso, estudiando los cambios que pueden ocurrir en el producto final.

## ***II .OBJETIVOS***

---

### **II.1. OBJETIVO GENERAL**

El objetivo general de esta propuesta es desarrollar formulaciones para elaborar productos panificados con la incorporación de proteínas de alto valor biológico, que presenten aceptables características físicas y sensoriales, con mejores características nutricionales, analizando los cambios que puedan ocurrir durante su procesamiento.

### **II.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

**II.2.1.** Evaluar las características físico-químicas y nutricionales de las materias primas proteicas utilizadas: harina de soja, harina de arveja y concentrado de proteínas del lactouero.

**II.2.2.** Seleccionar los puntos extremos de las materias primas a utilizar a través de la realización de ensayos tecnológicos para elaboración de pan de molde y *cookies*.

**II.2.3.** Desarrollar formulaciones de pan de molde y *cookies* utilizando combinaciones de los tres ingredientes proteicos a través de la utilización de diseños experimentales de mezcla.

**II.2.4.** Evaluar las variables de proceso: tiempo de horneado, temperatura de cocción y cantidad de agua adicionada en la formulación, en los niveles de lisina disponible y parámetros físico-químicos de los productos desarrollados.

**II.2.5.** Evaluar las formulaciones óptimas de pan de molde y *cookies* desde el punto de vista fisicoquímico, nutricional y sensorial.

### ***III. MATERIALES Y MÉTODOS***

---

Como el objetivo de este trabajo fue obtener un producto accesible a la población en general y fundamentalmente para sectores con déficit nutricional, se trabajó con materias primas disponibles en el mercado.

En la elaboración de pan de molde y *cookies* se utilizó harina de trigo comercial 000 (HT); harina de soja desgrasada e inactivada (HS), provista por Ricedal Alimentos S.A. (Santa Fe-Argentina); concentrado de proteínas del lactosuero (WPC) provisto por Milkaut (Santa Fe-Argentina) y harina de arveja (HA) obtenida a partir de arveja deshidratada variedad Canadiense.

Además se utilizaron otros ingredientes de grado alimentario: azúcar refinada comercial; sal fina comercial; oleomargarina PF 36°C; polvo para hornear; leche en polvo descremada granulada de disolución instantánea y levadura prensada comercial (Calsa S.A., Argentina).

### III.1. HARINAS DE TRIGO COMERCIAL

#### III.1.1. Composición química

Para el análisis de la composición centesimal (humedad, cenizas, materia grasa y proteínas) se siguieron las técnicas de la *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012). Los carbohidratos fueron calculados por diferencia. El contenido de gluten húmedo se determinó a través de la utilización de una lavadora semiautomática basado en el método 38-12 de la *American Association of Cereal Chemists* (AACC, 2000).

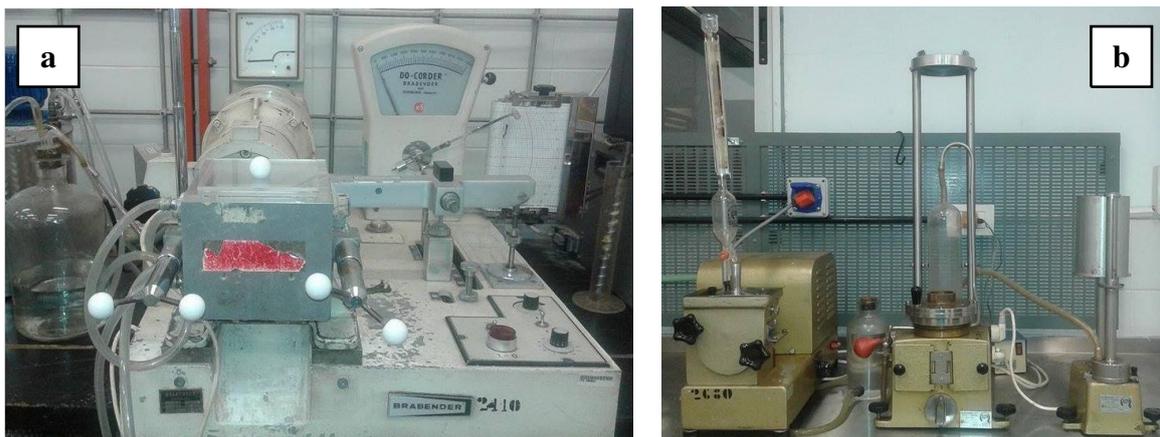
#### III.1.2. Ensayos reológicos

##### III.1.2.a. Ensayo Farinográfico

El ensayo farinográfico fue realizado según el método 54-21 de la AACC (2000). Se utilizó un farinógrafo Do-Corder Brabender (Figura III.1.a), que mide la consistencia de la masa en función del tiempo y la absorción de agua necesaria para alcanzar las 500 UB (Unidades Brabender). Los parámetros determinados con el análisis farinográfico fueron: absorción de agua (%), desarrollo de la masa (min), estabilidad (min) y ablandamiento (UB).

### III.1.2.b. Ensayo Alveográfico

El ensayo alveográfico fue realizado según método 54-30A de la AACCC (2000). Se utilizó el alveógrafo de Chopin (Figura III.1.b). Los parámetros obtenidos fueron: P (mm) altura máxima de la curva, similar a la resistencia al estiramiento; L (mL) longitud de la curva, correspondiente a la extensibilidad; y W (Joule x  $10^{-4}$ ) área bajo la curva, correspondiente al área del alveograma.



**Figura III.1. a) Farinógrafo Brabender. b) Alveógrafo de Chopin**

### III.1.3. Ensayo de panificación

Para la elaboración de pan de molde se utilizó la formulación propuesta por Tosi y col. (2002): HT (300 g), azúcar (18 g), levadura (15 g), grasa (9 g), leche en polvo (6 g), sal (6 g) y agua según absorción farinográfica (500 UB).

El ensayo se realizó siguiendo el orden que se detalla a continuación. Se mezclaron todos los ingredientes sólidos en la amasadora del farinógrafo Do-Corder Brabender a una velocidad de 60 rpm durante un minuto (Tosi y col., 2002). Se incorporó el agua de acuerdo al punto III.2.3, a una temperatura que permitió obtener al final del amasado 24-26°C en la masa. Posteriormente, se amasó durante diez minutos y la masa formada se llevó a fermentar. La primera fermentación se controló con un medidor de empuje consistente en un cilindro de vidrio (75 mm de altura por 45 mm de diámetro) con un pistón de plástico que se eleva durante la fermentación (Sánchez y col., 2003). En el mismo se colocó 25 g de masa y se llevó junto a la masa principal a cámara de fermentación a 27°C - 75 % de humedad relativa. La primera fermentación concluye cuando se duplica el volumen de la masa. Posteriormente, se dividió la masa en dos piezas

de igual tamaño, las cuales se rebollaron y se dejaron descansar por 15 minutos. Se laminó la masa, se armaron las piezas y se colocaron en moldes engrasados. La segunda fermentación se realizó en las mismas condiciones que la primera, controlando con el medidor de empuje con 25 g de masa hasta cuadruplicar el volumen inicial. A continuación las piezas se llevaron a cocción en horno rotativo Zunino (ZU-95, Argentina) a 180°C durante 25 minutos. Luego de la cocción, los panes se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 60 minutos para su posterior evaluación.

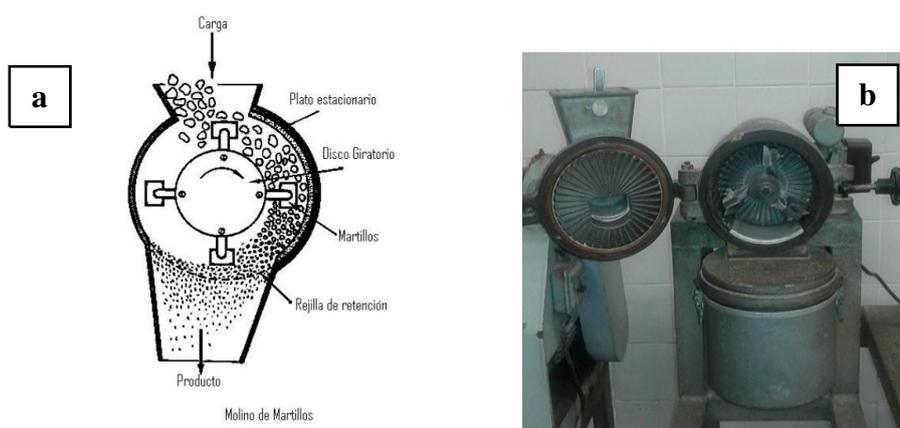
## III.2. INGREDIENTES PROTEICOS

### III.2.1. Obtención de harina de arveja inactivada

#### III.2.1.a. Inactivación de la lipoxigenasa

Para inactivar la enzima lipoxigenasa productora de aromas y sabores indeseables, se aplicó la técnica de Alasino y col. (2008). La arveja deshidratada enzimáticamente activa fue tratada térmicamente. Este tratamiento consistió en la inmersión en agua a 100°C durante 1,5 minutos y enfriamiento inmediatamente después por inmersión en agua a 20°C para luego ser secada por circulación forzada de aire a una temperatura menor a 50°C.

#### III.2.1.b. Técnica de molienda



**Figura III.2.** a) Esquema de molino a martillo. b) Molino a martillo utilizado en la molienda de arveja a escala piloto

Las arvejas secas e inactivadas fueron molidas en molino a martillo, escala piloto, con tamiz de retención marca Retsch K. G. (Figura III.2) hasta el tamaño de partícula que, en ensayos previos, demostró ser el más apropiado para panificación.

### **III.2.2. Composición química**

#### *III.2.2.a. Humedad*

El contenido de humedad de HS y HA se determinó por el método 925.10 de la AOAC (2012). El contenido de humedad del WPC se determinó según la norma FIL-IDF 26A (1993).

#### *III.2.2.b. Cenizas*

El contenido de cenizas de HS y HA se determinó por el método 923.03, mientras que para el WPC se usó el método 930.30 (AOAC, 2012).

#### *III.2.2.c. Proteínas*

El contenido de nitrógeno total se determinó por semi-micro Kjeldahl según el método 984.13 en el caso de HS y HA y el método 930.29 para el caso del WPC (AOAC, 2012). Con este valor se calculó el contenido de proteína bruta, utilizando el factor, para la conversión de nitrógeno a proteína, de 6,25 para HS y HA y 6,38 para el WPC.

#### *III.2.2.d. Materia grasa*

La determinación del contenido lipídico de HT, HS y HA se realizó según el método 920.39-C y la determinación en WPC se realizó según el método 932.06 (AOAC, 2012).

### **III.2.3. Ensayo Farinográfico**

Con el objetivo de determinar la cantidad de agua requerida para alcanzar una consistencia de 500 UB y analizar los cambios en la absorción de agua de la masa, se aplicaron ensayos farinográficos a HT sustituida con HS, HA y WPC en concentraciones que variaron del 5 al 20 %. El método utilizado es el descrito en el punto III.1.2.a de este apartado.

### III.3. PAN DE MOLDE

La formulación y procedimiento de elaboración del pan de molde se realizó según se describe en el punto III.1.3.

#### III.3.1. Elección de puntos extremos

A efectos de desarrollar un diseño experimental se realizaron los siguientes ensayos exploratorios que permitieron establecer el nivel de sustitución máximo a emplear de cada ingrediente proteico, expresado como porcentaje de sustitución de HT:

- HS en niveles de 5, 10, 15 y 20 %.
- HA en niveles de 5, 10, 15 y 20 %.
- WPC en niveles de 5, 10, 15 y 20 %.

##### III.3.1.a. Evaluación sensorial

Luego de una hora de finalizada la cocción, se evaluaron las características sensoriales de los panes a través de un panel compuesto por tres jueces expertos en calidad de productos horneados. Las muestras fueron codificadas y evaluadas en forma aleatoria.

Los puntajes máximos asignados se presentan en la Tabla III.1 (Tosi y col., 2002). Las características de cada atributo se analizaron en referencia a lo propuesto por Pylar (1973):

*Volumen específico:* existe una relación ideal entre el peso del pan y su volumen, el cual lleva a la textura y alveolado más deseable.

*Corteza:* debe ser homogénea, lisa, dorada, no contener ampollas ni quebraduras.

*Textura de la miga:* representa el grado de elasticidad o suavidad. Se determina presionando suavemente contra la superficie de la miga. La sensación producida puede ser descripta como aterciopelada, sedosa, suave, elástica o áspera, desmenuzable, aterronada y pastosa.

*Color de la miga:* es determinado visualmente en superficies recién cortadas. El color más deseable de miga es un blanco cremoso.

*Estructura:* se refiere a las características de las celdas presentes en la miga, que se revela al corte. Pueden ser de alveolado abierto o cerrado. La rebanada de pan puede exhibir un alveolo abierto uniforme, un alveolo cerrado uniforme o una combinación de

ambos. Además del tamaño, la forma de las celdas individuales también provee un criterio de evaluación.

*Aroma:* luego de cortada la pieza, se determina inhalando una porción de pan. Puede tener aroma a trigo, nuez, malta, dulce, amargo, mohoso, rancio, etc.

*Sabor:* es determinado por el gusto, fundamentalmente se refiere a las sensaciones: amargo, salado, dulce y agrio. También se evalúa aquí las características de masticabilidad del producto.

**Tabla III.1.** Atributos sensoriales evaluados en pan de molde y puntajes máximos

Atributo	Puntaje máximo
Volumen específico	15
Corteza	15
Textura de la miga	15
Color de la miga	10
Estructura	10
Aroma	15
Sabor	20
Total	100

La calificación final del pan, de acuerdo a la sumatoria de los puntajes asignados, fue de Excelente (E): 90-100; Muy bueno (MB): 80-90; Bueno (B): 70-80; Regular (R): 60-70; Malo (M): 50-60 y Muy Malo (MM): 40-50.

### III.3.1.b. Volumen específico

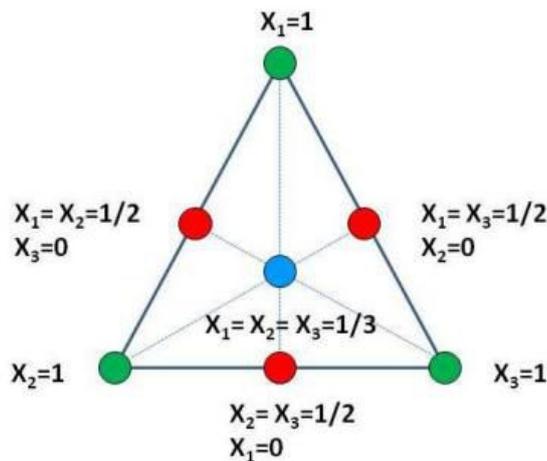
Determinado a los 60 minutos de retirados los panes del horno. El volumen del pan fue medido por el método de desplazamiento de semillas (Sánchez y col., 2003). El peso se obtuvo por pesada en balanza electrónica SP-Ohaus (2000 g x 0,1 g). El volumen específico (mL/g) se determinó a partir de la relación entre los parámetros anteriormente nombrados.

### III.3.2. Combinación de los ingredientes proteicos

A efectos de lograr un óptimo de la combinación de los ingredientes proteicos, se elaboraron panes de molde con la incorporación de HS, HA y WPC. Los niveles de reemplazo utilizados fueron los surgidos del diseño experimental, con los valores extremos

obtenidos en el punto III.3.1. Se utilizó un diseño experimental de mezcla para cuatro componentes, correspondiendo el espacio experimental a una pirámide y cada vértice un componente de la mezcla. Este diseño permite aplicar el criterio que la suma de las proporciones de los componentes es el 100 % y que por supuesto la modificación de un porcentaje afecta los otros. En la Figura III.3 se representa el espacio experimental y las concentraciones para cada componente de un diseño de mezclas, donde se observa que los vértices de la figura corresponden al 100 % del componente en estudio.

La cantidad total de la mezcla se mantiene constante y cambia la proporción relativa de los ingredientes que la componen, por lo que el comportamiento de la respuesta es definido como una función conjunta característica de los ingredientes en la mezcla (factores experimentales) y puede optimizarse mediante la técnica de la superficie de respuesta (Cornell, 2011).



**Figura III.3.** Espacio experimental para un diseño de mezcla de tres componentes

Este diseño se llamó diseño experimental 1 y las variables analizadas y sus niveles se muestran en la Tabla III.2.

Se evaluaron 38 puntos (Tabla III.3), los cuales fueron realizados de manera aleatoria. Las respuestas evaluadas fueron volumen específico, puntaje total y nivel de proteínas. La optimización del diseño consistió en maximizar el valor de las respuestas estudiadas.

**Tabla III.2.** Diseño experimental 1. Variables y niveles evaluados en la combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de pan de molde

Tipo de estudio: mezcla  
 Tipo de diseño: definido por el usuario  
 Número de experiencias: 38

Nivel mínimo	Componente	Nivel máximo
240 ≤	HT	≤ 300
0 ≤	HS	≤ 45
0 ≤	HA	≤ 60
0 ≤	WPC	≤ 30

HA: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero.

**Tabla III.3.** Diseño experimental 1. Combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de pan de molde

Mezcla	Componentes de la mezcla			
	HT	HS	HA	WPC
1	300,0	0,0	0,0	0,0
2	270,0	0,0	0,0	30,0
3	255,0	45,0	0,0	0,0
4	240,0	0,0	60,0	0,0
5	240,0	0,0	30,0	30,0
6	240,0	45,0	15,0	0,0
7	240,0	30,0	0,0	30,0
8	240,0	45,0	0,0	15,0
9	285,0	0,0	0,0	15,0
10	277,5	22,5	0,0	0,0
11	270,0	0,0	30,0	0,0
12	255,0	0,0	15,0	30,0
13	255,0	15,0	0,0	30,0
14	247,5	45,0	7,5	0,0
15	247,5	45,0	0,0	7,5
16	240,0	0,0	45,0	15,0
17	240,0	22,5	37,5	0,0
18	240,0	15,0	15,0	30,0
19	240,0	45,0	7,5	7,5
20	240,0	37,5	0,0	22,5
21	258,8	22,5	18,8	0,0
22	250,0	10,0	10,0	30,0
23	262,5	0,0	22,5	15,0
24	245,0	45,0	5,0	5,0
25	240,0	24,0	21,0	15,0
26	261,0	24,0	0,0	15,0
27	276,6	10,3	6,6	6,6
28	261,6	10,3	6,6	21,6

Mezcla	Componentes de la mezcla			
	HT	HS	HA	WPC
29	254,1	32,8	6,6	6,6
30	246,6	10,3	36,6	6,6
31	246,6	10,3	21,6	21,6
32	246,6	32,8	14,1	6,6
33	246,6	25,3	6,6	21,6
34	246,6	32,8	6,6	14,1
35	253,1	20,6	13,1	13,1
36	253,1	20,6	13,1	13,1
37	253,1	20,6	13,1	13,1
38	253,1	20,6	13,1	13,1
29	254,1	32,8	6,6	6,6
30	246,6	10,3	36,6	6,6
31	246,6	10,3	21,6	21,6

HA: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero.

### III.3.3. Variables de proceso

La formulación obtenida a través de la optimización del punto anterior (III.3.2), se sometió a la evaluación de variables de proceso. Se desarrolló un diseño factorial  $3^2$ , denominado diseño experimental 2, con dos réplicas en el punto central (11 corridas) para determinar la influencia de la temperatura y tiempo de cocción en los parámetros de color en corteza y miga, volumen, peso, volumen específico y nivel de lisina disponible (LD) del pan. Las variables y niveles evaluados se presentan en la Tabla III.4. A partir de este diseño se seleccionó el tiempo y temperatura de cocción óptimos.

Posteriormente, utilizando las condiciones de proceso optimizadas se determinó el efecto del nivel de agua en la formulación, a través de la elaboración de formulaciones de pan con  $\pm 5\%$  del nivel de agua necesario para alcanzar las 500 UB. Las respuestas analizadas en este caso fueron los parámetros de color en la corteza y los niveles de LD.

**Tabla III.4.** Diseño experimental 2. Variables y niveles evaluados en el estudio de las variables de proceso en pan de molde

Variable independiente	Niveles		
Temperatura de cocción (°C)	160	180	220
Tiempo de cocción (min)	20	25	30

### III.3.3.a. Parámetros de color

Las mediciones colorimétricas de cada muestra se realizaron utilizando un espectrofotómetro Minolta CM 508d (Minolta Co. Ltd., Osaka, Japan) con iluminante D65, ángulo de observación estándar  $10^\circ$  y componente especular excluido. Se evaluaron los parámetros correspondientes al sistema CIE:  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ . El parámetro  $L^*$  mide el grado de luminosidad ( $L^* = 100$ : blanco;  $L^* = 0$ : negro), el  $a^*$ , el grado de componente rojo o verde ( $a^* > 0$ : rojo;  $a^* < 0$ : verde) y el  $b^*$  el grado de componente amarillo o azul ( $b^* > 0$ : amarillo  $b^* < 0$ : azul) (Hunterlab, 2000). Los valores de croma ( $C_{ab}^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$ ) y tono ( $h_{ab}^* = \arctangente\ b^*/a^*$ ;  $h = 0^\circ$ : rojo;  $90^\circ$  amarillo;  $180^\circ$ : verde;  $270^\circ$ : azul) también fueron evaluados (Piagentini y col., 2012; Baixauli y col., 2008). Para la determinación de los parámetros de color en la corteza se tomaron dos panes y se efectuaron cinco mediciones por pan. Para evaluar el color en la miga se cortó una rodaja de 1 cm de espesor de cada pan y se realizaron cinco mediciones de color por rodaja. En todos los casos el valor informado correspondió al valor promedio obtenido.

### III.3.3.b. Volumen, peso y volumen específico

El volumen y peso del pan se midieron como se indicó en el punto III.3.1.b. El volumen específico (mL/g) se determinó a partir de la relación entre los parámetros anteriormente nombrados.

### III.3.3.c. Lisina Disponible

Para el análisis de la LD se utilizó el método de Carpenter (1960) modificado por Booth (1971), que involucra la reacción de Sanger.

Para ello se pesó una cantidad de muestra que correspondiera a 1,4 mg de nitrógeno, se agregaron 0,32 mL de  $\text{NaHCO}_3$  8 % p/v, se homogeneizó y se incorporó 0,492 mL de Flúor-2,4-dinitro-benceno (12 mL de etanol puro + 0,3 mL de FDNB, Sigma-Aldrich). Luego se agitó durante 2 horas al abrigo de la luz a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo se dejó destapado y en oscuridad durante 24 horas para que se evapore el etanol. Luego se agregó de a poco 8 mL de HCl 8 N y se trató en autoclave durante 1 hora a 1 atmósfera. A continuación se filtró el hidrolizado y se enrasó a 10 mL con agua destilada. Luego se colocó 2 mL de cada muestra en 2 tubos diferentes (tubo A y B), los cuales se procesaron como se describe a continuación. Los tubos A se extrajeron 3

veces con 5 mL de éter sulfúrico (Cicarelli, Argentina), se descartó el éter residual, se evaporó lo que no se pudo retirar con pipeta en baño a 80°C y se enrasó a 10 mL con HCl 1 N. Los tubos B se extrajeron 1 vez con 5 mL de éter sulfúrico, se descartó el éter residual, se agregó NaOH 12 % p/v hasta neutralizar (pH=7), 2 mL de buffer carbonato (1 M, pH=8,5), 5 gotas de metilcloroformiato (Sigma-Aldrich), se agitó, se dejó reposar 8 minutos y se agregaron 0,75 mL de HCl concentrado. La solución obtenida se extrajo 4 veces con 5 mL de éter sulfúrico, se descartó el éter residual, se evaporó lo que no se pudo retirar con pipeta en baño a 80°C y se enrasó a 10 mL con agua destilada. Las muestras se midieron en espectrofotómetro UV-visible Milton Roy Genesys 5 (Ivyland, EEUU) a una longitud de onda de 435 nm. Las lecturas A-B es la absorbancia neta atribuible a la DFN-Lis. La curva de calibrado fue realizada con un patrón de EDNP-Lis-CIH Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU) en el rango de 5 – 40 mg/L.

### **III.4. COOKIES**

#### **III.4.1. Formulación utilizada en la elaboración**

La formulación testigo utilizada se detalla a continuación: HT (100 g), azúcar (25 g), materia grasa (25 g), sal (0,8 g), polvo de hornear (1 g) y agua (35 ml).

#### **III.4.2. Procedimiento de elaboración**

El proceso de elaboración empleado fue el propuesto por Pérez y col. (2008), con modificaciones a fin de adaptarlo a las condiciones de trabajo. Los ingredientes sólidos se colocaron batidora Oster y se mezclaron durante un minuto, luego de ese tiempo se agregó el agua y se mezcló durante 6 minutos más. Posteriormente, la masa se estiró sobre una laminadora de 2 mm y se cortó con un molde de acero inoxidable circular de 4 cm de diámetro. Finalmente las piezas fueron cocinadas en horno rotativo Zunino (ZU-95, Argentina) a 220°C durante 8 minutos.

#### **III.4.3. Selección de la materia grasa a utilizar**

Para seleccionar la fuente de grasa a emplear en la formulación de las *cookies* se evaluaron aceite de maíz, aceite de girasol y oleomargarina. Las respuestas analizadas fueron sabor, rancidez e Índice de Peróxidos (IP), a los días 0, 7, 14, 21 y 70 de

almacenamiento.

#### *III.4.3.a. Parámetros sensoriales*

Se llevó a cabo la evaluación sensorial de *cookies* para determinar su aceptabilidad. El sabor se puntuó de 1 (menos favorable) a 10 (más favorable) y el descriptor sensorial para la rancidez se evaluó como detectable y no detectable (Zakrys y col., 2008). La evaluación de la calidad sensorial fue realizada por un panel de tres expertos a los días 0, 7, 14, 21 y 70 de almacenamiento.

#### *III.4.3.b. Índice de Peróxido*

El valor del IP en términos de meqO<sub>2</sub>/kg se determinó por el método 965.33 de la AOAC (2012).

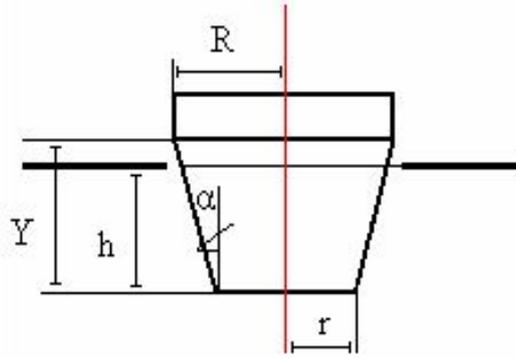
### **III.4.4. Elección de puntos extremos**

A efectos de desarrollar un diseño experimental se realizaron los siguientes ensayos exploratorios para establecer el nivel de sustitución máximo a emplear de cada fuente proteica en la elaboración de *cookies*, expresado como porcentaje de sustitución de HT:

- HS en niveles de 5, 10, 15 y 20 %.
- HA en niveles de 5, 10, 15 y 20 %.
- WPC en niveles de 5, 10, 15 y 20 %.

#### *III.4.4.a. Determinación de la consistencia de la masa*

A través de un penetrómetro Universal Model 1710 (Stanhope Seta Ltd., Surrey, England) se realizó la evaluación de la consistencia (H) de la masa. H mide la fuerza que se debe aplicar a la masa para provocar un hundimiento del instrumento en un tiempo determinado. El instrumento consiste en un cono vertical que es puesto sobre una superficie plana. El cono es liberado dentro de la muestra y la profundidad de la penetración es medida, en un intervalo de tiempo fijo de 3 segundos. Las características del dispositivo utilizado son: R = 16 mm, r = 5,5 mm y Y = 24,5 mm.



**Figura III.4.** Esquema del dispositivo empleado en la determinación de dureza

El cálculo de la consistencia se determinó según la ecuación a continuación:

$$\text{Consistencia (H)} = G/A = G \cdot 104 / [h \cdot \pi \cdot (\tan \alpha / \cos \alpha) \cdot (h + 2 \cdot r / \tan \alpha) + r^2 \cdot \pi] \cdot 103$$

Dónde:

H = consistencia (kg/cm<sup>2</sup>)

G = peso del dispositivo de penetración (g)

A = área de impresión (cm<sup>2</sup>)

h = longitud de penetración (mm)

α = medio ángulo de cono

r = radio de la parte plana del cono truncada (mm)

Datos:  $\tan \alpha = 0,4286 = R-r / Y$  (H)

$$\cos \alpha = 0,9191 = Y / \sqrt{[Y^2 + (R-r)^2]}$$

Reemplazando:

$$H = G \cdot 10 / 1,465 \cdot h^2 + 37,5991 \cdot h + 95,0331$$

Donde h y G se midieron en mm y gramos, respectivamente.

Se realizaron 10 mediciones por muestra, siendo la distancia entre dos medidas no menor a 1 cm, para evitar interferencias entre ellas. Se tomó el promedio como valor final. Este parámetro se utilizó para determinar la cantidad de agua a agregar en la formulación cuando parte de la HT fue reemplazada por los ingredientes proteicos, de manera de obtener en todos los casos una dureza de masa constante e igual a la testigo (100 % HT).

## III.4.4.b. Evaluación sensorial

Al igual que los panes, las características sensoriales de las *cookies* fueron evaluadas a través de un panel compuesto por tres jueces expertos en calidad de productos horneados. Las muestras fueron entregadas al panel en secuencia aleatoria y codificadas, de forma que ninguno de los miembros supiera a que punto correspondía cada muestra. A través de la evaluación realizada se le asignó a cada *cookie* un puntaje de 0 a 100. La Tabla III.5 muestra los atributos sensoriales evaluados y los puntajes máximos asignados a cada uno de ellos.

**Tabla III.5.** Atributos sensoriales y puntajes máximos asignados en *cookies*

Atributo	Puntaje máximo
Color	10
Textura	10
Base	10
Superficie	10
Levantamiento	10
Fragilidad	10
Masticabilidad	15
Sabor	25
Total	100

*Color:* se evalúa tanto el color del exterior como el interior. Se busca un color homogéneo.

*Textura:* es la estructura interior de la *cookie*. Se busca una estructura homogénea con alveolos de similar tamaño y eventual presencia de capas.

*Base:* es la superficie inferior de la *cookie*, la que debe poseer un color homogéneo y ausencia de ondulaciones.

*Superficie:* es la parte superior del producto, la que debe ser homogénea, lisa y sin ampollas.

*Levantamiento:* es la altura o espesor de la *cookie*.

*Fragilidad:* es la sensación percibida al romper una galletita con las manos.

*Masticabilidad:* sensación percibida al masticar.

*Sabor:* Se detectan los sabores dulce, amargo, agrio o salado y la presencia de sabores específicos otorgados por los ingredientes utilizados.

### III.4.5. Combinación de ingredientes proteicos

A efectos de lograr un óptimo en la combinación de los ingredientes proteicos, se elaboraron *cookies* con la adición de HS, HA y WPC. Los niveles de reemplazo utilizados fueron los surgidos del diseño experimental, con los valores extremos obtenidos en el punto III.4.4. Se utilizó un diseño experimental de mezcla para cuatro componentes, denominado diseño experimental 3. Las variables analizadas y sus niveles se muestran en la Tabla III.6.

**Tabla III.6.** Diseño experimental 3. Variables y niveles evaluados en la combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de *cookies*

Tipo de estudio: mezcla		
Tipo de diseño: definido por el usuario		
Número de experiencias: 32		
Nivel mínimo	Componente	Nivel máximo
75 ≤	HT	≤ 100
0 ≤	HS	≤ 25
0 ≤	HA	≤ 25
0 ≤	WPC	≤ 25

HT: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero.

Se realizaron 32 experiencias (Tabla III.7), realizadas de manera aleatoria. Las respuestas evaluadas fueron puntaje total asignado a través de la evaluación sensorial realizada por el panel de expertos y nivel de proteínas. La optimización del diseño consistió en maximizar el valor de las respuestas estudiadas.

**Tabla III.7.** Diseño experimental 3. Combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de *cookies*

Mezcla	Componentes de la mezcla			
	HT	HS	HA	WPC
1	100,0	0,0	0,0	0,0
2	75,0	0,0	0,0	25,0
3	75,0	0,0	25,0	0,0
4	75,0	25,0	0,0	0,0
5	87,5	0,0	0,0	12,5
6	87,5	0,0	12,5	0,0
7	87,5	12,5	0,0	0,0

Mezcla	Componentes de la mezcla			
	HT	HS	HA	WPC
8	75,0	0,0	12,5	12,5
9	75,0	12,5	0,0	12,5
10	75,0	12,5	12,5	0,0
11	75,0	8,3	8,3	8,3
12	83,3	8,3	8,3	0,0
13	83,3	8,3	0,0	8,3
14	83,3	0,0	8,3	8,3
15	90,6	3,1	3,1	3,1
16	78,1	3,1	3,1	15,6
17	78,1	3,1	15,6	3,1
18	78,1	15,6	3,1	3,1
19	78,1	7,3	7,3	7,3
20	82,3	7,3	7,3	3,1
21	82,3	7,3	3,1	7,3
22	82,3	3,1	7,3	7,3
23	84,4	3,1	3,1	9,4
24	84,4	3,1	9,4	3,1
25	84,4	9,4	3,1	3,1
26	78,1	3,1	9,4	9,4
27	78,1	9,4	3,1	9,4
28	78,1	9,4	9,4	3,1
29	81,3	6,3	6,3	6,3
30	81,3	6,3	6,3	6,3
31	81,3	6,3	6,3	6,3
32	81,3	6,3	6,3	6,3

*HT: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero.*

#### III.4.6. Determinación del tiempo óptimo de cocción

La formulación obtenida a partir de la optimización del diseño experimental 3 (punto III.4.5), fue utilizada para la determinación del tiempo óptimo de cocción ( $t_{op}$ ) en *cookies*. Las muestras fueron elaboradas utilizando tres niveles de agua en la formulación (23, 26 y 29 %) y tres temperaturas de horneado (190, 220 y 250°C).

Para evaluar la evolución de color, se realizaron experimentos de horneado parciales. Para ello las *cookies* fueron removidas del horno a diferentes tiempos de cocción (de 2 a 9 minutos de acuerdo con la temperatura utilizada). En cada tiempo de muestreo, se realizaron las evaluaciones sensoriales y la medición de los parámetros de color.

#### III.4.6.a. Evaluación sensorial

El panel de expertos evaluó el amarronamiento o desarrollo de color en *cookies* y determinó el  $t_{op}$  mediante una evaluación visual y textural del producto. Se utilizó como referencia el nivel de amarronamiento en *cookies* comerciales no fortificadas.

#### III.4.6.b. Parámetros de color

Los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$  fueron medidos como se detalló en el punto III.3.3.a. Se evaluaron tres *cookies* por tratamiento y se realizaron cinco mediciones por muestra.

#### III.4.6.c. Modelado matemático del cambio de color

La velocidad de cambio de los parámetros de color puede ser descrita por la siguiente ecuación general, Ec. (1):

$$\pm dQ/dt = k_q [Q]^n \quad (1)$$

Donde Q = parámetro de color; t = tiempo; n = orden de reacción;  $k_q$  = constante de velocidad de cambio para el parámetro de color Q. El signo (+) se refiere a los atributos con los valores crecientes ( $a^*$ ,  $b^*$  y  $C_{ab}^*$ ) y el signo (-) para los atributos con valores decrecientes ( $L^*$  y  $h_{ab}^*$ ).

La influencia de la temperatura de cocción sobre las constantes de velocidad de cambio ( $K_q$ ) para cada nivel de agua añadida fue descrita usando la ecuación de Arrhenius (Rozycki y col., 2007; Piagentini y col., 2005), (Ec. (2)):

$$k_q (T) = k_0 \exp [-E_a / RT] \quad (2)$$

Donde  $k_q (T)$  = cambio de la constante de velocidad para cada parámetro de color;  $k_0$  = factor preexponencial;  $E_a$  = energía de activación, [ $J \text{ mol}^{-1}$ ]; R = constante universal de los gases, [ $8,3145 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ]; T = temperatura absoluta, [K]. La  $E_a$  para cada parámetro de color en cada nivel de agua se obtuvo mediante análisis de regresión.

A partir de estos modelos se estimó el tiempo de cocción necesario para obtener los parámetros de color óptimos a distintas temperaturas y niveles de agua incorporados a la formulación de *cookies*.

III.4.6.d. *Diseño experimental*

Para predecir los  $k_q$  en función de la temperatura de cocción y el agua adicionada se aplicó además la metodología de superficie de respuesta, se asumió un modelo de regresión polinómica cuadrático, Ec. (3):

$$k_q = bk_0 + bk_1T + bk_2W + bk_{11}T + bk_{22}W + bk_{12}TW \quad (3)$$

Donde  $bk_0$ ,  $bk_i$ ,  $bk_{ii}$ ,  $bk_{ij}$  son los coeficientes de regresión y T y W las variables independientes temperatura de cocción y agua adicionada a la masa, respectivamente.

Finalmente, los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$  predichos integrando la Ec. (1) para un determinado orden de reacción y los obtenidos mediante el modelo de regresión polinómica fueron comparados con los valores experimentales y el porcentaje de error se calculó utilizando la siguiente fórmula (Ec. (4)).

$$\text{Error (\%)} = [(Q^*_{(\text{experimental})} - Q^*_{(\text{predicho})}) / Q^*_{(\text{experimental})}] \times 100 \quad (4)$$

III.4.7. **Variables de proceso**

Utilizando los  $t_{op}$  determinados en el punto III.4.6.a, se evaluó el efecto de la temperatura de cocción y cantidad de agua adicionada a la formulación (%) en los niveles de LD de la *cookie* obtenida a través de la optimización del diseño experimental 3 (punto III.4.5). Para ello, se utilizó un diseño factorial  $3^2$ , denominado diseño experimental 4, con dos réplicas en el punto central (11 corridas) (Tabla III.8). La optimización del diseño, consistió en la maximización de los valores de LD.

**Tabla III.8.** Diseño experimental 4. Variables y niveles evaluados en el estudio de las variables de proceso en *cookies*

Variable independiente	Niveles		
Temperatura de cocción (°C)	190	220	250
Agua agregada (%)	23	26	29

III.4.7.a. *Lisina Disponible*

Como se detalla en el punto III.3.3.c.

### III.5. EVALUACIÓN DE LOS PRODUCTOS (PAN DE MOLDE Y *COOKIES*) OBTENIDOS SEGÚN DISEÑOS EXPERIMENTALES 2 Y 4 (PUNTOS ÓPTIMOS)

#### III.5.1. Composición química

Para el análisis de la composición centesimal (humedad, cenizas, materia grasa y proteínas) se siguieron las técnicas de la AOAC (2012). Los CH fueron calculados por diferencia. El contenido de FD total se determinó según el método 32-05 de la AACC (2000).

##### *III.5.1.a. Determinación de Almidón Resistente*

Para el análisis de Almidón Resistente (AR) se utilizó el método de Goñi y col., (1996).

Se colocó 100 mg de muestra seca y desgrasada en tubos colectores, se agregaron 10 mL buffer KCL-HCL (pH 1,5) y se homogeneizó. Luego fueron adicionados 0,2 mL de solución de pepsina (1 g/10 mL de buffer KCL-HCL) y se incubaron durante 40 minutos en baño de agua con agitación constante. Pasado ese tiempo, se dejaron enfriar las muestras a temperatura ambiente, se agregó 9 mL de buffer Tris-maleato (pH 6,9), se colocó 1 mL de solución de  $\alpha$ -amilasa (40 mg/1 mL buffer Tris-maleato) y se dejaron 16 horas en baño a 37°C bajo agitación constante. Las enzimas empleadas fueron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU). Posteriormente, las muestras se centrifugaron durante 15 minutos a 3000 g, se descartó el sobrenadante, se lavaron con 10 mL de agua destilada, se centrifugó durante 5 minutos más y nuevamente se descartó el sobrenadante. Al residuo se agregaron 3 mL de agua destilada, 3 mL de KOH 4 M, se agitó y conservó a temperatura ambiente durante 30 minutos bajo agitación constante. Se agregó 5,5 mL de HCL 2 M y 3 mL de buffer acetato 0,4 M (pH 4,75). Por último, se agregaron 1200  $\mu$ L de enzima amiloglucosidasa y se conservaron en baño de agua con agitación a 60°C durante 45 minutos. Las muestras se centrifugaron 15 minutos a 3000 g, se recogieron en frascos volumétricos los sobrenadantes, se lavaron los residuos con 10 mL de agua destilada, se centrifugaron nuevamente durante 5 minutos más y se recuperó el sobrenadante, el cual se colocó junto con el anterior para ser finalmente llevados a 50 mL con agua destilada. Una alícuota de 1 mL se colocó en tubo de ensayo con 2 mL de reactivo del *kit* de glucosa oxidasa-peroxidasa para la determinación de glucosa (GOD-PAD, Sociedad de

Bioquímicos de Santa Fe) y se mantuvo 15 minutos en baño a 37°C. Las muestras y estándares se midieron en espectrofotómetro UV-visible Milton Roy Genesys 5 (Ivyland, EEUU) a una longitud de onda de 505 nm, contra blanco de reactivo. La curva de calibrado estándar para calcular la concentración de glucosa en las muestras fue realizada con un patrón de glucosa en el rango de 10 - 100 mg/L. El contenido de AR se calculó como mg de glucosa x 0,9.

#### *III.5.1.b. Determinación del contenido de minerales (Fe, Zn, Ca y Na)*

Para determinar la concentración de minerales se pesó una cantidad apropiada de muestra y se llevó a mufla (modelo HT N° 2403, Dalvo Argentina) a 550°C durante 4 horas. Las cenizas fueron levantadas con 10 mL de HCl 10 % (v/v). El contenido de Na se determinó por fotometría de llama y los de Fe, Zn y Ca por espectrofotometría de absorción atómica. La medición se realizó utilizando un equipo Perkin Elmer IL 551, Instrumentation Laboratory (Norwood, Massachusetts, EEUU).

### **III.5.2. Parámetros físicos**

#### *III.5.2.a. Índice de amarronamiento*

El índice de pardeamiento o *browning index* (BI) (Ec. 5) es una medida de la pureza del color marrón (Buera y col., 1985). Este parámetro ha demostrado presentar una correlación lineal con la concentración de pigmento marrón por lo que ha resultado de utilidad para la evaluación de los cambios de color en alimentos que experimentan reacciones de pardeamiento enzimático y no enzimático. En particular, en panificación ha permitido observar variaciones en el color del pan debido a modificaciones en la formulaciones empleadas (Komlenic y col., 2010; Shittu y col., 2008; Shittu y col., 2007).

$$BI = [100 (X - 0,31)] / 0,172 \quad (5)$$

Donde X está definido por la ecuación 6:

$$X = (a + 1,75 L) / (5,645 L + a - 3,012 b) \quad (6)$$

#### *III.5.2.b. Volumen específico en pan de molde*

Como se detalló en el punto III.3.1.b.

*III.5.2.c. Espesor, diámetro, y encogimiento en cookies*

El espesor se midió con un calibre Vernier metálico con división mínima de 0,2 mm. Se eligieron aleatoriamente diez *cookies* y se las midió superpuestas, ordenadas de tres maneras distintas para promediar su valor.

El diámetro de las *cookies* fue medido, con el mismo calibre, en cinco *cookies* por separado haciendo dos mediciones por *cookies* con un ángulo de 90 grados entre ambas mediciones. Se informó el valor promedio de las diez mediciones.

El encogimiento se calculó como la diferencia en el diámetro de las *cookies* antes y después del horneado.

**III.5.3. Estudio de la composición proteica**

*III.5.3.a. Perfil de aminoácidos*

El perfil de aminoácidos fue determinado según la técnica propuesta por Alaiz y col. (1992).

Una cantidad de muestra equivalente a 3-5 mg de proteína se disolvió en HCL 6,0 M con ácido D,L  $\alpha$ -aminobutírico (Sigma A1879-1G) como patrón interno. Las soluciones se gasificaron con nitrógeno y se incubaron en horno a 105°C durante 24 horas. Una vez concluida la hidrólisis, las muestras fueron trasvasadas a ampollas de rotavapor y llevadas a sequedad a 60°C. Se agregó 20 mL de buffer borato y se pasaron a un matraz de 25 mL donde fueron enrazadas utilizando el mismo buffer. Se tomaron 3 mL por muestra y se colocaron en tubos de hemólisis lavados en nítrico y se adicionó 2,8  $\mu$ L del derivatizante etoximetilenmalonato de dietilo (Sigma D94208-5G). Se incubaron en baño termostático a 50°C durante 50 minutos. Previo a la inyección, las muestras fueron filtradas utilizando filtros de jeringa de 0,22  $\mu$ m.

La determinación y cuantificación de los aminoácidos se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución. Para tal fin se utilizó un equipo HPLC Konik-KNK-500-A, acoplado a un detector Perkin Elmer 785A UV/VIS (EEUU). Las muestras se inyectaron en el sistema cromatográfico a través de un inyector manual equipado con un loop de 20  $\mu$ L. Las separaciones se lograron en una columna de fase reversa (Nova Pack C<sub>18</sub> 4  $\mu$ m - 3,9 x 300 mm) a temperatura ambiente (25°C). La resolución de los aminoácidos se llevó a cabo usando un sistema de gradiente binario. Los disolventes utilizados fueron (A) acetato de sodio 25 mM conteniendo 0,02 % de azida de sodio (pH

6,0) y (B) acetonitrilo, con un flujo de 0,9 mL/min. La adquisición y procesamiento de datos se efectuaron a través de la utilización del Software Turbochrom Navigator, Perkin Elmer (EEUU).

#### III.5.3.b. Digestibilidad proteica in vitro (%DP)

La %DP se determinó según el método de Rudloff y Lönnerdal (1992).

Se pesó 1 g de muestra molida y se agregaron 10 mL de agua, se ajustó a pH 2 con HCl 1 N, y se añadió pepsina a una concentración de 9 mg/muestra, de modo que la relación enzima/sustrato estuviera comprendida entre 1/15 y 1/20, según el contenido de proteínas de la muestra. Las muestras se mantuvieron en oscuridad, en un baño de agua con agitación a 37°C durante 30 minutos. Luego se aumentó paulatinamente el pH a 7 con NaHCO<sub>3</sub> 0,5 M, se añadieron 2,5 mL de una solución de pancreatina (4 g/100 mL de NaHCO<sub>3</sub> 0,1 M) y se incubaron durante 1 hora a 37°C. Las enzimas empleadas fueron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU). Las muestras digeridas se colocaron inmediatamente en agua hirviendo durante 4 minutos para inactivar las enzimas. Sobre una alícuota de las muestras digeridas se realizó una precipitación con TCA al 20 %. La DP se definió como el aumento de Nitrógeno No Proteico (NNP) luego de la digestión, en relación con el Nitrógeno de Proteína Verdadera (NPV), expresado como porcentaje, según la siguiente ecuación:

$$DP (\%) = 100 \times \Delta NNP / (NT - NNP)$$

#### III.5.3.c. Lisina Disponible

Se utilizó el método explicado en el punto III.3.3.a.

#### III.5.3.d. Cómputo aminoacídico o Score Químico

El *score* químico (SQ) se calculó aplicando la fórmula que se detalla a continuación. Como proteína de referencia se utilizó el patrón de requerimientos de aminoácidos indispensables para niños de 3 a 10 años (FAO, 2013).

$$SQ = \frac{\text{mg de aminoácido esencial /g proteína (estudio)}}{\text{mg de aminoácido esencial /g proteína (referencia)}}$$

*III.5.3.e. Score químico de aminoácidos corregido por digestibilidad*

El SQ de aminoácidos corregido por digestibilidad (PDCAAS) se calculó de la siguiente manera:

$$\text{PDCAAS} = \frac{\text{mg de aminoácido esencial /g proteína (estudio)}}{\text{mg de aminoácido esencial /g proteína (referencia)}} \times \%DP$$

Los valores de PDCAAS se calcularon a partir de un SQ máximo de 1, de manera de no obtener valores de PDCAAS superiores a la digestibilidad (primer limitante).

**III.5.4. Análisis sensorial**

*III.5.4.a. Evaluación sensorial con panel de expertos*

Utilizando un panel compuesto por tres evaluadores expertos, se realizó la evaluación sensorial en pan de molde según lo descrito en el punto III.3.1.a y el análisis sensorial de las *cookies* como se detalla en el punto III.4.4.b.

*III.5.4.b. Ensayo de aceptabilidad con consumidores*

Para llevar a cabo las pruebas de aceptabilidad de pan de molde y *cookies* óptimos, se aplicó una escala hedónica de cinco puntos (Tabla III.9) a evaluadores no entrenados (consumidores) que desearon participar de la prueba de manera voluntaria. En el cuestionario entregado a los participantes no se indicaron los valores numéricos, sino solo las descripciones, y luego se asignaron los valores según se detalla en la tabla para realizar la interpretación y analizar estadísticamente de los resultados. La escala cuenta con un punto central “no me gusta ni me disgusta”, punto al que se le asignó la calificación de tres. A los puntos ubicados por debajo de este valor se les asignó los valores uno (“me disgusta mucho”) y dos (“me disgusta”), indicando que la muestra no es de su agrado; en cambio a los puntos por encima se les asignó un valor de cuatro (“me gusta”) y cinco (“me gusta mucho”), correspondiente a la calificación de agrado. La planilla se completó en todos los casos de manera individual.

Para la realización de la prueba se determinaron los siguientes criterios de exclusión: personas con intolerancia al gluten, alergia a algunos de los componentes presentes en el alimento a evaluar, o individuos que estuviesen cursando un proceso

patológico agudo o crónico que pudiera interferir en los sentidos (gripe, sinusitis, alergia, etc.).

**Tabla III.9.** Escala estructurada utilizada en ensayos de aceptabilidad

Descripción	Puntuación
Me gusta mucho	5
Me gusta	4
No me gusta ni me disgusta	3
Me disgusta	2
Me disgusta mucho	1

### III.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

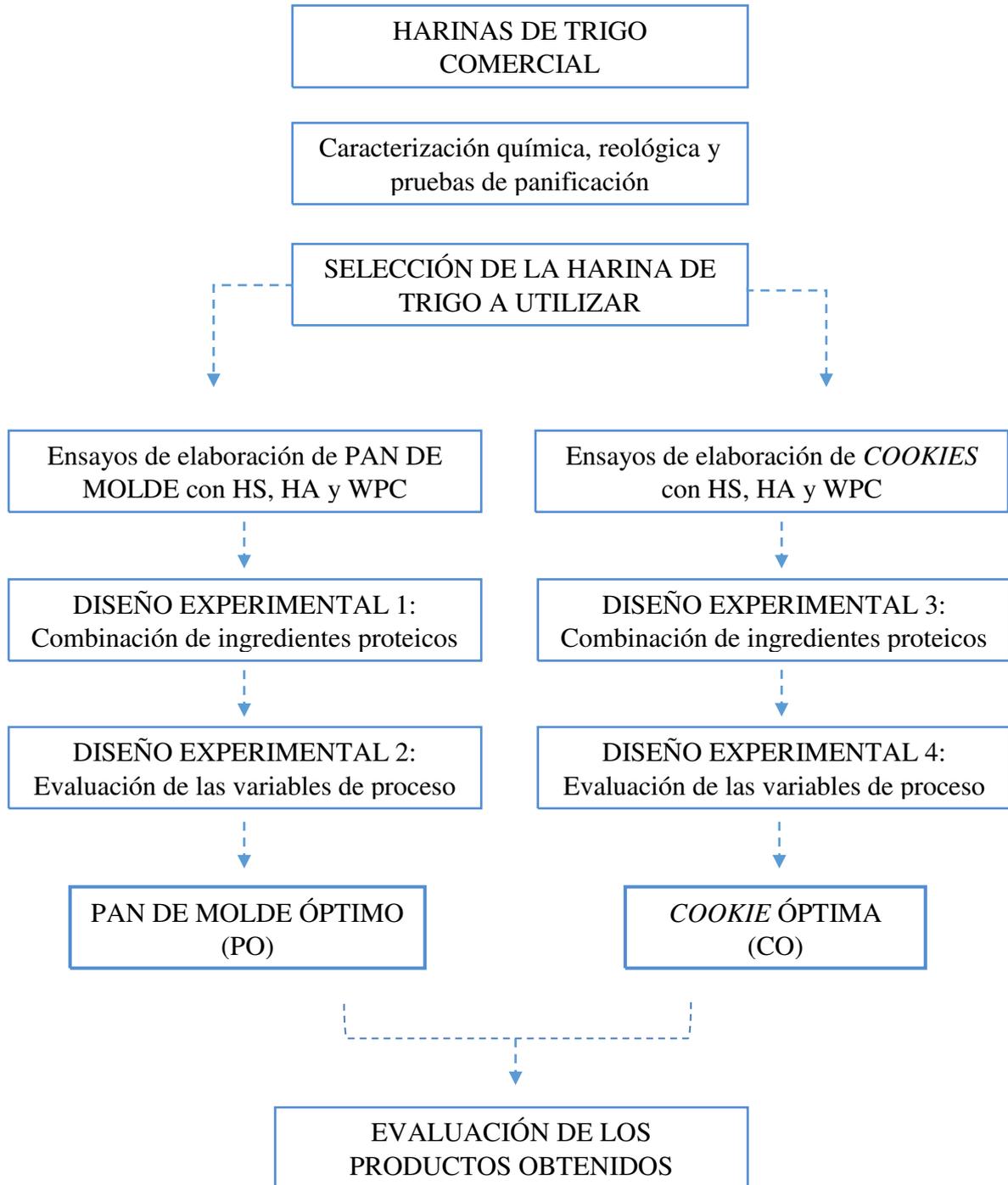
Para el estudio estadístico del presente trabajo se calculó del valor medio, desvío estándar y coeficiente de correlación de Pearson utilizando el programa Microsoft Excel 2010.

Se aplicó el análisis de la varianza (ANOVA) seguido por el test LSD (least significant difference) para comparar medias al 95 % de confianza, utilizando el programa Statgraphics Plus 5.1.

Para la realización de los diseños experimentales y optimización de las respuestas se utilizó el programa Design Expert 7.0.0.

**III.7. DESARROLLO EXPERIMENTAL**

El desarrollo experimental del presente trabajo se resume en la Figura III.5.



**Figura III.5.** Desarrollo experimental del trabajo de investigación

## ***IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN***

---

## IV.1. HARINAS DE TRIGO COMERCIAL

La caracterización físico-química y reológica de las HT en estudio y la elaboración de un producto panificado a partir de éstas es la forma ideal de establecer su calidad (de la Horra y col., 2012). Teniendo esto en cuenta, para seleccionar la HT a emplear en los productos desarrollados en este trabajo de investigación, se evaluaron las características químicas, reológicas y la aptitud para dar un pan bien desarrollado en seis harinas comerciales tipo 000.

### IV.1.1. Composición química

La composición de la harina está influenciada por el sistema de molienda empleado, la tasa de extracción y la calidad de trigo utilizado para la molienda (Chavan y col., 1993).

La composición centesimal de las harinas analizadas se muestra en la Tabla IV.1. El contenido de humedad encontrado estuvo en el rango de 11,94 - 13,65 g/100 g con un valor promedio de 12,63 g/100 g. El contenido de proteínas varió de 9,33 - 10,75 g/100 g con un valor promedio de 10,03 g/100 g. El rango hallado para grasas fue entre 0,87 - 1,31 g/100 g, con un valor promedio de 1,07 g/100 g. Para el caso de las cenizas, los valores oscilaron entre 0,586 - 1,348 g/100 g, con un valor promedio de 0,797 g/100 g. Por último, el contenido de gluten húmedo estuvo entre 20,00 - 27,50 g/100 g, siendo el valor promedio de 24,16 g/100 g.

**Tabla IV.1.** Composición química de harinas de trigo comercial 000

Harina	Parámetros evaluados (g/100 g)					
	Humedad	Proteínas	Grasa	Cenizas	CH <sup>*</sup>	GH <sup>**</sup>
1	12,58 ± 0,1 <sup>b</sup>	9,88 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,87 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,632 ± 0,025 <sup>b</sup>	76,02	20,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
2	12,04 ± 0,1 <sup>a</sup>	9,33 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,02 <sup>e</sup>	0,596 ± 0,006 <sup>a</sup>	76,76	23,75 ± 0,35 <sup>ab</sup>
3	12,21 ± 0,1 <sup>ab</sup>	9,43 ± 0,98 <sup>a</sup>	1,21 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,935 ± 0,009 <sup>d</sup>	76,23	22,00 ± 0,71 <sup>ab</sup>
4	11,94 ± 0,1 <sup>a</sup>	10,71 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,91 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,684 ± 0,011 <sup>c</sup>	75,80	27,00 ± 0,00 <sup>cd</sup>
5	13,37 ± 0,2 <sup>c</sup>	10,09 ± 0,12 <sup>ab</sup>	1,11 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,348 ± 0,001 <sup>e</sup>	74,05	24,75 ± 1,06 <sup>bc</sup>
6	13,65 ± 0,1 <sup>c</sup>	10,75 ± 0,07 <sup>b</sup>	1,02 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,586 ± 0,006 <sup>a</sup>	74,04	27,50 ± 0,00 <sup>d</sup>

\* CH: Carbohidratos: calculados por diferencia. \*\* GH: gluten húmedo.

Letras distintas por columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Como se observa en la tabla, en todas las muestras estudiadas, los valores de

humedad hallados se encontraron dentro de las especificaciones del CAA en el capítulo IX (máx. 15,0 %). Este parámetro presenta importancia desde el punto de vista de la conservación de la harina, por lo que se lo considera un parámetro de calidad.

Otro aspecto muy importante en la harina es su contenido de proteínas. Las proteínas se encuentran entre los principales factores responsables de la variación en la calidad de HT, en la cual han sido reportados distintos valores, en rangos que van de 8 a 15 g/100 g. Numerosos factores, genéticos y no genéticos como las condiciones ambientales, de almacenamiento, ubicación, suelo y fertilizantes utilizados, contribuyen a esta variación (Khan y col., 2013; Wieser y Seilmeier, 1998).

El contenido de cenizas indica la eficiencia en la molienda del grano y afecta el color de la harina, que va desde un blanco cremoso a un marrón claro cuando la tasa de extracción aumenta de 70 a 85 % (Chavan y col., 1993). En general se acepta que con el aumento de la tasa de extracción, hay una mejora en la composición nutricional, aunque la calidad panadera de la harina se disminuye. Teniendo en cuenta las especificaciones realizadas para HT (CAA, cap. IX), ninguna de las muestras estudiadas se encontró dentro del rango esperado para harinas panificables, siendo las harinas 2 y 6 las muestras que presentaron los valores más bajos.

El gluten húmedo es un parámetro relevante para evaluar la calidad de la harina, siendo deseable un valor igual o mayor a 25 %. Las harinas analizadas presentaron un contenido superior al 20 %, siendo este valor máximo en las muestras 4 y 6.

#### IV.1.2. Ensayos reológicos

En la Tabla IV.2.a y IV.2.b se presentan los resultados de los ensayos reológicos aplicados.

**Tabla IV.2.a.** Ensayo farinográfico en harinas de trigo comercial 000

Parámetro	Harina					
	1	2	3	4	5	6
Absorción de agua (%)	63,8	63,2	60,0	64,4	62,0	60,0
Absorción de agua base 14 %	60,5	59,9	56,8	61,4	58,7	59,3
Desarrollo (min)	10,0	2,5	2,5	10,0	13,5	2,5
Estabilidad (min)	13,0	11,5	18,0	11,0	5,0	14,5
Ablandamiento (UB)	80	80	20	100	60	40

UB: Unidades Brabender.

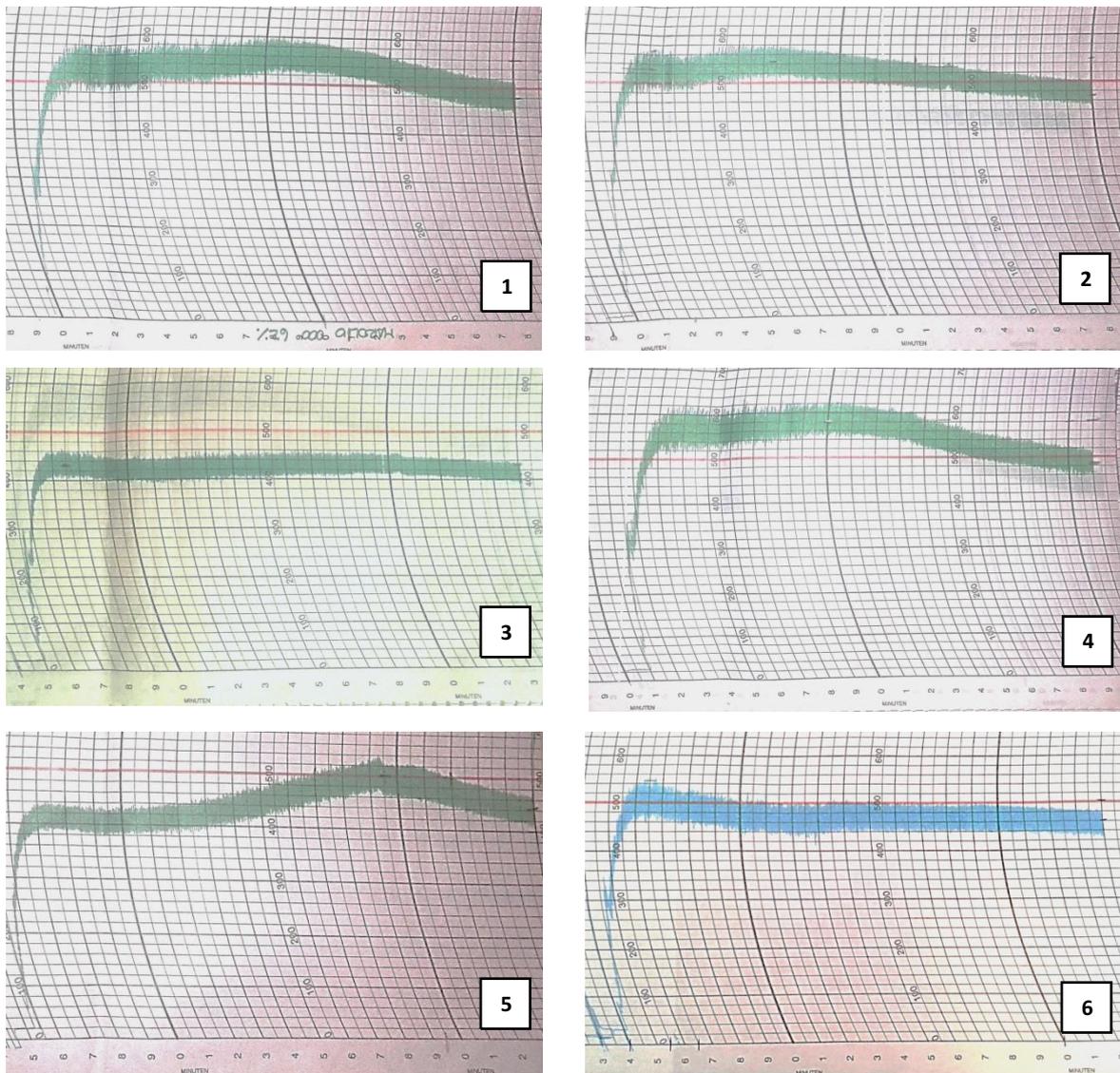
**Tabla IV.2.b.** Ensayo alveográfico en harinas de trigo comercial 000

Parámetro	Harina					
	1	2	3	4	5	6
P (mm)	129,0	83,6	91,5	109,1	136,6	110
P/L	2,7	1,1	1,5	1,5	3,0	1,2
W (10 <sup>-4</sup> Joules)	269	222	232	301	354	305

*P: Tenacidad; L: extensibilidad; W: trabajo de deformación.*

Como se observa, las muestras analizadas presentaron amplias diferencias en sus características reológicas.

IV.1.2.a. Ensayo farinográfico



**Figura IV.1.** Farinogramas obtenidos con las HT comercial 1, 2, 3, 4, 5 y 6

En la Figura IV.1 se muestran los farinogramas obtenidos de las HT comercial analizadas.

Al evaluar los parámetros farinográficos y analizar el tiempo de desarrollo, se observó que algunas harinas presentaron tiempos de desarrollo cortos ( $< 3$  min), que podrían indicar una harina débil, mientras que en otros casos, las muestras obtuvieron valores muy altos que podrían ser atribuidos a una harina fuerte. Respecto a la estabilidad, a excepción de la muestra 5, las harinas se comportaron de manera adecuada satisfaciendo los requerimientos de la industria de panificación mecanizada ( $> 8$  min) (Rubio y col., 2005). Por otro lado, las muestras 1, 2, 4 y 5 exhibieron los valores de ablandamiento más altos. De acuerdo a Rubio y col. (2005), para poder utilizarse en la elaboración de pan, estas harinas podrían requerir de la utilización de aditivos o ser mezcladas con otras harinas que mejoren esta condición, lo cual implicaría un mayor costo.

#### *IV.1.2.b. Ensayo alveográfico*

Los alveogramas revelaron que el valor de P de las muestras varió ente 83,6 - 136,6 y en todos los casos se halló una relación de P/L mayor a 1. En la Argentina se busca que las harinas destinadas a la producción de pan tengan una relación de tenacidad en función a la extensibilidad cercana a 1, lo que representa un balance entre ambos parámetros. Cuando este valor se acerca a 1 (óptimo) (Cheftel y Cheftel, 1992), la masa presenta una relación equitativa de elasticidad y extensibilidad, por lo tanto, es una masa óptima para ser utilizada en panificación (Indrani y col., 2007; Indrani y Rao 2007), siempre y cuando el trabajo de deformación (W) sea aceptable (harinas de calidad panadera presentan valores de W mayores a 250) (Cheftel y Cheftel, 1992). La fuerza panadera de las muestras analizadas, estuvo entre 222 y 354, correspondiendo estos valores a muestras de harinas con un gluten medio a fuerte.

#### **IV.1.3. Ensayo de panificación**

La forma más correcta de establecer la calidad de una harina para elaborar un determinado producto de panificación es elaborar y evaluar dicho producto. La forma tradicional de evaluación de la calidad panadera es y ha sido siempre a través del volumen de pan. Es ampliamente conocido que harinas de distinta calidad darán diferentes volúmenes de pan (de la Horra y col., 2012; Osella y col., 2008; Alasino y col., 2008;

Rubio y col., 2005). Teniendo esto en cuenta, se realizaron finalmente los ensayos de panificación con las diferentes muestras de harinas comerciales para evaluar su comportamiento. Las respuestas analizadas fueron volumen específico y puntaje total asignado mediante el panel de expertos en calidad de productos panificados. La evaluación sensorial consistió en otorgar puntajes a los distintos parámetros según los valores máximos establecidos en el punto III.3.1.a. de materiales y métodos. En la Tabla IV.3 se resumen las respuestas obtenidas.

Como se observa en la Tabla, la HT 6 presentó los valores de volumen específico y puntaje total más altos.

**Tabla IV.3.** Ensayo de panificación con harinas de trigo comercial 000

Harina	Respuestas	
	Volumen específico (mL/g)	Puntaje total
1	4,35 ± 0,00 <sup>b</sup>	87,5
2	3,41 ± 0,09 <sup>d</sup>	63,2
3	4,01 ± 0,24 <sup>c</sup>	79,8
4	4,55 ± 0,06 <sup>b</sup>	86,6
5	4,89 ± 0,11 <sup>a</sup>	79,1
6	5,01 ± 0,08 <sup>a</sup>	96,5

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

El volumen de pan presentó las correlaciones más altas con proteínas ( $R^2 = 0,82$ ) y los parámetros alveográficos W ( $R^2 = 0,90$ ) y P/L ( $R^2 = 0,82$ ), siendo estas correlaciones significativas en todos los casos ( $p < 0,05$ ). Resultados similares fueron hallados por Espitia Rangel y col. (2004) y Trethowan y col. (2001), quienes analizaron la correlación de pruebas indirectas de calidad del grano con el rendimiento y calidad industrial del trigo pan. Por otro lado, el volumen específico no presentó correlación con el contenido de gluten húmedo, lo que podría estar indicando la presencia de un gluten débil (Osella y col., 2008).

#### IV.1.4. Conclusiones parciales

El agregado de ingredientes diferentes al trigo, diluye las proteínas formadoras del gluten en la harina de panadería. Por este motivo y con el propósito de mantener la calidad final del producto desarrollado, se hace necesario seleccionar una HT de alta calidad y performance panadera. La capacidad de la HT cuando se mezcla con agua para formar una masa viscoelástica requerida en ciertos productos como el pan, depende en gran medida de las propiedades fisicoquímicas de sus proteínas, siendo la calidad de las mismas más importante que su cantidad.

El conjunto de resultados hallados demostró que un sólo ensayo no es suficiente para determinar la calidad de una harina, sino que son necesarias evaluaciones complementarias que en su conjunto puedan establecer las características y aptitud panificadora de una harina. Desde un punto de vista de la panificación, el contenido total de proteínas así como la calidad del gluten, resultaron los parámetros que influenciaron en mayor medida el volumen final alcanzado por la pieza.

Los ensayos aplicados resultaron fundamentales para partir de una HT de buena calidad, capaz de tolerar la sustitución parcial con otras materias primas, sin generar un deterioro significativo en la calidad del producto final.

A partir de las pruebas realizadas se observó que las harinas disponibles en el mercado local (Santa Fe) presentaron distintas performance tecnológica. Teniendo en cuenta el análisis estadístico aplicado, para la formulación de pan de molde, se decidió trabajar con la HT comercial 6.

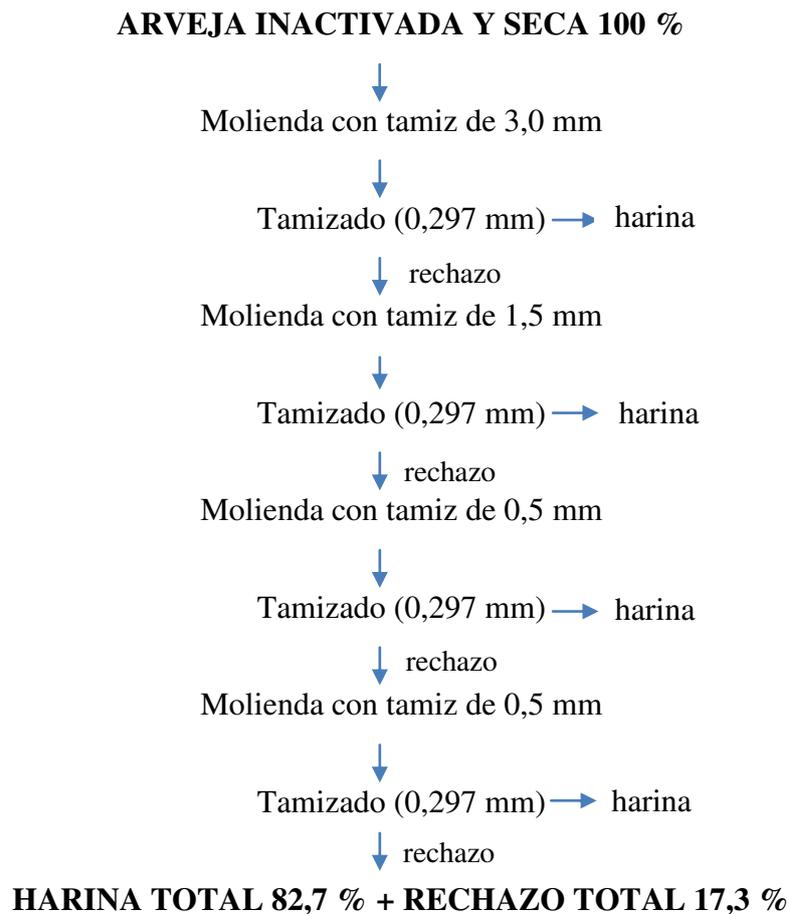
## IV.2. INGREDIENTES PROTEICOS

### IV.2.1. Harina de arveja inactivada

Previo a la molienda para su transformación en harina, se llevó a cabo un tratamiento térmico para inactivar las lipoxigenasas presentes en las arvejas. El tratamiento aplicado fue el descrito en el punto III.2.1.a de materiales y métodos.

#### IV.2.1.a. Técnica de molienda

La metodología empleada para obtener la HA consistió en realizar moliendas gruesas, intermedias y finas con tamices de retención de 3,0; 1,5; 0,5 y 0,5 mm sucesivamente. Los productos molidos fueron tamizados usando tamiz N°50. El esquema del proceso de molienda se detalla en la Figura IV.2.



**Figura IV.2.** Esquema del proceso de molienda de arveja

La técnica aplicada permitió obtener una harina con un tamaño de partícula inferior a 0,297 mm y un rendimiento de 82,7 %, más un residuo de 17,3 % de cáscara que fue descartado.

#### IV.2.2. Composición química

La composición centesimal de las materias primas utilizadas en la elaboración de pan de molde y *cookies* se detallan a continuación en la Tabla IV.4. Tanto las harinas de leguminosas como el WPC presentaron valores de proteína, materia grasa y ceniza mayores que la HT pan empleada, mientras que el contenido de humedad en los ingredientes proteicos fue significativamente menor. La HS presentó un contenido de proteínas muy superior a la HA, de hecho esta leguminosa se caracteriza por presentar un alto contenido de este nutriente, pero al ser la harina utilizada desgrasada, el contenido relativo de proteínas resultó aún mayor.

**Tabla IV.4.** Composición química de las materias prima utilizadas en la elaboración de pan de molde y *cookies*

Materia prima	Parámetros (g/100 g)				
	Humedad	Proteínas	Grasa	Cenizas	CH*
HT	13,65	10,75	1,02	0,586	74,04
HS	7,50	45,12	1,31	5,935	40,13
HA	9,60	20,83	1,76	2,625	65,18
WPC	6,75	30,34	2,70	6,290	53,96

\* CH: carbohidratos, calculados por diferencia.

HT: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero.

#### IV.2.3. Ensayo farinográfico

Con el objetivo de analizar los cambios en las características física de la masa y determinar la cantidad de agua requerida para alcanzar una consistencia de 500 UB, se aplicaron ensayos farinográficos en HT sustituida con HS, HA y WPC, en concentraciones que variaron del 5 al 20 %. Los resultados se muestran en la Tabla IV.5.

La absorción de agua en la HT aumentó gradualmente con el agregado de HS, esto fue atribuido a la elevada capacidad de absorción de las proteínas de soja y al incremento en la proporción total de proteínas (Martínez y col., 2013; Roccia y col., 2009; Ribbota y col., 2005a; Basman y col., 2003). Mientras que el gluten es insoluble, aproximadamente

el 70-80 % de las proteínas de soja son solubles en agua (Senthil y col., 2002). Selvaraj y Shurpalekar (1982) encontraron resultados similares a los hallados en este estudio, al demostrar que la absorción de agua aumenta en aproximadamente un 1 % por cada incremento del 2 % de HS en la HT.

Aunque en menor medida, la absorción de agua también incrementó cuando se utilizó HA, resultados equivalentes a los hallados en investigaciones preliminares (Kamaljit y col., 2010; Alasino y col., 2008). La razón de este incremento se asocia tanto al aumento en el contenido de proteínas como en la cantidad de fibra incorporada (Kamaljit y col., 2010).

Cuando se analizó la influencia del WPC en la sustitución, se observó que la absorción de agua disminuyó, demostrando que las proteínas del WPC no interactuaron con el agua del mismo modo que las proteínas del trigo, presentando menor capacidad de absorción (Visentín y col., 2009; Indrani y col., 2007; Kenny y col., 2001; Kenny y col., 2000; Sánchez y col., 1998). El tratamiento térmico de las proteínas del suero modifica su estructura nativa compacta y plegada, estructura estable que es soluble en agua, favoreciendo la desnaturalización y el desarrollo de una estructura desplegada con solubilidad reducida (Kadharmestan y col., 1998).

**Tabla IV.5.** Resultados farinográficos de HT pura y sus mezclas con HS, WPC y HA

Materia prima	Sustitución (%)	Parámetros farinográficos		
		Absorción (%)	Estabilidad (min)	Ablandamiento (UB)
HT	-	60	14,5	40
	5	63,0	14,0	40
	10	65,0	15,0	40
	15	68,0	15,0	40
HS	20	70,0	13,5	30
	5	60,0	13,5	40
	10	61,5	12,5	50
	15	62,0	11,5	50
HA	20	63,0	11,0	60
	5	55,0	14,0	40
	10	51,0	12,5	30
	15	46,0	12,5	25
WPC	20	41,0	13,0	25

*HT: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero.*

La HS presentó el menor impacto en los parámetros farinográficos estabilidad y ablandamiento. En su mayor nivel, produjo una leve reducción en la estabilidad al sobre amasado y redujo en 10 unidades el grado de debilitamiento. Basman y col. (2003) hallaron resultados similares cuando analizaron el comportamiento de la masa con cantidades crecientes de HS, estos autores observaron un aumento en la estabilidad al suplementar hasta un 15 % de HT, mientras que el efecto opuesto ocurrió con niveles mayores de suplementación. Ribotta y col. (2005a), analizaron las propiedades reológicas de mezclas de HT y productos de soja (harina y aislados proteicos) y observaron que los parámetros farinográficos fueron afectados en mayor medida cuando se utilizaron aislados proteicos, sin embargo la incorporación de HS (con grasa y desgrasada) presentó un efecto positivo, aumentando la estabilidad y reduciendo los valores de ablandamiento en la masa. Por otro lado, Sabanis y Tzia (2009), hallaron que la estabilidad de la masa aumenta con el agregado de HS hasta niveles del 30 %, mientras que ocurre una reducción en este parámetro cuando el nivel de reemplazo utilizado es del 50 %.

Al evaluar la mezcla HT-HA, se observó que la estabilidad mostró una relación inversamente proporcional al porcentaje de sustitución; al aumentar el nivel de reemplazo, la estabilidad disminuyó, aunque esta reducción resultó ser moderada. El grado de ablandamiento aumentó con concentraciones de HA superiores al 5 %, demostrando una pérdida en la tolerancia al amasado. Al igual que en este estudio, Alasino y col. (2008) evaluaron los parámetros farinográficos en mezclas trigo-arveja, hallando cambios similares en la absorción de agua y grado de ablandamiento de la masa, aunque mayor pérdida en la estabilidad.

Los datos farinográficos indican que la sustitución de HT con WPC redujo levemente la estabilidad de la masa, así como también contribuyó con una reducción en el grado de ablandamiento. Estos resultados se diferencian a los hallados por Indrani y col. (2007), quienes observaron un incremento en la estabilidad farinográfica con niveles de reemplazo hasta 10 % de WPC y una disminución a partir de dosis de reemplazo superiores. Sin embargo, estas diferencias podrían estar asociadas al mayor contenido de proteínas (65 %) presentes en el WPC utilizado en el trabajo realizado por estos autores.

### IV.3. PAN DE MOLDE

#### IV.3.1. Elección de puntos extremos

La elaboración de pan con harinas compuestas presenta una dificultad tecnológica considerable debido a que las proteínas diferentes a las de trigo carecen de la capacidad para formar la red de gluten necesaria para retener el gas producido durante la fermentación (Gallagher y col., 2003a; Arendt y col., 2002).

Con el propósito de realizar una evaluación preliminar del efecto causado por los ingredientes proteicos en el volumen y los atributos sensoriales del pan, y así poder establecer los puntos extremos a ensayar en estudios posteriores, se elaboraron panes de molde con sustitución de HT por HS, HA y WPC en concentraciones que variaron de 5 a 20 %. Se determinó el volumen específico de los panes (mL/g) y se realizó la evaluación sensorial con un panel de expertos. Los valores medios obtenidos por atributo fueron calculados y a partir de la sumatoria de ellos se determinó el puntaje total asignado a la muestra (Tabla IV.6).

**Tabla IV.6.** Volumen específico y evaluación sensorial de pan de molde con HS, HA y WPC

Materia prima	Sustitución (%)	Respuestas		
		Vol. específico (mL/g)	Puntaje total	Calificación
HT	-	5,01 ± 0,08 <sup>a</sup>	96,5	E
	5	4,52 ± 0,01 <sup>b</sup>	95,6	E
HS	10	4,20 ± 0,07 <sup>c</sup>	91,6	E
	15	3,88 ± 0,14 <sup>cd</sup>	73,5	B
	20	3,50 ± 0,07 <sup>d</sup>	< 60	M
HA	5	4,86 ± 0,08 <sup>a</sup>	92,5	E
	10	4,75 ± 0,07 <sup>ab</sup>	86,3	MB
	15	4,48 ± 0,13 <sup>b</sup>	81,0	MB
	20	4,40 ± 0,18 <sup>b</sup>	76,5	B
WPC	5	5,05 ± 0,07 <sup>a</sup>	97,5	E
	10	3,40 ± 0,06 <sup>b</sup>	73,0	B
	15	3,32 ± 0,06 <sup>b</sup>	< 60	M
	20	-	-	-

*Letras distintas indican diferencias significativas (p < 0,05).*

Respecto a la mezcla HT-HS, la sustitución ocasionó una reducción significativa

del volumen en todos los porcentajes estudiados, hallándose la mayor reducción cuando los niveles de sustitución empleados fueron de 15 y 20 %. Podría ser que este efecto se asocie a una dilución del gluten, por el reemplazo de HT con productos que no tienen gluten, y por tanto a una menor retención del CO<sub>2</sub> producido. La mezcla de HT con HS en diferentes niveles alteró las propiedades organolépticas de los panes. La aceptabilidad global se mantuvo elevada cuando se trabajó con dosis de 5 y 10 %, sin embargo el puntaje total asignado disminuyó considerablemente con las concentraciones superiores evaluadas. La baja puntuación en los panes con altas concentraciones de HS se asoció con una menor calificación a los atributos corteza, estructura y color de la miga de pan. La obtención de un pan con miga más oscura podría asociarse a la mayor producción de la reacción de Maillard entre los azúcares reductores y proteínas (Dhingra y Jood, 2004). Otros investigadores han informado que el aumento de la suplementación de la HT con HS reduce el volumen y el volumen específico del pan drásticamente (Ndife y col., 2011; Islam y col., 2007; Rodríguez y col., 2006; Constandache, 2005), además de modificar otras características. Entre los efectos descritos se observan modificaciones de las propiedades reológicas de las masas, de la capacidad de retención de gas de éstas y de la textura del producto final (Ribbota y col., 2010; Mohamed y col., 2006; Ribbota y col., 2005a; Dhingra y Jood, 2004; Basman y col., 2003).

La HA no ocasionó modificaciones en el volumen del pan cuando se utilizaron concentraciones de 5 y 10 %, mientras que la disminución en este parámetro fue significativa cuando se emplearon dosis mayores. En cuanto al puntaje total asignado, éste disminuyó a medida que incrementaron los niveles de HA, debido a una menor puntuación en el color de la miga y sabor, sin embargo los panes obtuvieron puntajes aceptables en todos los niveles de sustitución evaluados. Una tendencia similar fue hallada por Alasino y col. (2008), quienes informaron que el aumento de HA de 5 % a 20 % de la harina total causó una disminución en el volumen de pan de 4,38 mL/g a 3,50 mL/g, así como también un deterioro en sus atributos sensoriales.

El reemplazo mínimo de WPC utilizado no ocasionó cambios en el volumen del pan, sin embargo se produjo una reducción significativa en este parámetro cuando se emplearon cantidades mayores. La aceptabilidad global, asociada a la calidad sensorial, mostró que hubo una marcada reducción en la puntuación de los panes con 10 % y 15% de WPC. Los bajos valores estuvieron asociados al desarrollo de panes con sabor y aroma indeseables, y a una menor calificación a la textura. El pan con 5 % de WPC calificó igual

al pan control (100 % HT), sin verse afectados los atributos sensoriales por el ingrediente proteico. Sin embargo, más allá de un nivel de 10 % de incorporación, el WPC produce panes sensorialmente inaceptables. Al analizar el efecto de la incorporación de WPC sobre la calidad del pan de molde, Visentín y col. (2009) hallaron bajos valores en el volumen específico y en el puntaje asignado por el panel de evaluadores, no obstante los panes presentaron una corteza agradable, de color tostado intenso, como consecuencia de una mayor eficacia en la reacción de Maillard, debido a la importante cantidad de lactosa presente. El nivel de sustitución del 20 % no fue analizado como era previsto, debido a que el pan con 15 % de reemplazo no resultó aceptable.

A partir de estos resultados, se establecieron las concentraciones máximas a utilizar en el diseño de mezcla para la combinación de ingredientes proteicos (Tabla IV.7).

**Tabla IV.7.** Niveles evaluados en la combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de pan de molde

Nivel mínimo (g)	Componente	Nivel máximo (g)	Sustitución (%)
240 ≤	HT	≤ 300	80 - 100
0 ≤	HS	≤ 45	0 - 15
0 ≤	HA	≤ 60	0 - 20
0 ≤	WPC	≤ 30	0 - 10
HT + HS + HA + WPC = 100 %			

*HT: Harina de trigo; HS: Harina de soja; HA: Harina de arveja; WPC: Concentrado de proteínas del lactosuero.*

### IV.3.2. Combinación de ingredientes proteicos

La cantidad de agua empleada en todas las formulaciones con mezclas de harinas fue la que permitió obtener una consistencia constante de 500 UB, para lo cual se tomó en cuenta los datos de absorción farinográfica (Tabla IV.5).

#### IV.3.2.a. Aplicación del diseño experimental

En la Tabla IV.8 se presentan los resultados experimentales correspondientes al volumen específico (mL/g), puntaje total asignado por el panel de expertos y nivel de proteínas expresado en g/100 g, correspondiente al diseño experimental de mezcla 1, aplicado en pan de molde.

**Tabla IV.8.** Resultados experimentales del diseño 1: combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de pan de molde

Mezcla	Componentes de la mezcla				Respuestas		
	HT	HS	HA	WPC	Vol. esp.	PT	Proteínas
1	300,0	0,0	0,0	0,0	5,01	92,17	10,30
2	270,0	0,0	0,0	30,0	3,38	69,77	12,30
3	255,0	45,0	0,0	0,0	3,85	69,38	15,52
4	240,0	0,0	60,0	0,0	4,45	72,85	12,40
5	240,0	0,0	30,0	30,0	2,56	62,68	13,35
6	240,0	45,0	15,0	0,0	3,15	61,78	16,05
7	240,0	30,0	0,0	30,0	3,80	75,40	15,78
8	240,0	45,0	0,0	15,0	3,75	64,67	16,52
9	285,0	0,0	0,0	15,0	5,15	92,83	11,30
10	277,5	22,5	0,0	0,0	4,36	88,85	12,91
11	270,0	0,0	30,0	0,0	4,75	82,25	11,35
12	255,0	0,0	15,0	30,0	3,20	64,43	12,82
13	255,0	15,0	0,0	30,0	3,05	61,82	14,04
14	247,5	45,0	7,5	0,0	4,15	75,78	15,78
15	247,5	45,0	0,0	7,5	3,32	70,13	16,02
16	240,0	0,0	45,0	15,0	3,70	70,27	12,88
17	240,0	22,5	37,5	0,0	4,21	72,50	14,22
18	240,0	15,0	15,0	30,0	2,73	58,69	14,57
19	240,0	45,0	7,5	7,5	3,29	69,87	16,28
20	240,0	37,5	0,0	22,5	3,86	71,91	16,15
21	258,8	22,5	18,8	0,0	4,61	83,16	13,57
22	250,0	10,0	10,0	30,0	2,97	69,41	13,81
23	262,5	0,0	22,5	15,0	4,81	88,26	12,09
24	245,0	45,0	5,0	5,0	3,59	61,60	16,03
25	240,0	24,0	21,0	15,0	3,31	64,93	14,82
26	261,0	24,0	0,0	15,0	4,43	86,12	14,08
27	276,6	10,3	6,6	6,6	4,80	90,57	12,16
28	261,6	10,3	6,6	21,6	3,93	76,96	13,16
29	254,1	32,8	6,6	6,6	4,13	74,72	14,77
30	246,6	10,3	36,6	6,6	4,91	79,90	13,21
31	246,6	10,3	21,6	21,6	4,41	79,90	13,69
32	246,6	32,8	14,1	6,6	4,18	80,04	15,04
33	246,6	25,3	6,6	21,6	3,10	67,50	14,90
34	246,6	32,8	6,6	14,1	4,11	78,66	15,27
35	253,1	20,6	13,1	13,1	4,65	80,28	14,03
36	253,1	20,6	13,1	13,1	4,56	81,43	14,03
37	253,1	20,6	13,1	13,1	4,51	83,03	14,03
38	253,1	20,6	13,1	13,1	4,56	77,01	14,03

Valores basados en el peso total de la harina (300 g). HT: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero; Vol. esp: volumen específico (mL/g); PT: puntaje total; Proteínas: g/100g.

En la Tabla IV.9 se muestra el análisis de varianza aplicado. Las respuestas volumen específico y puntaje total fueron ajustadas a un modelo cuadrático mientras que el contenido de proteínas ajustó a un modelo lineal de primer orden.

**Tabla IV.9.** Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 1

Fuente de variación	g.l.	Valor <i>p</i>		
		Vol. esp.	PT	Proteínas *
Modelo	9	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Mezcla lineal	3	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
AB	1	0.2363	0.0228	-
AC	1	0.0016	0.0201	-
AD	1	0.2207	0.4289	-
BC	1	< 0.0001	0.0002	-
BD	1	0.3673	0.2086	-
CD	1	0.0207	0.0209	-
Falta de ajuste	25	0,0646	0,1230	-
Coef. determinación ( $R^2$ )		78 %	77 %	100 %

\* *Proteínas (g/100g)*, el contenido en las mezclas se calculó en forma teórica a partir del contenido de los componentes puros (Tabla IV.4).

A: HT; B: HS; C: WPC; D: HA; Vol. esp: volumen específico (mL/g); PT: puntaje total.

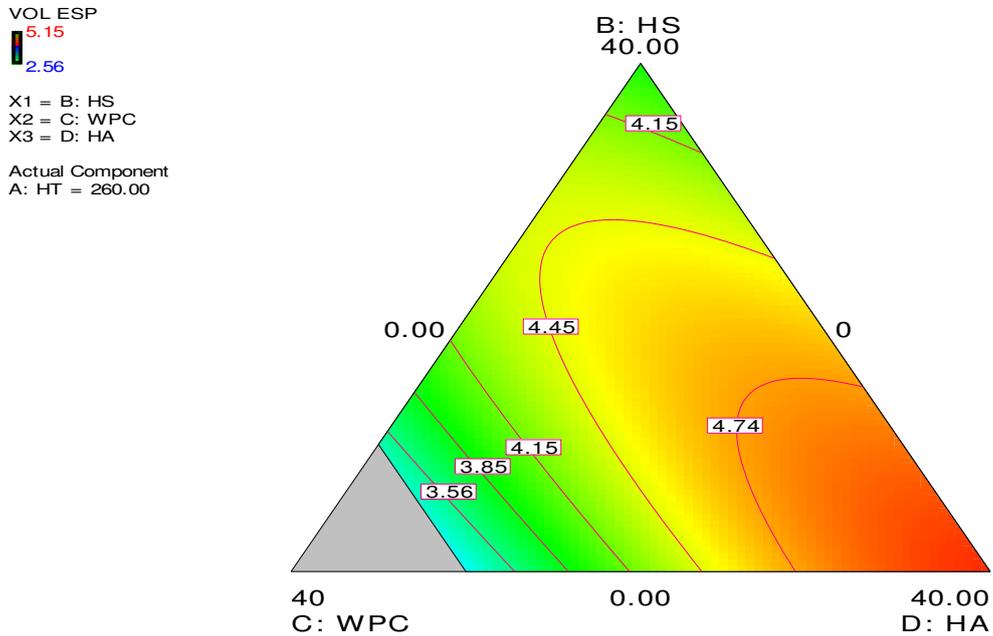
#### - Efecto de la mezcla sobre el volumen específico

El modelo cuadrático no presentó falta de ajuste y logró explicar el 78 % de la variación de los datos. La mezcla lineal de los componentes presentó un efecto significativo sobre esta respuesta, a su vez que la interacción entre distintos componentes de la mezcla resultó en algunos casos significativa, indicando la importancia de evaluar el efecto combinado de los ingredientes utilizados.

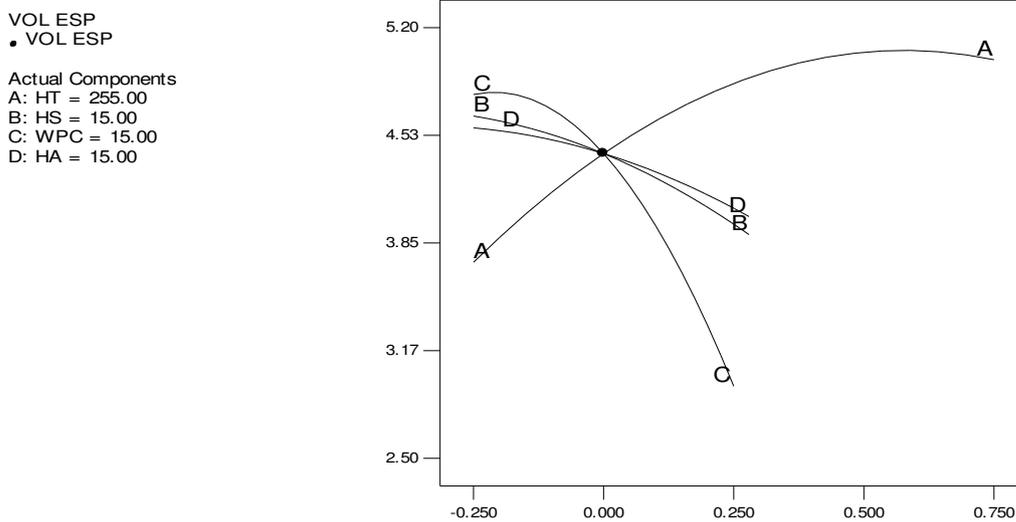
En la Figura IV.3 se presenta la gráfica de contorno para esta respuesta. Cuando se mantuvo constante el nivel de HT en la mezcla, el componente que produjo la mayor reducción en el volumen específico del pan fue el WPC, mientras que el valor de esta respuesta fue mayor al incrementar la concentración de HA en la mezcla. Esto coincide con lo observado en los ensayos de panificación preliminares, realizados con la incorporación individual de los ingredientes proteicos (Tabla IV.6).

En la Figura IV.4 se puede observar la gráfica “*trace*” que es una especie de silueta de la superficie de respuesta y representa el efecto de cambiar cada componente en una línea imaginaria a partir de una mezcla referencia (el centroide). Allí se observa claramente que los tres ingredientes adicionados produjeron una reducción en el volumen,

asociado a una dilución del gluten y menor capacidad de retención del CO<sub>2</sub> generado durante la fermentación, siendo el WPC el componente que causa mayor variabilidad en la respuesta.



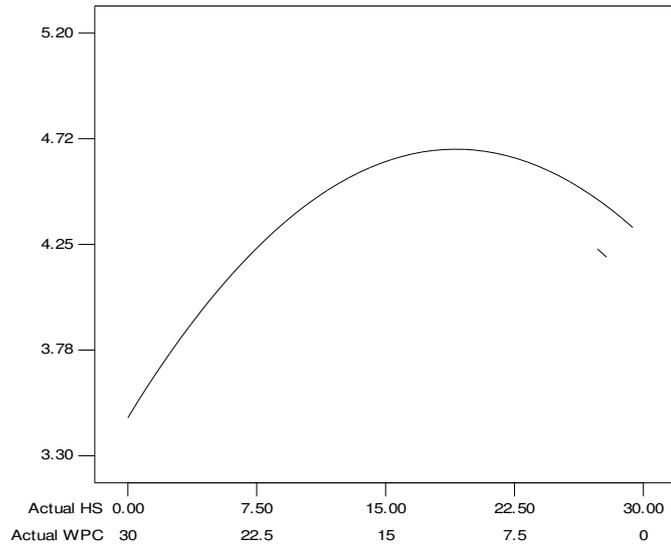
**Figura IV.3.** Gráfica de contorno para volumen específico en pan de molde



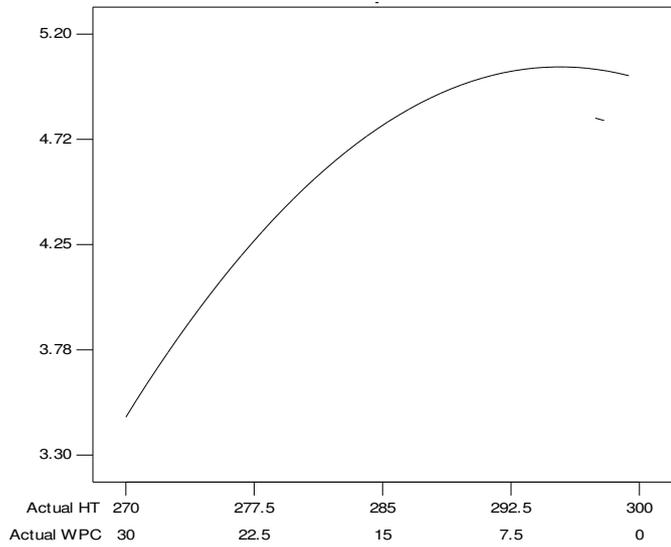
**Figura IV.4.** Gráfica "trace" para volumen específico en pan de molde

En la Figura IV.5 se presenta la gráfica de mezcla de dos componentes para las interacciones que presentaron un efecto significativo en el valor del volumen del pan.

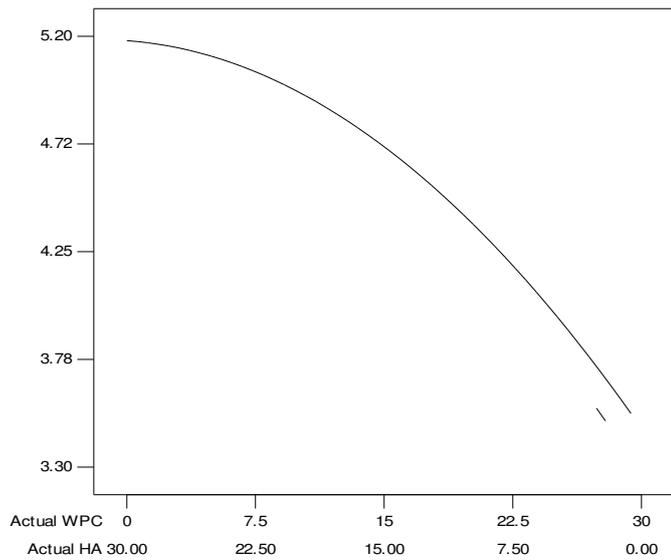
**a**



**b**



**c**

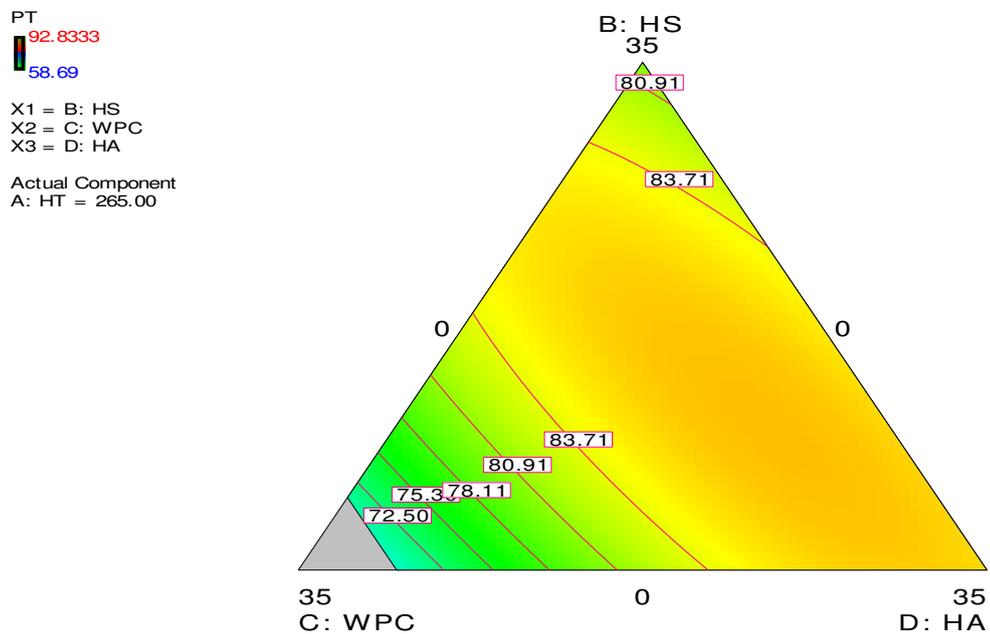


**Figura IV.5.** Gráfica mezcla dos componentes para volumen específico en pan de molde:  
**a) HS-WPC, b) HT-WPC y c) WPC- HA**

- Efecto de la mezcla sobre el puntaje total

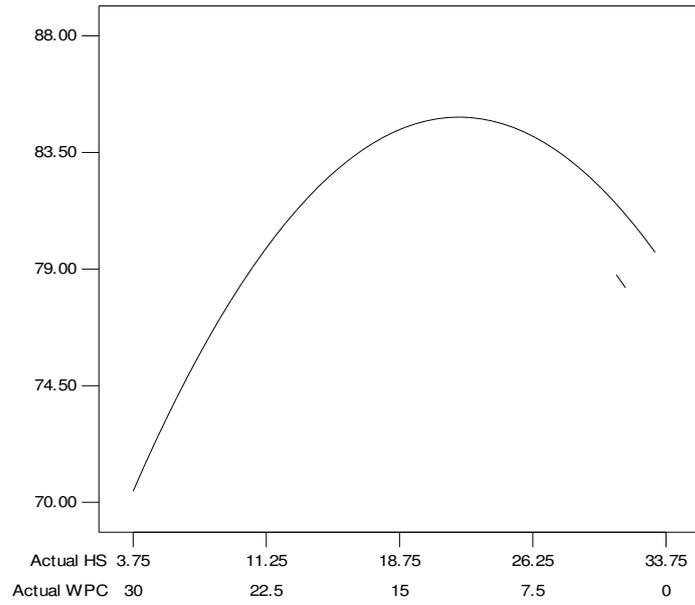
El modelo cuadrático no presentó falta de ajuste significativa logrando explicar el 77 % de la variación de los datos. La mezcla lineal de los componentes resultó significativa sobre la evaluación sensorial, así mismo, la interacción entre algunos componentes de la mezcla también presentaron un efecto significativo.

En la Figura IV.6 se presenta la gráfica de contorno para puntaje total. Al mantener constante el nivel de HT, se observó que el mínimo valor en la respuesta fue producido por la máxima concentración de WPC en la mezcla. Por otro lado, se distingue una región importante de la superficie de contorno con valores en la proximidad al óptimo.



**Figura IV.6.** Gráfica de contorno para puntaje total en pan de molde

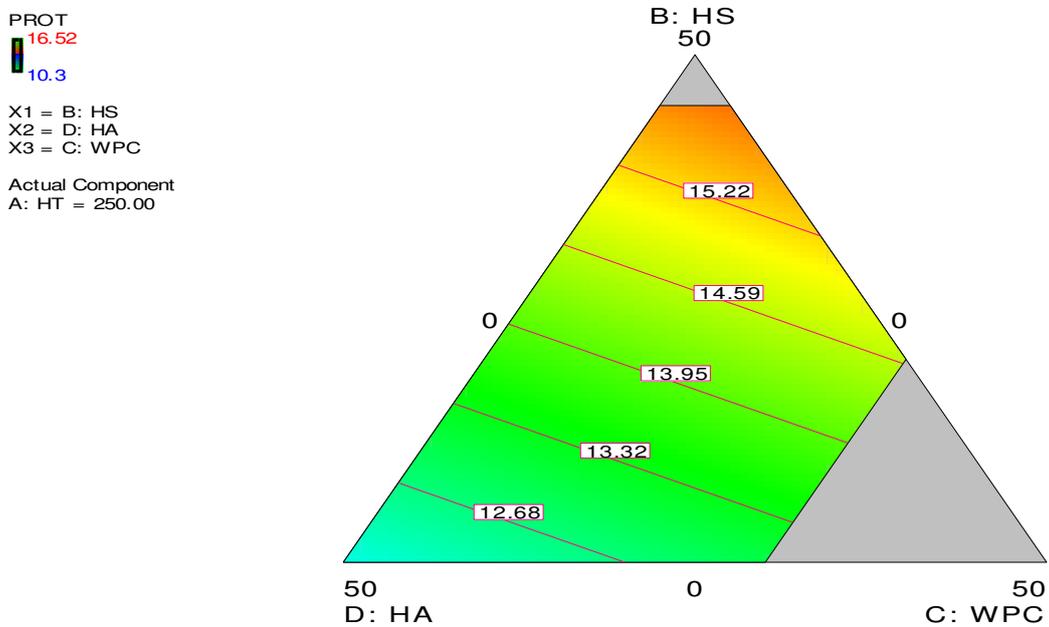
La Figura IV.7 presenta la gráfica de mezcla de dos componentes para la interacción entre HS y WPC, la cual presentó el mayor grado de significación para el puntaje total. Allí, se puede observar una maximización en el valor de la respuesta con concentraciones que varían entre 19 - 25 % de HS y 15 - 9 % de WPC. Las interacciones del WPC con HT y HA también resultaron significativas estadísticamente. Estos resultados demuestran que la influencia sobre los atributos sensoriales del pan de molde difiere cuando se utilizan los ingredientes proteicos de manera combinada y no pueden predecirse con exactitud cuando los mismos son incorporados al producto en forma individual.



**Figura IV.7.** Gráfica mezcla dos componentes para puntaje total en pan de molde: HS-WPC

- Efecto de la mezcla sobre el nivel de proteínas

En la Figura IV.8 se presenta la gráfica de contorno para esta respuesta.



**Figura IV.8.** Gráfica de contorno para proteína en pan de molde

Cuando se mantuvo constante la concentración de HT, la HS fue el componente de la mezcla que maximizó la respuesta, mientras que la HA lo disminuyó conforme aumentó su concentración. Nuevamente, estos resultados acuerdan con la composición de los ingredientes analizada anteriormente en la Tabla IV.4.

#### IV.3.2.b. Optimización del diseño experimental

Se realizó la optimización de las respuestas utilizando como criterio la maximización en los valores de volumen específico, puntaje total y proteínas. Esto se llevó a cabo maximizando la función deseabilidad de Derringer (Derringer y Suich, 1980), la cual tiene por objetivo encontrar condiciones experimentales que aseguren que todas las respuestas presentan un valor deseable (óptimo). En la Tabla IV.10 se presentan los valores mínimos y máximos obtenidos del diseño experimental 1 y los criterios usados en la función de deseabilidad para la optimización.

**Tabla IV.10.** Valores observados y criterios utilizados en la función de deseabilidad para la optimización del diseño experimental 1

Respuesta	Mínimo observado	Máximo observado	Objetivo	Impacto
Vol. esp.	2,56	5,15	Maximizar	5
PT	58,69	92,83	Maximizar	5
Proteínas	10,30	16,52	Maximizar	5

*Vol. esp: volumen específico (mL/g); PT: puntaje total.*

El valor máximo de deseabilidad hallado y las concentraciones requeridas para alcanzar estas condiciones se muestran en la Tabla IV.11.

**Tabla IV.11.** Mezcla óptima en pan de molde

Componente	Concentración	
	g	%
HT	266,5	88,8
HS	24,6	8,2
HA	0,0	0,0
WPC	8,9	3,0
Deseabilidad = 0,60		

*HT: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero.*

## IV.3.2.c. Validación de los modelos obtenidos

Para evaluar la idoneidad de los modelos para predecir los valores en las respuestas, se procedió elaborar un pan de molde como se indicó en la sección III.1.3 de materiales y métodos, con las concentraciones óptimas determinadas en el punto IV.3.2.b. En la Tabla IV.12 se presentan los valores experimentales obtenidos y los predichos por cada uno de los modelos.

**Tabla IV.12.** Validación de los modelos para pan de molde. Valores experimentales y predichos por el diseño experimental 1

Respuesta	Valor experimental	Valor predicho	Intervalo de confianza (95 %)	Error (%)*
Vol. esp.	4,63 ± 0,18	4,57	4,21 – 4,92	1,3
PT	86,20 ± 2,84	85,57	80,67 – 90,47	0,7
Proteínas	12,55 ± 0,07	13,17	13,17 - 13,17	4,7

\*  $[(Valor\ experimental - Valor\ predicho) * 100 / Valor\ predicho]$ .

Vol. esp: volumen específico (mL/g); PT: puntaje total.

Volumen específico y puntaje total presentaron errores porcentuales muy bajos y los valores experimentales hallados se encontraron dentro del intervalo de confianza correspondiente para cada una de las variables. La respuesta proteínas no presentó un rango de intervalo de confianza, ya que el contenido de las distintas mezclas se calculó de manera teórica a partir del contenido hallado en los componentes puros. El error porcentual en esta respuesta fue mayor debido a que para la determinación del valor experimental, se utilizó el factor de conversión 6,25, correspondiente a mezclas de proteínas (CAA, Cap. V).

## IV.3.3. Variables de proceso

El control de parámetros como la combinación de temperatura y tiempo durante el horneado es básicamente un problema de ingeniería que resulta crítico para la implementación exitosa de la tecnología de horneado con harinas compuestas.

## IV.3.3.a. Aplicación del diseño experimental

El efecto de la temperatura y tiempo de cocción se evaluó sobre la formulación obtenida a través de la optimización del diseño experimental 1 (IV.3.2.b.). Para ello se

aplicó un diseño factorial completo con dos factores en tres niveles, según lo indicado en el punto III.3.3 de materiales y métodos, denominado diseño experimental 2. Las respuestas evaluadas fueron parámetros de color en corteza y miga, volumen, peso, volumen específico y nivel de lisina disponible (LD).

*- Efecto de las variables de proceso sobre los parámetros de color de la corteza de pan de molde*

La medición del color en la corteza es un parámetro de calidad útil para evaluar cambios de formulación y del proceso de elaboración en productos panificados (Shittu y col., 2007).

Una primera evaluación del desarrollo de pardeamiento en la superficie del pan durante la cocción se realizó mediante inspección visual. La intensidad del color de las muestras aumentó con el tiempo de cocción, además hubo una notable influencia de la temperatura del horno, observándose una marcada diferencia en las muestras cuando se utilizó la temperatura de 200°C, donde los panes parecían estar quemados al final del proceso de cocción. Luego de la observación visual, por cada ensayo de panificación se tomaron dos panes, a los que se les efectuaron cinco mediciones de color en la corteza, informándose el valor promedio. Los resultados se resumen en la Tabla IV.13.

**Tabla IV.13.** Resultados experimentales del diseño 2: parámetros instrumentales de color en corteza de pan de molde

Variables independientes		Respuestas				
T (°C)	t (min)	L*	a*	b*	C <sub>ab</sub> *	h <sub>ab</sub> *
160	20	56,20	17,20	35,40	39,40	64,10
180	20	48,82	18,70	31,72	36,84	59,40
200	20	40,60	16,70	22,70	28,20	53,60
160	25	51,79	17,62	32,80	37,24	61,75
180	25	45,81	18,01	29,03	34,16	58,18
200	25	36,63	15,71	19,44	24,99	51,06
160	30	48,90	18,10	31,40	36,20	60,00
180	30	43,20	17,60	25,90	31,30	55,70
200	30	36,92	16,03	19,50	25,25	50,58
180	25	43,90	17,90	27,60	32,90	57,00
180	25	45,03	17,94	28,16	33,39	57,49

El resumen del análisis de varianza multifactorial realizado para los cambios de color medidos en la corteza del pan se presenta en la Tabla IV.14.

Como se esperaba, los resultados revelaron un efecto significativo de las condiciones de horneado sobre el desarrollo de color. El cambio de luminosidad en la corteza del pan fue modelado en función de los parámetros del tratamiento térmico a partir de una ecuación de primer orden, que explicó el 98 % de la variabilidad de los datos. Ambos términos resultaron significativos, presentando el valor  $L^*$  una relación lineal negativa que se tradujo, como se describió anteriormente, en el oscurecimiento de las muestras con el tiempo de cocción y el aumento en la temperatura del horno, debido a la formación de pigmentos pardos. Los panes tratados presentaron un tono rojizo, indicativo del pardeamiento, sin embargo el modelo propuesto presentó falta de ajuste ( $p = 0,0035$ ), por lo que no fue posible modelar el cambio del parámetro  $a^*$  de la corteza, en función de las variables analizadas. El componente amarillo se ajustó a un modelo lineal que explicó el 96 % de la variabilidad de los datos, este parámetro presentó una relación lineal negativa con los factores analizados, ambos significativos, indicando un aumento del pardeamiento en la muestra con el tiempo y temperatura de horneado. Tanto la cromaticidad como el ángulo de tono presentaron una relación inversamente proporcional con las variables analizadas, ambos modelos pudieron ajustarse y explicaron el 94 % de la variabilidad de  $C_{ab}^*$  y el 98 % de la variabilidad de los datos de  $h_{ab}^*$ .

**Tabla IV.14.** Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 2: parámetros instrumentales de color en corteza de pan de molde

Fuente de variación	g.l.	Valor $p$				
		$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C_{ab}^*$	$h_{ab}^*$
Modelo	2	< 0,0001	0,1190	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
A: T	1	< 0,0001	0,0483	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
B: t	1	< 0,0001	0,6642	0,0027	0,0078	0,0001
Falta de ajuste	6	0,5979	0,0035	0,2318	0,1567	0,5361
Coef. determinación ( $R^2$ )		98 %	41 %	96 %	94 %	98 %

- Efecto de las variables de proceso sobre los parámetros de color de la miga de pan de molde

El color de la miga del pan va de un tono blanco crema a marrón claro en función del tipo de harina utilizada y a la oxidación de los pigmentos carotenoides durante el amasado (Callejo, 2011).

Los parámetros de color evaluados en la miga de pan de molde a partir del diseño

experimental 2, tomaron valores de  $L^*$ : 63,34-67,91;  $a^*$ : 1,31-1,71;  $b^*$ : 16,36-18,03;  $C_{ab}^*$ : 16,41-18,10 y  $h_{ab}^*$ : 84,55-85,51. Se realizaron cinco mediciones de color por rodaja, analizando dos rebanadas de igual espesor por tratamiento. El valor informado corresponde al valor promedio obtenido (Tabla IV.15).

**Tabla IV.15.** Resultados experimentales del diseño 2: parámetros instrumentales de color en miga de pan de molde

Variables independientes		Respuestas				
T (°C)	t (min)	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C_{ab}^*$	$h_{ab}^*$
160	20	67,91	1,41	17,76	17,82	85,51
180	20	63,81	1,43	17,41	17,47	85,31
200	20	63,40	1,52	16,96	17,03	84,97
160	25	65,50	1,39	17,08	17,14	85,38
180	25	65,80	1,38	17,09	17,15	85,42
200	25	63,34	1,72	17,95	18,04	84,55
160	30	67,06	1,44	17,64	17,70	85,40
180	30	63,73	1,31	16,36	16,41	85,46
200	30	64,65	1,54	17,39	17,46	84,97
180	25	65,18	1,52	17,58	17,65	85,11
180	25	64,87	1,63	18,03	18,10	84,91

El análisis de varianza multifactorial realizado para los cambios de color medidos en la miga de pan de molde se presenta en la Tabla IV.16.

**Tabla IV.16.** Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 2: parámetros instrumentales de color en miga de pan de molde

Fuente de variación	g.l.	Valor $p$				
		$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C_{ab}^*$	$h_{ab}^*$
Modelo	2	0,0204	0,1761	0,8472	0,8535	0,0280
A: T	1	0,0067	0,0726	0,8921	0,9197	0,0094
B: t	1	0,9023	0,7882	0,5877	0,5915	0,9416
Falta de ajuste	6	0,1539	0,7049	0,4669	0,4731	0,7296
Coef. determinación ( $R^2$ )		62 %	35 %	4 %	4 %	60 %

Como se observa en la tabla, cuando se analizaron los parámetros de color en la miga en función de las variables de proceso temperatura y tiempo de horneado, sólo los modelos obtenidos para los parámetros  $L^*$  y  $h_{ab}^*$  resultaron significativos. Estos modelos lograron explicar el 62 y 60 % en la variabilidad de los datos respectivamente y en ambos

casos, de acuerdo al análisis de varianza aplicado, sólo el factor temperatura resultó ser estadísticamente significativo.

Ha sido demostrado que la medición instrumental del color en productos horneados es un parámetro de control de calidad que puede ser utilizado para determinar los efectos de los ingredientes de la formulación, variables de proceso, así como también de las condiciones de almacenamiento en productos horneados (Erkan y col., 2006; Gallagher y col., 2003a; Gallagher y col., 2003b; Sánchez y col., 1995). La mayor parte de estos trabajos han informado los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) en corteza y miga de los productos. Sin embargo, dado que el efecto de la formulación no fue analizado en este punto, las características de color de la miga resultaron menos susceptibles a variar de manera significativa en las muestras.

*- Efecto de las variables de proceso sobre el volumen, peso y volumen específico de pan de molde*

Los valores de volumen, peso y volumen específico oscilaron entre 935 a 1120 mL, 222,0 a 237,8 g y 4,16 a 4,71 mL/g, respectivamente. Las respuestas volumen y volumen específico no pudieron ser ajustadas, ya que si bien el modelo lineal con interacción no presentó falta de ajuste, en ninguno de los dos casos resultó significativo. Esto puede ser asociado a la diversidad de factores que pueden modificar estas respuestas. Dado que el pan analizado aquí ha sido producido a partir de una misma formulación, la variación en el volumen puede atribuirse a la diferente velocidad de desprendimiento de gas y el grado de gelatinización del almidón (Eggleston y col., 1993). También es importante mencionar que la capacidad de retención de humedad en la miga de pan, ya que una disminución en el contenido de humedad conduce a una reducción del volumen (Peighambardoust y col., 2010). El volumen específico, que es la relación entre el volumen y el peso, ha sido en general adoptado como una medida más fiable del tamaño del pan. Éste se ve afectado por la cantidad y calidad de la proteína en la harina (Ragae y Abdel Aal, 2006), así como también puede verse influenciado por el tiempo de leudado (Zghal y col., 2002).

El peso ajustó a un modelo de primer orden, sin falta de ajuste que explicó el 59 % de la variabilidad de los datos. El peso del pan está determinado básicamente por la cantidad de masa horneada así como por la humedad y la cantidad de dióxido de carbono que difunden durante la cocción (Shittu y col., 2007). En este estudio, el aumento de la temperatura causó una reducción significativa en el peso de la muestra, lo que indica

mayores pérdidas de agua en la pieza y menor contenido de humedad en el pan.

Otros autores han analizado el efecto de la temperatura y tiempo de horneado sobre las propiedades físicas del pan elaborado con harinas mezclas, hallando que a mayor temperatura y tiempos de cocción, ocurre una disminución del peso del pan, mientras que el efecto opuesto se observa en el volumen específico (Shittu y col., 2007). Estos autores, en contraposición a lo observado en este trabajo, hallaron efectos significativos tanto de la temperatura como del tiempo de horneado sobre las respuestas analizadas.

En la Tabla IV.17 se presentan los resultados del análisis aplicado.

**Tabla IV.17.** Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 2: volumen, peso y volumen específico en pan de molde

Fuente de variación	g.l.	Valor <i>p</i>		
		Volumen (mL)	Peso (g)	Vol. esp.
Modelo	3	0,0791	0,0293	0,1041
A: T	1	0,0370	0,0211	0,0771
B: t	1	0,4338	0,1139	0,7093
AB	1	0,1198	-	0,0696
Falta de ajuste	5	0,2652	0,0857	0,4984
Coef. determinación ( $R^2$ )		60 %	59 %	56 %

*Vol. esp: volumen específico (mL/g).*

#### - Efecto de las variables de proceso sobre los niveles de LD

A pesar de los efectos beneficiosos de la reacción de Maillard sobre la calidad sensorial de los productos alimenticios, también pueden ocurrir importantes daños nutricionales, principalmente debido a una disminución en el contenido de lisina. La lisina es el aminoácido comúnmente más reactivo hacia la reacción de Maillard debido a su grupo amino libre en la unidad de carbono épsilon, el cual puede reaccionar fácilmente con azúcares reductores (Mosqueda y Tabil, 2011). La pérdida de su disponibilidad, pudiendo llegar hasta un 50 %, es la consecuencia más significativa del progreso de esta reacción (Nguyen y col., 2014; Delgado Andrade y col., 2007).

Los primeros estudios que han permitido conocer la influencia de las distintas condiciones de temperatura y tiempo de calentamiento sobre la reacción de Maillard se han realizado en sistemas modelo. De ellos se dedujo que la disminución de la LD y el aumento de compuestos de las etapas avanzadas son mayores con el incremento de la

temperatura y del tiempo de exposición.

Es evidente que parte de la lisina se pierde durante la cocción del pan. En este caso, el contenido de LD varió de 39,2 (160°C-20 min) a 33,1 (200°C-30 min) mg/g de proteína, lo que puede traducirse en una disminución de disponibilidad de lisina en pan de molde del ~15 %, según las condiciones de horneado empleadas.

En la Tabla IV.18 se presentan los resultados correspondientes a los niveles de LD del diseño experimental 2.

**Tabla IV.18.** Resultados experimentales del diseño 2: lisina disponible en pan de molde

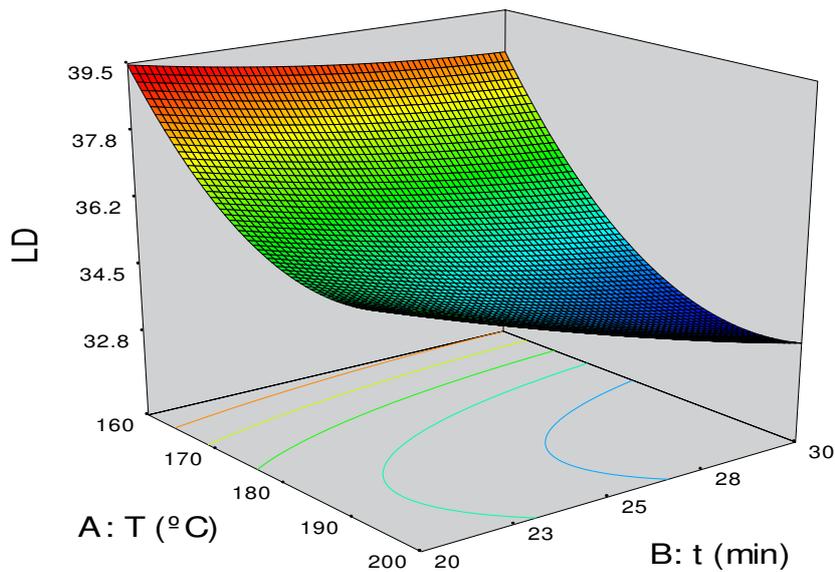
Variables independientes		Respuesta
T (°C)	t (min)	LD (mg/g prot)
160	20	39,2
180	20	36,7
200	20	35,7
160	25	38,9
180	25	34,6
200	25	35,0
160	30	38,5
180	30	33,9
200	30	33,0
180	25	34,8
180	25	34,2

El análisis de varianza aplicado en los niveles de LD en pan de molde se presenta en la Tabla IV.19.

**Tabla IV.19.** Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 2: lisina disponible en pan de molde

Fuente de variación	g.l.	Valor <i>p</i>
		LD
Modelo	5	0,0010
A: T	1	0,0002
B: t	1	0,0058
AB	1	0,1340
AA	1	0,0031
BB	1	0,6116
Falta de ajuste	3	0,1821
Coef. determinación ( $R^2$ )		97 %

La respuesta LD ajustó a un modelo cuadrático, que explicó el 97 % de la variabilidad de los datos. Los componentes lineales de ambos factores analizados presentaron una influencia altamente significativa sobre la respuesta ( $p < 0,01$ ), así como también el término cuadrático del factor temperatura. Por el contrario, la interacción y el componente cuadrático del tiempo no afectaron la respuesta. Como se puede apreciar en la superficie de respuesta de la Figura IV.9, aumentos en la temperatura y el tiempo de horneado produjeron una reducción del contenido de LD por gramo de muestra.



**Figura IV.9.** Superficie de respuesta para nivel de LD en pan de molde

Considerables daños han sido reportados en productos a base de cereales tratados térmicamente como panes, galletas, pastas y cereales de desayuno. Ya en los años '50 Rosenberg y Rohdenburg encontraron pérdidas en la disponibilidad de este aminoácido que variaron entre 9,5 y 23,8 %, como consecuencia del proceso de horneado. Por otro lado, Ramírez Jiménez y col. (2001) al evaluar el efecto del tiempo de tostado en la disponibilidad de lisina de rodajas de pan, hallaron pérdidas cercanas al 40 % en relación al pan sin tostar. Lindenmeier y Hofmann (2004), demostraron que la concentración del compuesto antioxidante pronil-lisina en productos horneados, está fuertemente asociada a los ingredientes utilizados en la formulación y las condiciones de proceso empleadas; este compuesto, que resulta de la reacción entre lisina y acetilformoína, fue hallado en grandes cantidades en la corteza del pan y su concentración aumentó en más de un 200 %, al

sustituir un 5 % de la HT por una proteína rica en lisina como la caseína, o a través de la adición de glucosa en la formulación. Recientemente, en un estudio de investigación llevado a cabo por Helou y col. (2015), se estableció que el contenido de lisina en la miga de pan se mantiene relativamente estable en el tiempo ( $319 \pm 17,9$  mg de lisina/100 g de materia seca); mientras que, en la corteza, luego de una aparente estabilidad, la pérdida de lisina exhibe una cinética de degradación de segundo orden, siendo al final de la cocción la pérdida media del 56 %. La aparente estabilidad observada en los niveles de lisina durante los primeros minutos de cocción ha sido descrita anteriormente como un período durante el cual la lisina es al mismo tiempo involucrada en la formación de los productos de la reacción de Maillard y "reciclada", después de la degradación del producto Amadori (Van Boekel, 2001).

Teniendo en cuenta antecedentes de correlación entre el contenido de LD y el índice de amarronamiento (BI) en harinas y aislados de proteínas sometidos a tratamiento térmico (Rhee y Rhee, 1981), y con la necesidad de determinar la utilidad de los parámetros de color en predecir la pérdida de lisina como consecuencia de Maillard, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre los niveles de LD y los diferentes parámetros de color analizados en la corteza de pan de molde. Los resultados se presentan en la Tabla IV.20. Los parámetros  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$  presentaron una correlación positiva significativa ( $p < 0,05$ ) con la LD, indicando que cambios en estos parámetros repercutirán en forma directamente proporcional en los valores de disponibilidad del aminoácido.

**Tabla IV.20.** Coeficientes de correlación entre LD y parámetros de color en corteza de pan de molde\*

Parámetro	LD	p-valor
$L^*$	0,84	<b>0,001</b>
$a^*$	0,29	0,379
$b^*$	0,76	<b>0,006</b>
$C_{ab}^*$	0,74	<b>0,009</b>
$h_{ab}^*$	0,79	<b>0,003</b>

\* $n = 11$ .

#### IV.3.3.b. Optimización del diseño experimental

Para la optimización del diseño se tuvieron en cuenta los datos de color en la corteza del pan y los niveles de LD. Los valores de color en la miga así como los

parámetros peso, volumen y volumen específico, no fueron utilizados debido a que no se hallaron modelos matemáticos con peso estadístico que ajustaran su variabilidad. Para determinar las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de horneado, se seleccionaron los criterios e impactos para cada una de las respuestas. Los criterios utilizados para los parámetros de color se establecieron en función de los valores hallados en el pan testigo (100 % HT) y los rangos observados como aceptables mediante inspección visual, de manera de evitar que el pan quede muy oscuro o excesivamente claro. En la Tabla IV.21 se presentan los valores mínimos y máximos obtenidos del diseño experimental 2 y los criterios utilizados en la función de deseabilidad para la optimización. Se decidió otorgar mayor impacto a la respuesta LD por ser un parámetro determinante de la calidad nutricional del producto.

**Tabla IV.21.** Valores observados y criterios utilizados en la función de deseabilidad para la optimización múltiple del diseño experimental 2

Respuesta	Mínimo observado	Máximo observado	Objetivo	Impacto
Parámetros de color				
L*	36,63	56,20	50 – 55	3
a*	15,71	18,70	15 – 18	3
b*	19,44	35,40	30 – 35	3
C <sub>ab</sub> *	24,99	39,40	35 – 40	3
h <sub>ab</sub> *	50,58	64,10	60 – 65	3
LD (mg/g prot)	33,10	39,20	Maximizar	5

El valor máximo de deseabilidad hallado y las condiciones para la optimización de las respuestas se muestran en la Tabla IV.22.

**Tabla IV.22.** Condiciones óptimas de las variables de proceso para pan de molde

Variable independiente	Nivel óptimo
Temperatura de cocción (°C)	160
Tiempo de cocción (min)	28
Deseabilidad = 0,79	

#### IV.3.3.c. Validación de los modelos obtenidos

Se procedió a validar los modelos obtenidos elaborando el pan cómo fue indicado

en la sección III.1.3 de materiales y métodos, con las concentraciones óptimas determinadas en la sección IV.3.2.b. y las condiciones de procesamiento establecidas en el punto anterior, IV.3.3.b. En la Tabla IV.23 se presentan los valores experimentales obtenidos y los predichos por cada uno de los modelos.

Teniendo en cuenta el error porcentual y que los valores experimentales hallados se encontraron dentro del intervalo de confianza correspondiente para cada una de las variables, se aceptaron los modelos obtenidos para predecir las respuestas.

**Tabla IV.23.** Validación de los modelos para pan de molde. Valores experimentales y predichos por el diseño experimental 2

Respuesta	Valor experimental	Valor predicho	Intervalo de confianza (95 %)	Error (%)*
Parámetros de color				
L*	50,55	50,00	48,86 – 51,14	1,10
a*	17,82	18,00	17,05 – 18,95	1,00
b*	32,10	32,08	30,58 – 33,59	0,06
C <sub>ab</sub> *	36,82	36,78	35,14 – 38,42	0,11
h <sub>ab</sub> *	61,15	60,75	59,99 – 61,61	0,66
LD	37,65	37,90	37,01 – 38,78	0,66

\*  $[(\text{Valor experimental} - \text{Valor predicho}) * 100 / \text{Valor predicho}]$ .

#### IV.3.3.d. Efecto del nivel de agua en la formulación

Nuevamente, se elaboró el pan como se indicó en la sección III.1.3, con las concentraciones óptimas determinadas en la sección IV.3.2.b y las condiciones de procesamiento establecidas en el punto anterior IV.3.3.b, variando en este caso la cantidad de agua adicionada a la formulación en  $\pm 5\%$  de nivel necesario para alcanzar las 500 UB.

Las respuestas analizadas fueron los parámetros de color en la corteza y los niveles de LD y se presentan en la Tabla IV.24. El análisis de varianza fue aplicado sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para las respuestas evaluadas ( $p > 0,05$ ), por lo que los parámetros de color y los niveles de LD en el pan de molde no fueron modificados por los niveles de agua empleados en la formulación.

Pérez y col. (2013) al evaluar galletitas dulces fortificadas con HS y WPC, hallaron una correlación negativa entre el contenido de agua y la pérdida de LD, indicando que un aumento en la cantidad de agua incorporada a la formulación presenta un efecto claramente beneficioso sobre la retención de lisina, al producir un retraso en el desarrollo

de la reacción de Maillard. Este efecto no fue hallado en el presente trabajo, debido posiblemente a la diferencia en la matriz evaluada y al hecho de que en el estudio realizado por Pérez y col. (2013) los niveles de agua de la formulación fueron variados en más de un 30 %, cantidades que no pueden ser estudiadas en pan debido a los inconvenientes tecnológicos que se ocasionarían.

**Tabla IV.24.** Parámetros de color y LD en pan de molde con variación en el contenido de agua de la formulación

Respuestas	Nivel de agua		<i>p</i>
	- 5 %	+ 5 %	
Parámetros de color			
L <sup>*</sup>	50,35 ± 0,82	50,85 ± 1,11	0,2913
a <sup>*</sup>	17,30 ± 0,23	17,60 ± 0,19	0,0633
b <sup>*</sup>	31,90 ± 0,58	32,00 ± 0,98	0,7848
C <sub>ab</sub> <sup>*</sup>	36,97 ± 0,57	37,28 ± 0,85	0,3936
h <sub>ab</sub> <sup>*</sup>	60,92 ± 0,50	60,41 ± 0,95	0,1980
LD	37,31 ± 0,48	37,55 ± 0,85	0,7660

#### **IV.3.4. Conclusiones parciales**

Para establecer los niveles de reemplazo máximos a utilizar en la combinación de ingredientes proteicos en pan de molde fue necesario la realización de ensayos de panificación preliminares, que permitieron establecer los límites de sustitución a partir de la evaluación de los atributos sensoriales del producto obtenido. Los valores de reemplazo máximos establecidos para los ingredientes proteicos utilizados en el presente estudio fueron 15, 20 y 10 % para HS, HA y WPC respectivamente, siendo este último el componente que perjudicó en mayor manera las características físicas del pan a medida que se avanzó en el nivel de sustitución empleado.

El diseño experimental de mezcla permitió evaluar de manera combinada los ingredientes proteicos, buscando una solución de compromiso entre calidad sensorial y valor nutricional, expresado como aporte proteico. A partir del proceso de optimización se logró una formulación de pan de molde correspondiente al punto: HT: 88,8 %, HS: 8,2 %, HA: 0 % y WPC 3 %, obteniendo de esta manera un nivel de reemplazo con harinas compuestas de 11,2 %. La solución arrojada por el diseño experimental no incorporó HA, asociado principalmente este hecho a que fue ésta, dentro de los ingredientes evaluados, la que presentó el menor aporte proteico. El pan de molde obtenido a partir de este diseño experimental presentó un volumen específico comparable al testigo (100 % HT), obtuvo una calificación MB a partir del puntaje total asignado y un valor de proteínas de 12,55 g/100 g, lo que implica un aporte del 30 % más de este nutriente que el pan elaborado con HT.

Las condiciones de proceso empleadas en la elaboración de pan de molde demostraron influencia en los parámetros físicos y sensoriales, presentando además una implicancia nutricional en el producto desarrollado. Las distintas condiciones de horneado produjeron un cambio significativo en los parámetros de color determinados en la corteza, sin embargo éstas variables presentaron menor influencia cuando el color fue evaluado en la miga del pan. De esta manera quedó demostrando que la medición de color en el interior del pan no puede ser utilizada como un parámetro de control de calidad para determinar los efectos de las condiciones de proceso.

La retención de lisina resultó altamente dependiente de la temperatura y el tiempo de cocción, presentando los valores de disponibilidad del aminoácido una relación inversamente proporcional con estas variables, las cuales modificaron hasta un 15 % los valores de disponibilidad de éste aminoácido esencial. De esta manera, se puede concluir

que la determinación de LD es un parámetro útil para predecir el deterioro del valor nutricional asociado a proteínas durante la cocción.

Por los resultados expuestos anteriormente, se destaca la importancia de seleccionar cuidadosamente los ingredientes y condiciones de elaboración, de manera de garantizar no sólo una buena calidad en los atributos sensoriales, sino además un adecuado valor nutricional del producto.

Por último, los parámetros  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$  de la corteza del pan podrían ser utilizados *a priori* como indicadores de calentamiento excesivo y de la reducción en la disponibilidad de lisina, debido a la asociación significativa hallada entre éstos y el aminoácido esencial.

## IV.4. COOKIES

### IV.4.1. Selección de la materia grasa a utilizar

Uno de los componentes básicos en la formulación de *cookies* es la grasa, presente en niveles relativamente altos. La grasa actúa como lubricante y contribuye a la plasticidad de la masa, imparte cualidades deseables y contribuye a la textura y el sabor del producto. La fuente grasa utilizada en productos de panadería varía en su consistencia desde aceites líquidos a grasas de alto punto de fusión (Jacob y Leelavathi, 2007).

Para seleccionar la fuente grasa a emplear, las *cookies* fueron formuladas como se describe en el punto III.4.1 del apartado de materiales y métodos, empleando aceite de maíz, aceite de girasol y oleomargarina. El procedimiento utilizado en la elaboración fue el descrito en el punto III.4.2. Las respuestas evaluadas fueron sabor, rancidez e Índice de Peróxidos (IP), a los días 0, 7, 14, 21 y 70 de almacenamiento.

#### - Efecto de la materia grasa empleada sobre los parámetros sensoriales

Los promedios de los puntajes asignados al sabor por los jueces sensoriales se presentan en la Tabla IV.25. La rancidez fue detectada en sólo una muestra que recibió una puntuación de 5 en su sabor, esta muestra correspondió a la *cookie* evaluada al día 70 de almacenamiento y fue elaborada con aceite de girasol. En el resto de las evaluaciones el sabor se percibió como aceptable (puntuación  $\geq 7$ ) y la rancidez no fue detectada por el panel de evaluadores.

**Tabla IV.25.** Puntaje asignado al sabor y rancidez en *cookies* durante el almacenamiento

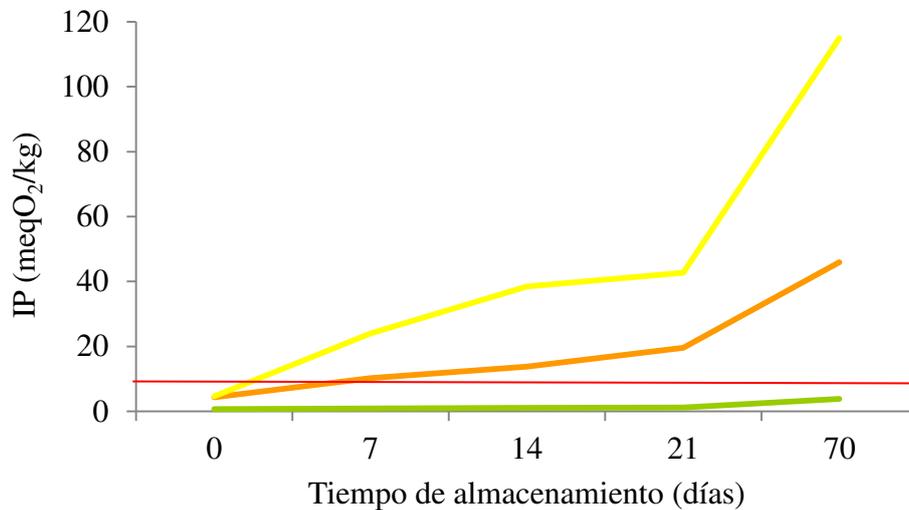
Materia grasa	Tiempo de almacenamiento (días)				
	0	7	14	21	70
Aceite de Maíz	8 (*)	9 (*)	8,5 (*)	7 (*)	5 (**)
Aceite de girasol	8 (*)	9 (*)	7 (*)	7 (*)	7 (*)
Oleomargarina	8 (*)	9 (*)	8 (*)	8 (*)	8 (*)

Rancidez: (\*) no detectable; (\*\*) detectable.

#### - Efecto de la materia grasa empleada sobre el índice de peróxidos

Las fuentes grasas utilizadas en este estudio presentaron valores de IP por debajo del máximo permitido por el CAA (cap. VII) (10 meqO<sub>2</sub>/kg). Estos valores fueron de 4,52;

3,62 y 0,85 meqO<sub>2</sub>/kg para aceite de maíz, aceite de girasol y oleomargarina, respectivamente. Los cambios ocurridos en los valores de IP en las *cookies* durante el almacenamiento se presentan en la Figura IV.10.



**Figura IV. 10.** Índice de peróxidos en *cookies* durante el almacenamiento  
 — Aceite de girasol — Aceite de maíz — Oleomargarina

En todos los casos, durante el almacenamiento se observó un aumento en el IP, sin embargo se produjeron diferencias importantes en esta respuesta entre las materias grasas utilizadas. Las *cookies* elaboradas con oleomargarina mantuvieron durante el período de almacenamiento los niveles de IP más bajos ( $p < 0,05$ ). Al evaluar los aceites utilizados, al comienzo (día 0), el IP no presentó diferencias entre uno y otro ( $p > 0,05$ ), sin embargo, para los días de almacenamiento posteriores, el valor de IP resultó significativamente más bajo cuando se utilizó aceite de maíz en la elaboración. Estos resultados pueden ser explicados por la diferencia en la concentración de antioxidante (vitamina E) y por el efecto del tratamiento térmico recibido. Aunque esta vitamina está presente en ambos aceites, su concentración es más alta en el aceite de maíz que en el aceite de girasol, 2,31 y 0,54 mg/mL respectivamente. La vitamina E es sensible a la temperatura y las pérdidas pueden alcanzar hasta el 55 %, disminuyendo su concentración efectiva en el producto. Así, se puede considerar que el aceite de maíz conserva una actividad residual mayor de vitamina E que el aceite de girasol y ésta podría ser la causa de su mayor estabilidad durante el almacenamiento (Kamal Eldin, 2006). Finalmente, las *cookies* elaboradas con oleomargarina mantuvieron durante todo el período de almacenamiento los niveles de IP

más bajos, mientras que a partir del día 7 de evaluación, las *cookies* con aceite en su formulación presentaron índices superiores a 10 meqO<sub>2</sub>/kg.

Teniendo en cuenta estos resultados, se determinó emplear oleomargarina como materia grasa para los ensayos de elaboración de *cookies*.

#### IV.4.2. Elección de puntos extremos

Con el objetivo de evaluar el efecto causado por los ingredientes proteicos en los atributos sensoriales y analizar los puntos extremos a emplear en la combinación de los ingredientes proteicos, se elaboraron *cookies* con sustitución de HT por HS, HA y WPC en concentraciones que variaron de 5 a 20 %. De la evaluación realizada con el panel de evaluadores expertos, se calcularon los valores medios obtenidos para cada atributo y en consecuencia para cada muestra, y se procesaron estadísticamente los datos mediante el análisis de variancia. Las formulaciones fueron comparadas con una *cookie* testigo elaborada 100 % con HT (Tablas IV.27 a IV.29).

Al considerar el efecto de la incorporación de HS en la formulación se aprecia que, en los niveles evaluados, este componente causó poca variación en los atributos sensoriales de las *cookies*. La HS produjo una mejora en el color y varió el atributo sabor, el cual presentó un puntaje más bajo cuando se utilizó un 20 % de sustitución. Estos resultados coinciden con los hallados por Singh y Mohamed (2007) y Akubor (2005), quienes concluyeron que el uso de HS hasta 10 % en galletitas, tipo *cookies*, no produce cambios en los atributos sensoriales, mientras que sustituciones del 20 % y superiores presentan una influencia negativa, asociada al aumento en la absorción de agua. Al analizar el puntaje total asignado a las *cookies*, no se hallaron diferencias entre los distintos niveles de soja empleados.

El agregado de HA no produjo modificaciones en la base, estructura y masticabilidad de las *cookies*, mientras que el color mejoró con concentraciones del 5 %, la superficie presentó un puntaje menor cuando se utilizaron sustituciones del 20 %, el levantamiento disminuyó en todos los niveles de arveja evaluados y el sabor empeoró cuando se utilizaron los niveles de reemplazo máximos (15 y 20 %). Finalmente, el puntaje total asignado disminuyó a partir de concentraciones del 10 %. Estos efectos coinciden con resultados hallados por otros investigadores, quienes concluyen que es posible la incorporación de hasta un 5 % de HA en *cookies* sin afectar la calidad sensorial de producto (Kamaljit y col., 2010).

Al igual que lo ocurrido en la elaboración del pan de molde, el WPC resultó ser el sustituyente que produjo las alteraciones más importantes en los parámetros valorados. Sólo el atributo color fue mejorado con el agregado de este ingrediente proteico, mientras que base, superficie y estructura se vieron afectados por la concentración máxima utilizada, el levantamiento disminuyó a partir de concentraciones del 10 % y la fragilidad disminuyó para todos los niveles de sustitución ensayados. Masticabilidad y sabor variaron significativamente, recibiendo el menor puntaje cuando se empleó el mayor nivel de sustitución. El puntaje total asignado también disminuyó significativamente a medida que incrementó el nivel de reemplazo utilizado. Al analizar el efecto de la incorporación de distintas proporciones de agua, HS y WPC en la formulación de *cookies*, Pérez y col. (2008) encontraron que sólo el contenido de WPC resultó afectar la evaluación sensorial ( $p < 0,05$ ), disminuyendo significativamente el puntaje total asignado con incrementos en los niveles de reemplazo utilizados.

Conforme a la evaluación sensorial aplicada, exceptuando la formulación elaborada con 20 % de WPC, las *cookies* pertenecieron a las categorías B y MB. Los resultados demuestran que este tipo de producto o matriz, permite trabajar con concentraciones de ingredientes diferentes a la HT superiores al pan de molde, manteniendo aceptables sus cualidades organolépticas. Esto se asocia al hecho que, a diferencia de lo que ocurre en el pan, no es necesario el desarrollo completo de la red de gluten. Debido al comportamiento hallado, para la utilización simultánea de los componentes proteicos en el diseño experimental de mezcla se decidió utilizar porcentajes de reemplazos hasta 25 % (Tabla IV.26).

**Tabla IV.26.** Niveles evaluados en la combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de *cookies*

Nivel mínimo (g)	Componente	Nivel máximo (g)	Sustitución (%)
75 ≤	HT	≤ 100	75 - 100
0 ≤	HS	≤ 25	0 - 25
0 ≤	HA	≤ 25	0 - 25
0 ≤	WPC	≤ 25	0 - 25
HT + HS + HA + WPC = 100 %			

HT: Harina de trigo; HS: Harina de soja; HA: Harina de arveja; WPC: Concentrado de proteínas del lactosuero.

**Tabla IV.27.** Análisis sensorial en *cookies* con sustitución de harina de soja

HS (%)	Atributos sensoriales								Puntaje total	
	Color	Base	Superficie	Estructura	Levantamiento	Fragilidad	Masticabilidad	Sabor		
0	6,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	12,5 ± 0,9 <sup>a</sup>	20,8 ± 1,4 <sup>b</sup>	81,3 ± 1,3 <sup>a</sup>	MB
5	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	12,5 ± 0,9 <sup>a</sup>	20,8 ± 1,4 <sup>b</sup>	81,9 ± 2,3 <sup>a</sup>	MB
10	8,0 ± 1,0 <sup>b</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	12,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	20,8 ± 1,4 <sup>b</sup>	79,8 ± 3,2 <sup>a</sup>	MB
15	8,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	13,0 ± 0,9 <sup>a</sup>	19,2 ± 1,4 <sup>ab</sup>	80,3 ± 2,3 <sup>a</sup>	MB
20	8,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	11,5 ± 0,9 <sup>a</sup>	18,3 ± 1,4 <sup>a</sup>	77,1 ± 4,1 <sup>a</sup>	B

Letras distintas por columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

HT: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero; MB: muy bueno; B: bueno.

**Tabla IV.28** Análisis sensorial en *cookies* con sustitución de harina de arveja

HA (%)	Atributos sensoriales								Puntaje total	
	Color	Base	Superficie	Estructura	Levantamiento	Fragilidad	Masticabilidad	Sabor		
0	6,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	12,5 ± 0,9 <sup>ab</sup>	20,8 ± 1,4 <sup>b</sup>	81,3 ± 1,3 <sup>c</sup>	MB
5	8,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	11,5 ± 0,0 <sup>a</sup>	21,7 ± 1,4 <sup>b</sup>	79,6 ± 3,8 <sup>bc</sup>	B
10	7,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	13,5 ± 0,0 <sup>b</sup>	21,7 ± 1,4 <sup>b</sup>	80,9 ± 2,9 <sup>bc</sup>	MB
15	7,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>ab</sup>	12,5 ± 0,9 <sup>ab</sup>	20,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	77,9 ± 1,3 <sup>b</sup>	B
20	6,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	6,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>ab</sup>	12,5 ± 0,9 <sup>ab</sup>	19,2 ± 1,4 <sup>a</sup>	74,6 ± 0,8 <sup>a</sup>	B

Letras distintas por columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

HT: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero; MB: muy bueno; B: bueno.

**Tabla IV.29.** Análisis sensorial en *cookies* con sustitución de concentrado de proteínas del lactosuero

WPC (%)	Atributos sensoriales								Puntaje total	
	Color	Base	Superficie	Estructura	Levantamiento	Fragilidad	Masticabilidad	Sabor		
0	6,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>c</sup>	8,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	12,5 ± 0,9 <sup>c</sup>	20,8 ± 1,4 <sup>d</sup>	81,3 ± 1,3 <sup>d</sup>	MB
5	8,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>bc</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	12,0 ± 0,0 <sup>c</sup>	19,2 ± 0,8 <sup>cd</sup>	77,8 ± 1,4 <sup>c</sup>	B
10	8,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	7,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	7,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	11,5 ± 0,5 <sup>c</sup>	18,3 ± 0,3 <sup>c</sup>	75,8 ± 0,6 <sup>c</sup>	B
15	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	6,3 ± 0,6 <sup>ab</sup>	7,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	10,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	17,5 ± 0,0 <sup>b</sup>	71,4 ± 1,0 <sup>b</sup>	B
20	7,3 ± 0,6 <sup>ab</sup>	6,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	6,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	6,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	5,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	6,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	15,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	60,7 ± 2,3 <sup>a</sup>	R

Letras distintas por columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

HT: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero; MB: muy bueno; B: bueno; R: regular.

#### IV.4.3. Combinación de ingredientes proteicos

La cantidad de agua empleada en todas las mezclas de *cookies* fue la que permitió obtener una masa de consistencia constante, medida a través de la fuerza aplicada para provocar un hundimiento del penetrómetro en un tiempo determinado.

##### IV.4.3.a. Aplicación del diseño experimental

En la Tabla IV.30 se presentan los resultados experimentales correspondientes al puntaje total asignado por el panel de expertos y nivel de proteínas expresado en g/100 g, correspondiente al diseño experimental de mezcla, denominado diseño experimental 3, aplicado en *cookies*.

**Tabla IV.30.** Resultados experimentales del diseño 3: combinación de ingredientes proteicos para la elaboración de *cookies*

Mezcla	Componentes de la mezcla				Respuestas	
	HT	HS	HA	WPC	PT	Proteínas
1	100,0	0,0	0,0	0,0	79,3	10,30
2	75,0	0,0	0,0	25,0	76,5	15,30
3	75,0	0,0	25,0	0,0	69,8	12,90
4	75,0	25,0	0,0	0,0	75,6	18,98
5	87,5	0,0	0,0	12,5	77,5	12,80
6	87,5	0,0	12,5	0,0	71,8	11,61
7	87,5	12,5	0,0	0,0	69,8	14,64
8	75,0	0,0	12,5	12,5	80,3	14,11
9	75,0	12,5	0,0	12,5	77,3	17,14
10	75,0	12,5	12,5	0,0	70,5	15,95
11	75,0	8,3	8,3	8,3	78,3	15,73
12	83,3	8,3	8,3	0,0	76,8	14,07
13	83,3	8,3	0,0	8,3	78,2	14,86
14	83,3	0,0	8,3	8,3	79,7	12,84
15	90,6	3,1	3,1	3,1	75,2	12,34
16	78,1	3,1	3,1	15,6	73,0	14,84
17	78,1	3,1	15,6	3,1	75,0	13,65
18	78,1	15,6	3,1	3,1	83,1	16,68
19	78,1	7,3	7,3	7,3	72,5	15,05
20	82,3	7,3	7,3	3,1	71,5	14,22
21	82,3	7,3	3,1	7,3	78,8	14,61
22	82,3	3,1	7,3	7,3	82,7	13,61

Mezcla	Componentes de la mezcla				Respuestas	
	HT	HS	HA	WPC	PT	Proteínas
23	84,4	3,1	3,1	9,4	78,7	13,59
24	84,4	3,1	9,4	3,1	75,6	12,99
25	84,4	9,4	3,1	3,1	83,7	14,51
26	78,1	3,1	9,4	9,4	83,0	14,24
27	78,1	9,4	3,1	9,4	72,8	15,76
28	78,1	9,4	9,4	3,1	74,3	15,16
29	81,3	6,3	6,3	6,3	77,5	14,37
30	81,3	6,3	6,3	6,3	80,2	14,37
31	81,3	6,3	6,3	6,3	77,3	14,37
32	81,3	6,3	6,3	6,3	78,9	14,37

HT: harina de trigo; HS: harina de soja; HA: harina de arveja; WPC: concentrado de proteínas del lactosuero; PT: puntaje total; Proteínas: g/100 g.

En la Tabla IV.31 se muestra el análisis de varianza obtenido para estas respuestas. La respuesta puntaje total se ajustó a un modelo lineal con interacción, mientras que el nivel de proteína fue ajustado a un modelo de primer orden. El  $p$  valor de los modelos, los valores de coeficientes de determinación ( $R^2$ ), y la falta de ajuste no significativa sugieren que los mismos ajustaron adecuadamente a los datos de ambas respuestas con un nivel de confianza del 95 %.

**Tabla IV.31.** Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 3

Fuente de variación	g.l.	Valor $p$	
		PT	Proteínas*
Modelo	3	0.0439	< 0.0001
Falta de ajuste	25	0.0593	-
Coef. determinación ( $R^2$ )		51 %	100 %

\* Proteínas (g/100g), el contenido en las mezclas se calculó en forma teórica a partir del contenido de los componentes puros (Tabla IV.4). PT: puntaje total.

#### - Efecto de la mezcla sobre el puntaje total

El modelo lineal con interacción explicó el 51 % de la variabilidad de los datos. De la gráfica de contorno se observa que la condición que causa mayor disminución en la respuesta es aquella en la cual la HA predomina en la mezcla (Figura IV.11). Así mismo, se halló una interacción significativa entre HA y WPC que, a partir de la observado en la gráfica de contorno, parecería causar un incremento en la respuesta. En la Figura IV.12 se

presenta la gráfica de mezcla para estos dos componentes, donde se observa el efecto de la interacción, así como también una maximización en el valor de la respuesta cuando las cantidades de cada uno de estos componentes se encuentra a la mitad del valor máximo adicionado (12,5 g).

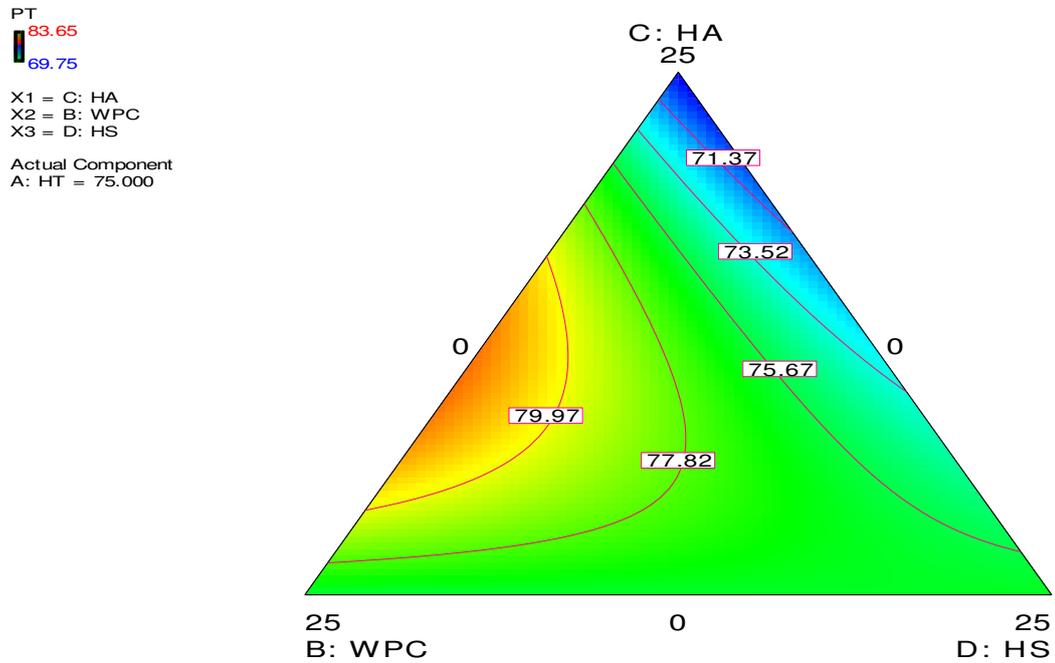


Figura IV.11. Gráfica de contorno para puntaje total en *cookies*

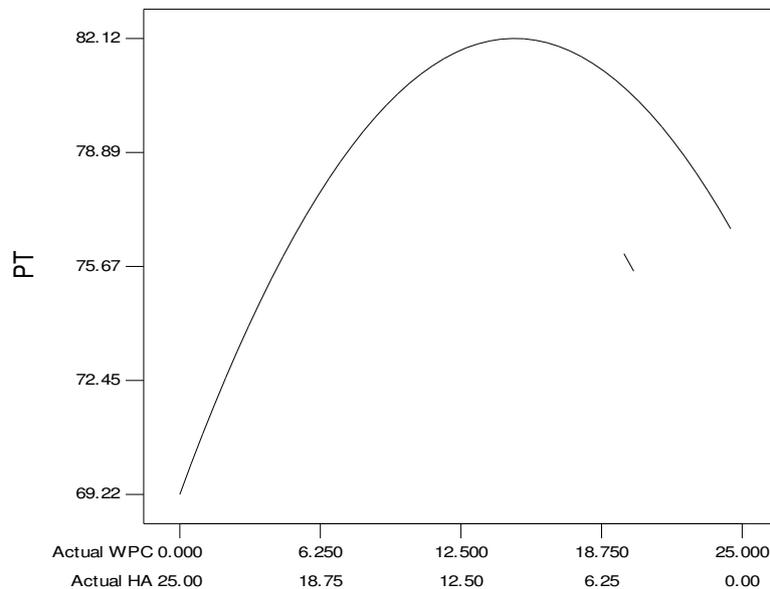
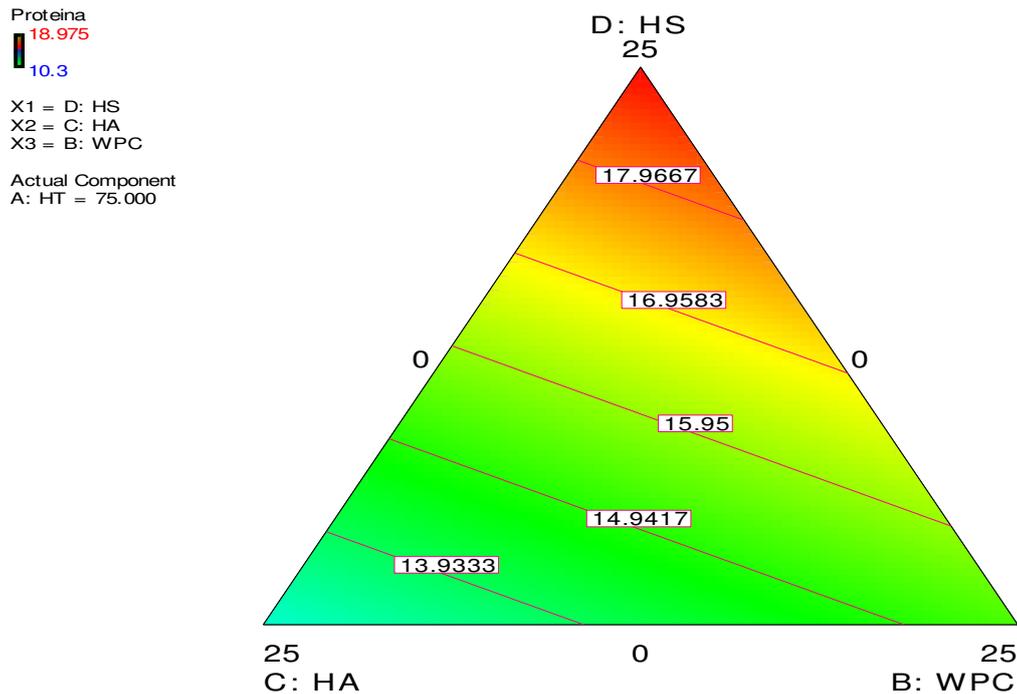


Figura IV.12. Gráfica mezcla dos componentes para puntaje total en *cookies*: WPC-HA

- Efecto de la mezcla sobre el nivel de proteínas

Con concentraciones constantes de HT, los mayores valores en esta respuesta se obtuvieron con altos niveles de HS, mientras que una reducción en los niveles de proteínas fueron hallados cuando predominó el componente HA en la mezcla. Los resultados acuerdan con la composición de estos ingredientes analizada anteriormente en la Tabla IV.4. En la Figura IV.13 se presenta la gráfica de contorno para esta respuesta.



**Figura IV.13.** Gráficas de contorno para proteína en *cookies*

IV.4.3.b. Optimización del diseño experimental

Se realizó la optimización de las respuestas utilizando el criterio de maximización en los valores de puntaje total y proteínas. En la Tabla IV.32 se presentan los valores mínimos y máximos obtenidos del diseño experimental 3 y los criterios usados en la función de deseabilidad para la optimización. Debido a que todas las mezclas experimentadas resultaron aceptables desde el punto de vista del puntaje total obtenido, se asignó mayor impacto a la cantidad de proteína, de manera de otorgar mayor importancia a la calidad nutricional.

El valor máximo de deseabilidad hallado y las concentraciones requeridas para

alcanzar estas condiciones se muestran en la Tabla IV.33.

**Tabla IV.32.** Valores observados y criterios utilizados en la función de deseabilidad para la optimización múltiple del diseño experimental 3

Respuesta	Mínimo observado	Máximo observado	Objetivo	Impacto
PT	69,75	83,65	Maximizar	3
Proteínas	10,30	18,98	Maximizar	5

PT: *puntaje total*.

**Tabla IV.33.** Mezcla óptima en *cookies*

Componente	Concentración	
	g	%
HT	75,0	75,0
HS	19,0	19,0
HA	3,0	3,0
WPC	3,0	3,0
Deseabilidad = 0,59		

HT: *harina de trigo*; HS: *harina de soja*; HA: *harina de arveja*; WPC: *concentrado de proteínas del lactosuero*.

#### IV.4.3.c. Validación de los modelos obtenidos

Se procedió a validar los modelos obtenidos elaborando las *cookies* como se indicó en la sección III.4.2 de materiales y métodos, con las concentraciones óptimas determinadas en el punto IV.4.3.b. En la Tabla IV.34 se presentan los valores experimentales obtenidos y los predichos por los modelos.

**Tabla IV.34.** Validación de los modelos para *cookies*. Valores experimentales y predichos por el diseño experimental 3

Respuesta	Valor experimental	Valor predicho	Intervalo de confianza (95 %)	Error (%)*
PT	77,50	75,92	72,64 - 79,20	2,1
Proteínas	15,30	16,90	16,90 -16,90	9,5

\*  $[(\text{Valor experimental} - \text{Valor predicho}) * 100 / \text{Valor predicho}]$ .

El valor experimental hallado para puntaje total presentó un error porcentual bajo y

se encontró dentro del intervalo de confianza correspondiente. Nuevamente, para el caso de las proteínas la respuesta no presentó un rango de intervalo de confianza, ya que el contenido en las mezclas fue calculado en forma teórica, además el error porcentual fue mayor, asociado a que para la determinación del valor experimental en la *cookie*, se utilizó el factor de conversión 6,25, correspondiente a mezclas de proteínas (CAA, Cap. V).

#### **IV.4.4. Determinación del tiempo óptimo de cocción**

Debido a que el desarrollo de color ocurre durante las últimas etapas del horneado, puede ser utilizado para considerar el acabado de este proceso (Mundt y Wedzicha, 2007). Así mismo, el color es una propiedad muy importante, que define la aceptabilidad de productos horneados por el consumidor; el grado de amarronamiento, determina además el sabor del producto terminado.

En una primer etapa de este trabajo, se evaluaron las variables de proceso sobre los niveles de LD en pan de molde, allí se observó que la disponibilidad de éste aminoácido esencial puede disminuir en esta matriz hasta un 15 % según las condiciones de proceso empleadas. Teniendo en cuenta la implicancia nutricional de estos resultados y con el objetivo de establecer las condiciones de elaboración más apropiadas, se determinó el tiempo óptimo de cocción ( $t_{op}$ ) y los parámetros cinéticos de desarrollo de color en *cookies*. Se evaluaron tres temperaturas de horneado (190, 220 y 250°C) y tres niveles de hidratación en la masa (23, 26 y 29 %) en la formulación de *cookies* obtenida a partir de la optimización del diseño experimental 3 (sección IV.4.3.b).

##### *IV.4.4.a. Evaluación sensorial*

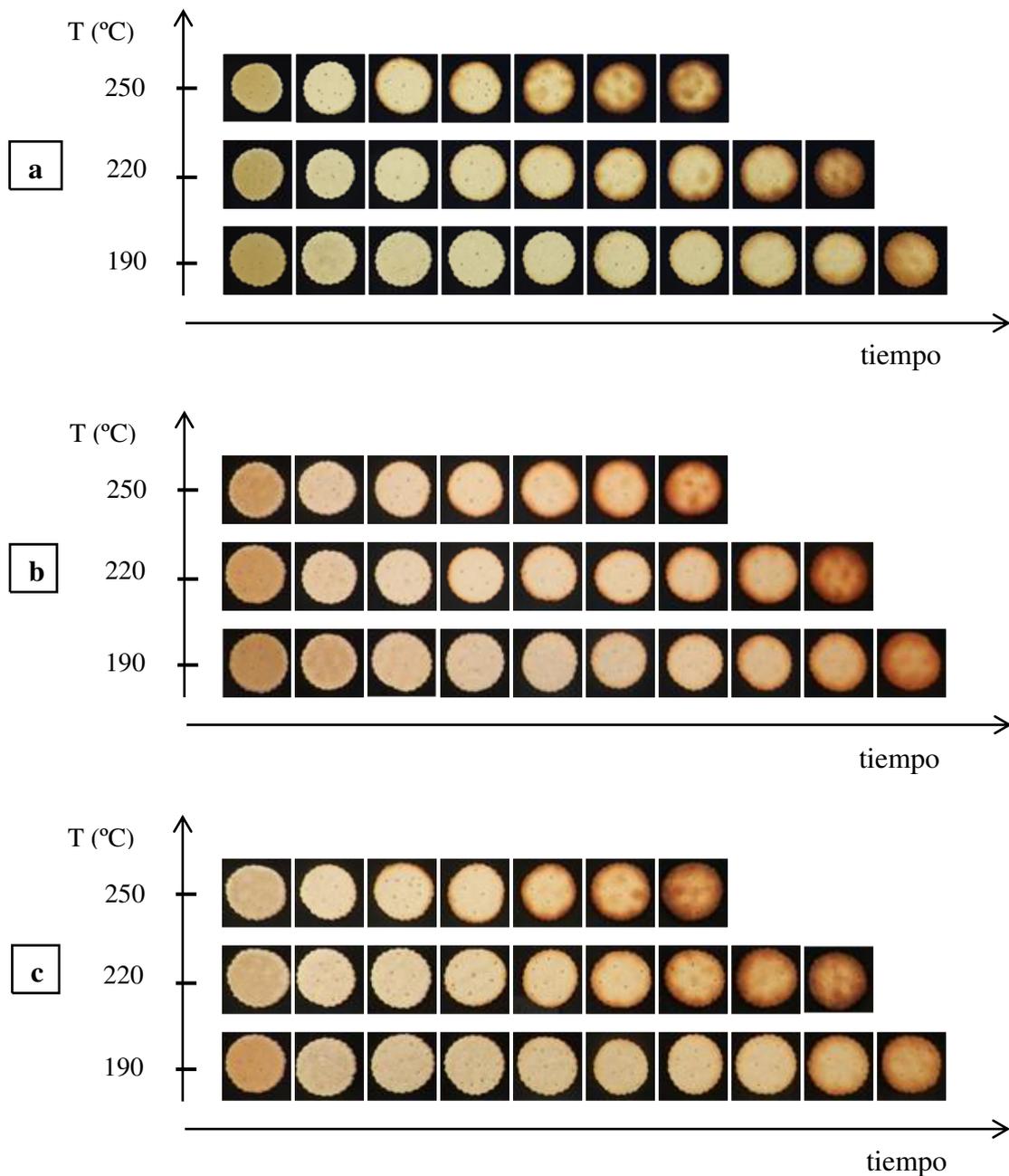
El amarronamiento o desarrollo de color y la determinación del  $t_{op}$ , se analizaron en primer lugar, mediante una evaluación visual y de textura, realizada por un panel de expertos (Tabla IV.35). Se utilizó como referencia el nivel de amarronamiento en *cookies* comerciales no fortificadas.

El  $t_{op}$  definido por el panel de evaluadores resultó dependiente de la temperatura y cantidad de agua empleada en la formulación. Para una determinada temperatura, el  $t_{op}$  aumentó a medida que incrementó el nivel de agua agregado a la masa, mientras que a concentraciones constantes de agua, el  $t_{op}$  disminuyó con incrementos en la temperatura de horneado. La Figura IV.14 muestra las fotografías de las *cookies* obtenidas a distintos

tiempos y temperaturas de cocción.

**Tabla IV.35.** Tiempo óptimo de cocción (min) determinado mediante evaluación sensorial en *cookies*

Agua (%)	Temperatura (°C)		
	190	220	250
23	6,5	5,0	3,5
26	7,0	6,0	4,0
29	8,0	6,5	4,5



**Figura IV.14.** Cookies a diferentes tiempos y temperaturas de horneado. **a)** 23 % de agua, **b)** 26 % de agua, **c)** 29 % de agua

#### IV.4.4.b. Parámetros de color

En la Tabla IV.36 se presentan los valores medios de los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$  al  $t_{op}$  determinado por el panel de evaluación sensorial.

**Tabla IV.36.** Parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$ ,  $h_{ab}^*$ ) en *cookies* al tiempo óptimo de cocción determinado por evaluación sensorial

Parámetro de color	Agua (%)	Temperatura (°C)		
		190	220	250
$L^*$	23	$68,4 \pm 1,0^{*abC**}$	$69,4 \pm 0,6^{bAB}$	$70,5 \pm 1,3^{aAB}$
	26	$69,8 \pm 0,4^{abB}$	$68,6 \pm 1,2^{bB}$	$70,2 \pm 0,8^{aB}$
	29	$69,3 \pm 0,9^{abA}$	$68,4 \pm 2,0^{bC}$	$68,5 \pm 0,6^{aC}$
$a^*$	23	$5,4 \pm 0,8^{bC}$	$5,2 \pm 0,4^{aC}$	$4,6 \pm 0,4^{bC}$
	26	$5,2 \pm 0,5^{bB}$	$6,8 \pm 1,1^{aB}$	$5,6 \pm 0,8^{bB}$
	29	$6,3 \pm 0,7^{bA}$	$8,7 \pm 1,6^{aA}$	$7,1 \pm 1,1^{bA}$
$b^*$	23	$28,7 \pm 1,2^{bC}$	$28,2 \pm 0,9^{aC}$	$28,3 \pm 1,0^{aC}$
	26	$26,9 \pm 1,0^{bB}$	$31,1 \pm 1,1^{aB}$	$30,6 \pm 1,2^{aB}$
	29	$29,4 \pm 0,5^{bA}$	$30,4 \pm 1,9^{aA}$	$31,6 \pm 1,9^{aA}$
$C_{ab}^*$	23	$29,2 \pm 1,3^{bC}$	$28,7 \pm 0,9^{aC}$	$28,7 \pm 1,0^{aC}$
	26	$27,3 \pm 1,0^{bB}$	$31,8 \pm 1,3^{aB}$	$31,1 \pm 1,3^{aB}$
	29	$30,1 \pm 0,5^{bA}$	$31,6 \pm 1,9^{aA}$	$32,4 \pm 0,9^{aA}$
$h_{ab}^*$	23	$79,4 \pm 1,1^{aA}$	$79,5 \pm 0,8^{bA}$	$80,8 \pm 0,5^{aA}$
	26	$79,2 \pm 0,8^{aB}$	$77,8 \pm 1,5^{bB}$	$79,8 \pm 1,0^{aB}$
	29	$77,9 \pm 1,2^{aC}$	$74,1 \pm 2,7^{bC}$	$77,3 \pm 1,9^{aC}$

\* Valor medio  $\pm$  desvío estandar.

\*\* Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas para la temperatura ( $p < 0,05$ ). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para el contenido de agua.

Al tiempo de referencia ( $t_{op}$ ), los parámetros de color en las *cookies* sometidas a diferentes tratamientos variaron en rangos acotados:  $L^*$ : 68,4-70,5;  $a^*$ : 4,6-8,7;  $b^*$ : 26,9-31,6;  $C_{ab}^*$ : 27,3-32,4 y  $h_{ab}^*$ : 74,1-80,8. Estas pequeñas diferencias no fueron percibidas por el ojo humano mediante el análisis visual, sin embargo, diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) fueron reveladas al aplicar análisis estadístico en las determinaciones colorimétricas como se muestra en la Tabla IV.36, indicando la alta sensibilidad y objetividad del método espectrofotométrico, necesario para la caracterización de las muestras.

#### IV.4.4.c. Modelado matemático del cambio de color

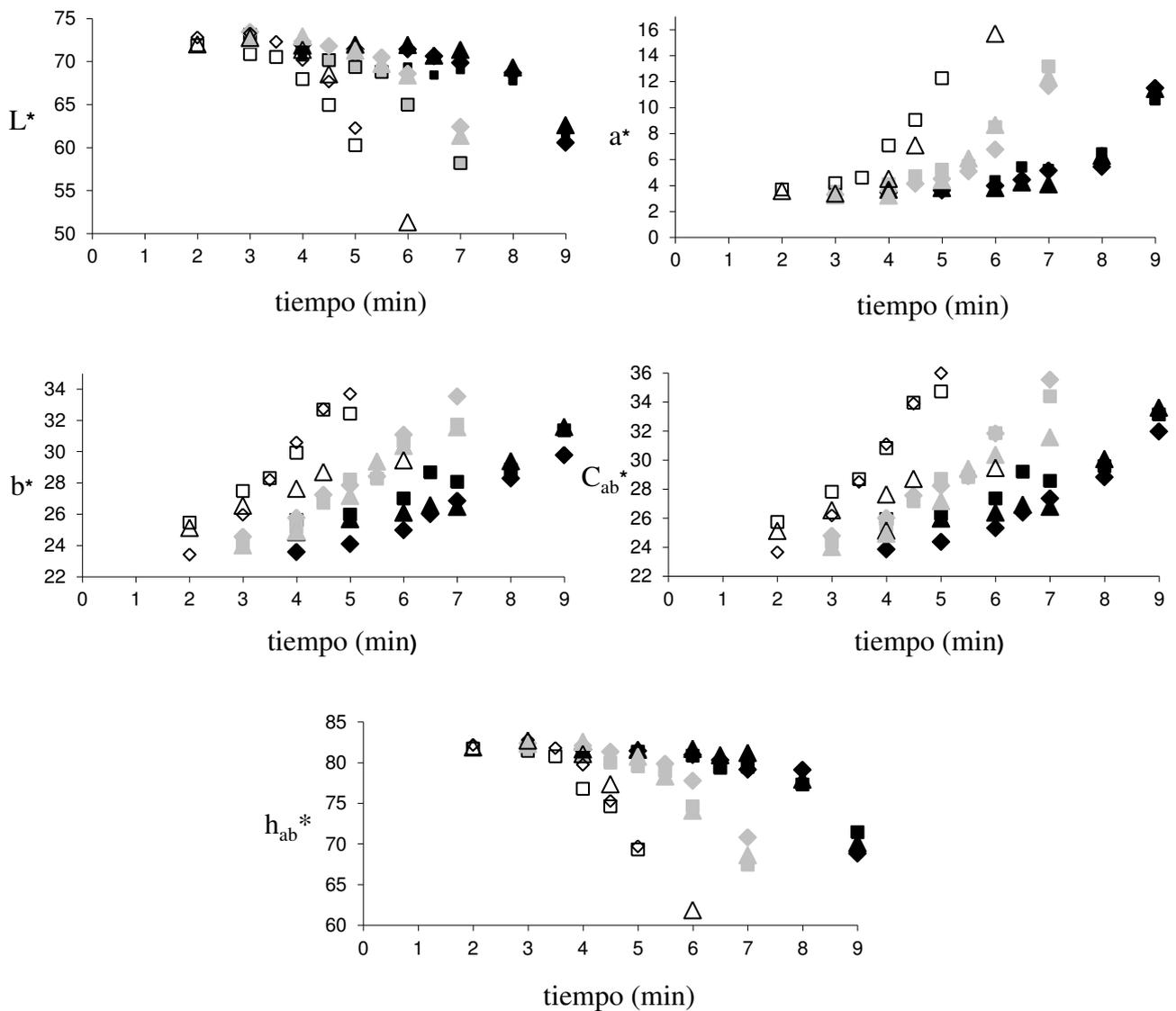
Con el objetivo de seleccionar un modelo apropiado para representar el cambio de color en *cookies*, se aplicó el análisis de regresión para determinar el orden de cinética de reacción. Se analizó el comportamiento de los distintos modelos basados en el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y se analizaron los gráficos de residuos versus valores predichos

para cada modelo (orden cero y uno). Los resultados hallados permitieron seleccionar el modelo de reacción de primer orden para describir el desarrollo de color en *cookies* durante el tratamiento térmico (Ec. 7).

$$Q^*_{(t)} = Q^*_{(t_0)} \exp (\pm k_q t) \quad (7)$$

Muchos autores han estudiado la evolución del color durante el horneado en diferentes productos de panadería. Entre otros, Zanoni y col. (1995) propusieron un modelo matemático de primer orden para la cinética de amarronamiento en la corteza del pan durante el horneado, expresado a través la diferencia de color ( $\Delta E$ ). Broyart y col. (1998) también utilizaron un modelo de primer orden para predecir la variación de luminosidad en la superficie de galletitas tipos *crakers*. Años más tarde, Mundt y Wedzicha (2007) trabajaron específicamente en productos dulces y analizaron el efecto de la temperatura y actividad de agua en la cinética de color durante el horneado de *cookies*, postulando un proceso cinético de primer orden para describir el cambio de color. Bajo todas las condiciones de testeo analizadas durante el horneado de *muffins*, Ureta y col. (2014) observaron una misma tendencia: un período inicial durante el cual el BI no presenta variación, seguido por un incremento (cuya velocidad depende de las condiciones de horneado) y finalmente una meseta, donde el color es muy oscuro (quemado) y el BI se estabiliza.

La Figura IV.15 ilustra los perfiles de desarrollo de color en las *cookies* aquí analizadas. Los gráficos muestran que los parámetros de color variaron significativamente durante el proceso de horneado y pueden ser utilizados como indicadores sensibles de las condiciones de proceso. Las muestras se tornaron más oscuras, rojas y amarillas con aumentos en la temperatura y tiempo de horneado.  $L^*$  y  $h_{ab}^*$  disminuyeron, mientras que el resto de los parámetros de color incrementaron. En todos los casos, a la mayor temperatura empleada, la pendiente obtenida para los parámetros evaluados fue mayor, indicando un aumento en la velocidad de desarrollo de color.



**Figura IV.15.** Perfil experimental de los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$  en *cookies*

■ *agua 23 % - 190°C*, ◆ *agua 26 % - 190°C*, ▲ *agua 29 % - 190°C*, ▣ *agua 23 % - 220°C*,  
 ◆ *agua 26 % - 220°C*, ▲ *agua 29 % - 220°C*, □ *agua 23 % - 250°C*, ◇ *agua 26 % - 250°C*,  
 △ *agua 29 % - 250°C*.

En la Tabla IV.37 se muestra el cambio de las constantes de reacción ( $k_q$ ) de los parámetros de color (Ec. 2) a cada temperatura y nivel de agua evaluados. Los resultados indican que  $k_q$  sigue la relación de Arrhenius (valores de  $R^2$  entre 0,6096 y 0,9694).

**Tabla IV.37.** Constante de reacción ( $k_q$ ) y coeficientes de determinación ( $R^2$ ) del cambio de color en *cookies*

Parámetro	Agua (%)	Temperatura (°C)	Constante de reacción $k_q$ ( $\text{min}^{-1}$ )	Coefficiente de determinación ( $R^2$ )
$L^*$	23	190	0,0253	0,6927
		220	0,0414	0,8459
		250	0,0641	0,8036
	26	190	0,0312	0,6568
		220	0,0447	0,8459
		250	0,0616	0,8036
	29	190	0,0221	0,6157
		220	0,0430	0,7548
		250	0,0777	0,7013
$a^*$	23	190	0,1976	0,8592
		220	0,3013	0,9096
		250	0,4378	0,8985
	26	190	0,2109	0,7948
		220	0,3209	0,8929
		250	0,4654	0,8614
	29	190	0,2227	0,7227
		220	0,3124	0,9086
		250	0,4215	0,8663
$b^*$	23	190	0,0414	0,9148
		220	0,0644	0,9657
		250	0,0953	0,9565
	26	190	0,0486	0,9767
		220	0,0811	0,9668
		250	0,1277	0,9868
	29	190	0,0411	0,874
		220	0,0531	0,9609
		250	0,0665	0,9504
$C_{ab}^*$	23	190	0,0497	0,8996
		220	0,0776	0,9694
		250	0,1150	0,9627
	26	190	0,0575	0,9503
		220	0,0934	0,9529
		250	0,1434	0,9892
	29	190	0,0607	0,9503
		220	0,0723	0,9529
		250	0,0845	0,9500
$h_{ab}^*$	23	190	0,0249	0,7501
		220	0,0388	0,7682
		250	0,0575	0,7974
	26	190	0,0266	0,6096
		220	0,0375	0,7535
		250	0,0507	0,7109
	29	190	0,0262	0,6152
		220	0,0442	0,8154
		250	0,0701	0,7349

## IV.4.4.d. Diseño experimental

Para analizar el efecto de las variables independientes temperatura y agua en las constantes de reacción para  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$ , se aplicó además, la metodología de superficie de respuesta. Para todos los parámetros de color, el modelo cuadrático ajustó adecuadamente las respuestas ( $R^2 > 0,90$  y falta de ajuste no significativa), sin embargo debido a que los términos cuadráticos, la interacción y el factor principal agua no resultaron significativos ( $p > 0,05$ ), se realizó la reducción a un modelo lineal. Similar a lo encontrado en este estudio, Mundt y Wedzicha (2007) al analizar el efecto de la temperatura (105 – 135°C) y actividad de agua (0,04 – 0,15) en la cinética de color durante el horneado de *cookies*, hallaron que la tasa de amarronamiento resultó independiente de la  $a_w$  en las condiciones investigadas.

Las siguientes ecuaciones (8-12) representan los modelos matemáticos obtenidos para predecir los valores de  $k_q$  de los parámetros de color en *cookies* frente a un tratamiento térmico dado.

$$k_{L^*} = - 0,10927 + 6,93333E-004 * T, (R^2=0,83) \quad (8)$$

$$k_{a^*} = - 0,53386 + +3,85278E-003 * T, (R^2= 0,95) \quad (9)$$

$$k_{b^*} = - 012398 + 8,80000E-004 * T, (R^2= 0,64) \quad (10)$$

$$k_{C_{ab}^*} = - 0,12992 + 9,72222E-004 * T, (R^2= 0,71) \quad (11)$$

$$k_{h_{ab}^*} = - 0,082856 + 5,58889E-004 * T (R^2= 0,81) \quad (12)$$

Debido a que el contenido de agua en la formulación de las *cookies* no presentó una influencia significativa en los parámetros de color, las constantes cinéticas fueron recalculadas considerando sólo la temperatura de horno empleada (Tabla IV.38). La dependencia de la constante cinética con la temperatura sigue un comportamiento que ajusta con la ecuación de Arrhenius (valores de  $R^2$  entre 0,6575 y 0,9810). En todos los casos, la constante de reacción aumentó con incrementos en la temperatura de horneado y la energía de activación de Arrhenius (21,5 – 22,6) indicó una sensibilidad similar con la temperatura para todos los parámetros de color evaluados.

**Tabla IV.38.** Constante de reacción ( $k_q$ ) y coeficientes de determinación ( $R^2$ ) del cambio de color en *cookies*

Parámetro	Temperatura (°C)	Constante de reacción $k_q$ ( $\text{min}^{-1}$ )	Coefficiente de determinación ( $R^2$ )
$L^*$	190	0,0263	0,6575
	220	0,0376	0,8108
	250	0,0516	0,7237
	Ea [ $\text{kJ},\text{mol}^{-1}$ ] = 22,6		0,8907
$a^*$	190	0,2144	0,8071
	220	0,3013	0,9164
	250	0,4182	0,8802
	Ea [ $\text{kJ},\text{mol}^{-1}$ ] = 21,5		0,9257
$b^*$	190	0,0473	0,9581
	220	0,0672	0,9810
	250	0,0916	0,8923
	Ea [ $\text{kJ},\text{mol}^{-1}$ ] = 22,2		0,9017
$C_{ab}^*$	190	0,0563	0,9206
	220	0,0793	0,9754
	250	0,1073	0,9384
	Ea [ $\text{kJ},\text{mol}^{-1}$ ] = 21,6		0,8937
$h_{ab}^*$	190	0,0268	0,6593
	220	0,0378	0,7901
	250	0,0512	0,7289
	Ea [ $\text{kJ},\text{mol}^{-1}$ ] = 21,8		0,9290

## IV.4.4.e. Validación de los modelos

La capacidad de predicción de los modelos fue evaluada a través del cálculo del error relativo (%). La Tabla IV.39 muestra los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$  determinados experimentalmente en las *cookies* al tiempo de referencia seleccionado mediante evaluación sensorial versus los puntos predichos por el modelo polinomial y la ecuación de Arrhenius.

Ambos métodos resultaron adecuados para predecir los valores de los coeficientes cinéticos en las condiciones de proceso estudiadas, indicando que asumir una cinética de primer orden para el cambio de color fue correcto. Esto permite predecir modificaciones en el comportamiento del sistema para cambios en las variables tecnológicas. Así mismo, el tiempo de cocción necesario para obtener los parámetros de color óptimos ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$ ,  $h_{ab}^*$ ) puede ser estimado.

**Tabla IV.39.** Parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$  determinados experimentalmente, puntos predichos y error porcentual

Parámetro	T (°C)	Valor experimental	Modelo polinomial <sup>(1)</sup>		Arrhenius <sup>(2)</sup>	
			Valor predicho	Error (%)	Valor predicho	Error (%)
$L^*$	190	69,8	71,1	1,8	68,9	-1,4
	220	68,6	66,7	-2,9	68,6	0,0
	250	70,2	66,2	-6,1	69,1	-1,6
$a^*$	190	5,2	4,5	-16,0	5,5	5,0
	220	6,8	5,4	-26,5	5,5	-23,6
	250	5,6	5,0	-11,3	5,3	-6,2
$b^*$	190	26,9	27,1	0,8	27,9	3,6
	220	31,1	28,4	-9,6	28,0	-10,9
	250	28,2	28,0	-0,6	27,6	-2,1
$C_{ab}^*$	190	27,6	28,3	2,6	28,6	3,6
	220	28,1	29,4	4,3	28,7	2,0
	250	28,6	28,7	0,3	28,1	-1,8
$h_{ab}^*$	190	79,9	80,2	0,3	78,3	-2,1
	220	80,3	77,3	-3,9	78,2	-2,7
	250	81,3	77,4	-5,1	78,9	-3,0

<sup>(1)</sup>Parámetros predichos por el modelo polinomial (Ec. 8-12). <sup>(2)</sup> Parámetros predichos por la ecuación de Arrhenius (Ec. 2,7). Valores predichos al tiempo óptimo correspondiente a 26 % de agua en la formulación. (Tabla IV.35), valores experimentales correspondientes a 26 % de agua en la formulación (Tabla IV.36).

#### IV.4.5. Variables de proceso

##### IV.4.5.a. Aplicación del diseño experimental

**Tabla IV.40.** Resultados experimentales del diseño 4: efecto de las variables de proceso en los niveles de LD en *cookies*

Variable independiente		Respuesta
T (°C)	Agua (%)	LD (mg/g prot)
190	23	38,3
190	26	39,5
190	29	40,8
220	23	37,9
220	26	41,2
220	29	41,6
250	23	39,5
250	26	39,9
250	29	41,9
220	26	40,5
220	26	39,7
220	26	39,9

Utilizando los  $t_{op}$  determinados en el punto IV.4.4.a, se evaluó el efecto de la temperatura de cocción y cantidad de agua adicionada a la formulación (%) en los niveles de LD de la *cookie* obtenida a través de la optimización del diseño experimental 3 (IV.4.3.b.). Se aplicó un diseño factorial  $3^2$ , denominado diseño experimental 4 (Tabla IV.40).

El resumen del análisis de varianza realizado para el diseño experimental 4 se presenta en la Tabla IV.41.

**Tabla IV.41.** Análisis de varianza de los resultados experimentales del diseño 4: lisina disponible

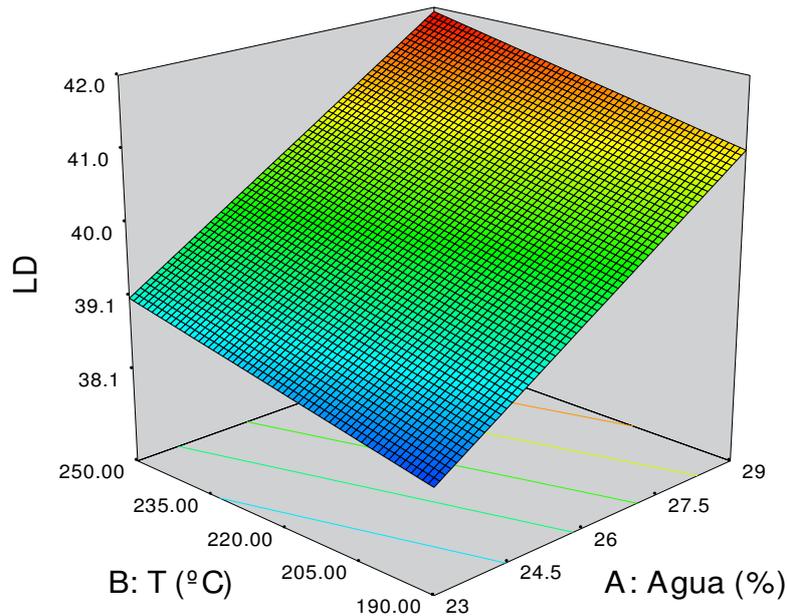
Fuente de variación	g.l.	Valor $p$ LD
Modelo	2	0,0004
A: Agua	1	0,0001
B: T	1	0,0808
Falta de ajuste	6	0,7320
Coef. determinación ( $R^2$ )		83 %

*- Efecto de las variables de proceso sobre los niveles de LD*

Las variables evaluadas ajustaron a un modelo lineal que explicó el 83 % de la variabilidad de los datos. La cantidad de agua agregada a la formulación presentó un efecto significativo sobre los valores de LD, no así la temperatura de horno utilizada. Si bien la reacción es directamente proporcional a la temperatura (Herrera y col., 2003) y la falta de significancia de esta variable sobre la disponibilidad de lisina parecería contradictoria, el resultado hallado probablemente se asocia a que las *cookies* fueron evaluadas al  $t_{op}$  de cocción, es decir que a medida que aumentó la temperatura el tiempo de horneado fue menor. En la Figura IV.16 se presenta el gráfico de superficie de respuesta obtenido.

Los valores en la respuesta crecieron a medida que aumentó la cantidad de agua agregada a la formulación. Esta correlación positiva indica que la adición de agua a la masa produjo un retraso en el desarrollo de la reacción de Maillard. En este caso, el aumento en el contenido de humedad del alimento presentó un efecto protector sobre el aminoácido durante la cocción, reduciendo la pérdida de lisina. Antecedentes de investigación en este tema, concluyen que la reacción de Maillard aumenta de forma exponencial con el contenido de humedad hasta alcanzar un máximo, esto se debe al

incremento de la movilidad de los compuestos reaccionantes. Sin embargo, la reacción disminuye con altos contenidos de humedad por el efecto diluyente de la fase acuosa y por acción de la ley de masas, pues en la reacción se produce agua (Herrera y col., 2003). Resultados similares a los hallados en este estudio fueron encontrados por Pérez y col. (2013), quienes hallaron una relación inversamente proporcional entre la cantidad de agua en la formulación y la pérdida de LD en *cookies*.



**Figura IV.16.** Superficie de respuesta para nivel de LD en *cookies*

#### IV.4.5.b. Optimización del diseño experimental

Los valores mínimos y máximos obtenidos en los niveles de LD a partir del diseño experimental 4 fueron 37,9 y 41,9 mg/g de proteína respectivamente. Según estos resultados, la variabilidad en la disponibilidad del aminoácido según las condiciones de proceso empleadas es alrededor del 10 %. El criterio utilizado en la función de deseabilidad fue la maximización de la respuesta. El valor de deseabilidad hallado y las condiciones para la optimización se muestran en la Tabla IV.42.

Las condiciones de procesamiento que maximizan el valor de LD coinciden con los máximos valores de temperatura y nivel de agua ensayados, y corresponden a un tiempo de horneado de 4,5 minutos ( $t_{op}$ ).

**Tabla IV.42.** Condiciones óptimas de las variables de proceso para *cookies*

Variable independiente	Nivel óptimo
Agua (%)	29
Temperatura de cocción (°C)	250
Deseabilidad = 1,0	

#### IV.4.6. Conclusiones parciales

Por tratarse de productos que no requieren gran desarrollo del gluten, en la formulación de *cookies*, los niveles máximos de reemplazo con ingredientes proteicos utilizados en el diseño experimental mezcla fueron establecidos en 25 % para los tres componentes evaluados (HS, HA y WPC). A diferencia de lo ocurrido en el pan, las *cookies* permitieron incorporar porcentajes mas altos de sustituyentes de la HT, manteniendo aceptables sus características y atributos sensoriales.

El diseño experimental 3 evaluó 29 combinaciones de HT y componentes proteicos, resultando todas las mezclas experimentadas aceptables desde el punto de vista sensorial. La optimización del diseño, consistente en la maximización del valor asignado al puntaje total y la cantidad de proteínas aportadas, arrojó una solución correspondiente al punto: HT: 75 %, HS: 19 %, HA: 3 % y WPC: 3 %, la cual fue calificada como B en sus atributos sensoriales y presentó un contenido en proteínas ~68 % superior a la *cookie* testigo.

A partir de la determinación del tiempo óptimo de cocción se observó la mayor sensibilidad y objetividad del método espectrofotométrico para caracterizar cambios de color en *cookies*, cuando se lo comparó con el método de inspección visual. El desarrollo de color en esta matriz fue explicado a partir de un modelo de primer orden. La metodología de superficie de respuesta mostró que el contenido de agua en la formulación no afectó de manera significativa la constante de reacción en los niveles estudiados, implicando que en las condiciones de trabajo empleadas, el desarrollo de color fue gobernado por la temperatura. Ambos métodos de correlación empleados (modelo polinomial y ecuación de Arrhenius) fueron adecuados para predecir los valores de los coeficientes cinéticos en las condiciones tecnológicas estudiadas. El enfoque aplicado demostró la utilidad de la determinación del tiempo óptimo de cocción, así como de los modelos obtenidos para predecir el desarrollo de color en *cookies* frente a diferentes condiciones de horneado.

El aumento en la cantidad de agua incorporada a la formulación presentó un efecto protector contra la pérdida de lisina durante la cocción, indicando que aumentos en la cantidad de agua en la masa produjeron un retraso de la reacción de Maillard. Debido a que a mayor temperatura de horneado menor fue el tiempo de exposición, esta variable no modificó los valores de la respuesta en forma significativa. Las variables de proceso analizadas modificaron en ~10 % los valores de LD y las condiciones de procesamiento

que maximizaron los valores en esta respuesta fueron 29 % de agua en la formulación y temperatura de horneado de 250°C, correspondiente a una *cookie* con un tiempo de cocción de 4,5 minutos.

#### IV.5. EVALUACIÓN DE LOS PRODUCTOS (PAN DE MOLDE Y *COOKIES*) OBTENIDOS SEGÚN DISEÑOS EXPERIMENTALES 2 Y 4 (PUNTOS ÓPTIMOS)

A continuación en la Tabla IV.43 se presenta la formulación y condiciones de elaboración de los productos óptimos obtenidos a partir de los diseños experimentales aplicados y sus correspondientes testigos elaborados 100 % con HT.

##### IV.43. Formulación y condiciones de elaboración de las muestras testigo y optimizadas de pan de molde y *cookies*

Parámetro	Pan de molde		<i>Cookies</i>	
	Testigo (PT)	Óptimo (PO)	Testigo (CT)	Óptima (CO)
Componentes				
HT (g)	300,0	266,5	100	75
HS (g)	-	24,6	-	19
HA (g)	-	-	-	3
WPC (g)	-	8,9	-	3
Agua (%)	60,0	60,5	35	29
Condiciones de horneado				
T (°C)	180	160	220	250
t (min)	25	28	8	4,5

Como se observa en la Tabla IV.43, las condiciones de horneado optimizadas para el pan de molde y *cookies*, presentan diferencias. El pan de molde óptimo (PO) requirió condiciones de temperatura menores y mayor tiempo de cocción que el pan de molde testigo (PT), para alcanzar un color deseado con mínima pérdida de LD. Por otro lado, para lograr el mismo propósito, las condiciones de procesamiento en la *cookie* óptima (CO), correspondieron a mayor temperatura y menor tiempo de cocción que la *cookie* testigo (CT).

##### IV.5.1. Composición química

Los resultados del análisis químico proximal para pan de molde y *cookies* se presentan en las Tablas IV.44 y IV.45, respectivamente.

**Tabla IV.44.** Composición química de las muestras testigo y optimizada de pan de molde

Parámetro	PT	PO	<i>p</i>
	g/100 g		
Humedad	34,9 ± 0,04	35,1 ± 0,11	0,1242
Proteínas	9,60 ± 0,07	12,6 ± 0,07	<b>0,0005</b>
Grasa	2,06 ± 0,01	2,07 ± 0,06	0,8309
Cenizas	2,02 ± 0,09	3,00 ± 0,14	<b>0,0143</b>
Carbohidratos totales	51,4	47,2	
Fibra dietética	3,80 ± 0,07	4,28 ± 0,07	<b>0,0210</b>
Almidón resistente	0,93 ± 0,25	0,98 ± 0,26	0,0970

Media ± Desvío estándar. PT: pan de molde testigo; PO: pan de molde óptimo.

**Tabla IV.45.** Composición química de las muestras testigo y optimizada de *cookies*

Parámetro	CT	CO	<i>p</i>
	g/100 g		
Humedad	3,99 ± 0,01	5,64 ± 0,19	<b>0,0066</b>
Proteína	9,10 ± 0,14	15,3 ± 0,28	<b>0,0012</b>
Grasa	17,0 ± 0,18	16,6 ± 0,14	0,1501
Cenizas	1,50 ± 0,14	1,98 ± 0,04	<b>0,0440</b>
Carbohidratos totales	64,9	60,5	
Fibra dietética	3,50 ± 0,14	4,85 ± 0,04	<b>0,0059</b>
Almidón resistente	39,0 ± 0,33	41,2 ± 0,33	<b>0,0016</b>

Media ± Desvío estándar. CT: cookies testigo; CO: cookies óptimas.

El contenido de humedad en el PO no varió respecto del PT, sin embargo diferencias significativas fueron halladas cuando este mismo parámetro fue evaluado en la formulación de *cookies*. La CO presentó un contenido significativamente superior respecto de la CT, diferencia asociada a las distintas condiciones de horneado empleadas.

Para el cálculo del contenido de proteínas en las muestras optimizadas se utilizó el factor de conversión 6,25, correspondiente a mezclas de proteínas (CAA, Cap. V). Los productos optimizados mostraron valores de proteínas significativamente mayores que las muestras testigo, acorde con los mayores contenidos de proteínas medidos en las harinas alternativas en relación a la HT (Tabla IV.4). El PO aportó un ~30,0 % más de proteínas que el pan elaborado con 100 % HT, mientras que en la CO este incremento fue del ~68,0 %. Esta diferencia en el aumento de proteínas entre los productos optimizados está asociada al nivel de reemplazo de HT que presenta cada uno, mientras que la sustitución en pan fue del 11,8 %, en la *cookie* el porcentaje de reemplazo alcanzó el 25 %.

El valor diario de referencia (VDR) para proteínas de acuerdo al Reglamento Técnico MERCOSUR sobre el rotulado nutricional de alimentos envasados es 75 g (CAA, Cap. V), y en caso que el alimento aporte un 10 % del VDR/100 g de sólidos podrá ser considerado como “fuente de proteínas”, o con “alto contenido” si el aporte es igual o superior al 20 % del VDR/100 g de sólidos. De esta manera, las formulaciones de pan de molde y *cookies* optimizadas pueden ser consideradas como alimentos con “alto contenido” de proteínas, ya que aportan 19,3 y 16,2 g de proteínas/100 g de sólidos, respectivamente.

En cuanto al contenido de grasa, las muestras testigo y óptimas no difieren debido a que el extracto etéreo, en las distintas materias primas empleadas, resultó ser similar.

Las leguminosas resultan una mejor fuente de minerales que los cereales (Iqbal y col., 2006), lo cual se vio reflejado a través del incremento en el contenido de cenizas que fue observado en las muestras óptimas analizadas.

Al evaluar el contenido de FD se observó que ambas muestras optimizadas presentaron valores significativamente mayores a las muestras testigo, siendo la formulación de CO, según establece el CAA, fuente de este componente ( $\geq 3$  g/ 100 g sólidos) (CAA, cap. V). La FD proviene fundamentalmente de las leguminosas e incluye principalmente la lignina, celulosa y hemicelulosas (Islam y col., 2007). El aumento en el contenido de FD a expensas de carbohidratos digeribles en productos horneados presenta beneficios para la salud, ya que contribuye a reducir el estreñimiento asociado a menudo con el consumo de productos elaborados a partir de HT refinada (Elleuch y col., 2011; Jideani y Onwubali, 2009). De acuerdo con estudios bien documentados, se acepta que la FD juega un papel importante en la prevención de varias enfermedades tales como: enfermedades cardiovasculares, diverticulosis, estreñimiento, colon irritable, cáncer y diabetes (Elleuch y col., 2011; Slavin, 2005).

El mismo patrón observado con la FD se encontró al analizar los valores de AR. En el PO, el contenido de AR, si bien resultó superior al hallado en la muestra control, las diferencias no fueron significativas. En las *cookies* en cambio, el valor de AR hallado fue muy superior al del pan y la muestra óptima presentó una cantidad significativamente mayor a la testigo elaborada con HT. Las diferencias en la cantidad de AR entre las muestras de pan y *cookies*, podrían explicarse por el hecho de que la gelatinización del almidón no se produce durante el horneado en *cookies* debido al alto contenido de azúcar y bajo porcentaje de agua en la formulación (Chevallier y col., 2000), así, este almidón

podría resistir al ataque enzimático.

#### IV.5.1.a. Determinación del contenido de minerales

En las Tablas IV.46 y IV.47 se muestran los valores medios  $\pm$  desvío estándar del contenido de Fe, Zn, Ca y Na en las muestras analizadas.

**Tabla IV.46.** Contenido mineral en las muestras testigo y optimizada de pan de molde

Minerales	PT	PO	<i>p</i>
	mg/100 g		
Fe	3,86 $\pm$ 0,09	3,81 $\pm$ 0,24	0,8277
Zn	2,39 $\pm$ 0,15	2,35 $\pm$ 0,38	0,9148
Ca	34,79 $\pm$ 1,07	69,55 $\pm$ 3,61	<b>0,0058</b>
Na	658,86 $\pm$ 40,92	659,49 $\pm$ 19,96	0,9859

Media  $\pm$  Desvío estándar. PT: pan de molde testigo; PO: pan de molde óptimo.

**Tabla IV.47.** Contenido mineral en las muestras testigo y optimizada de *cookies*

Minerales	CT	CO	<i>p</i>
	mg/100 g		
Fe	1,93 $\pm$ 0,10	2,45 $\pm$ 0,11	<b>0,0361</b>
Zn	1,66 $\pm$ 0,60	1,37 $\pm$ 0,02	0,5656
Ca	49,49 $\pm$ 0,52	86,49 $\pm$ 3,16	<b>0,0037</b>
Na	266,32 $\pm$ 65,22	219,66 $\pm$ 0,26	0,4152

Media  $\pm$  Desvío estándar. CT: *cookies* testigo; CO: *cookies* óptimas.

El PO presentó mayor contenido de Ca que la muestra testigo, mientras que no se hallaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de Fe, Zn y Na. En el caso de las *cookies*, la CO presentó cantidades mayores de Ca y Fe, mientras que los minerales Zn y Na no presentaron diferencias respecto de la muestra elaborada con 100 % de HT.

Cabe remarcar que el concentrado de suero contiene una buena cantidad de calcio (Riou y col., 2011; Christian y col., 2001; Morr y Ha, 1993), por lo tanto las dos muestras que tienen el agregado de WPC, aportarán potencialmente mayor cantidad que las testigos. Visentín y col. (2009) observaron que el agregado de WPC en pan de molde incrementó el aporte de Ca, sin embargo también disminuyó la disponibilidad de Fe y Zn.

Según la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud de Argentina realizada en los

años 2004-2005 en niños y mujeres entre 10 y 49 años (ENNYS, 2007), el Ca resultó uno de los nutrientes más críticos, con un 94,3 % de mujeres que presentaron una ingesta menor a la ingesta diaria recomendada (IDR) (1000 mg/día), independiente de su localización geográfica, situación socioeconómica o edad. En el caso de los niños menores de 2 años el 28 % no cubrían la ingesta adecuada de este mineral, mientras que en el grupo de 2 a 5 años esta cifra llegaba al 45,6 %. Estos resultados corresponden a la primer Encuesta de Nutrición y Salud aplicada en nuestro país y si bien no se encuentran actualizados, evidencian que el Ca es uno de los nutrientes más críticos en mujeres y niños de nuestra población y remarcan la importancia de elaborar productos fuentes de este mineral. Una segunda versión de la misma encuesta, se encuentra en la actualidad en proceso de aplicación y sus resultados y publicaciones estarán disponibles a partir del segundo semestre del año 2016.

Las legumbres también presentan un buen aporte de Ca (Iqbal y col., 2006; Misra y col., 1991), por lo cual contribuyeron aumentando el contenido de este mineral en las muestras optimizadas. Proporcionan en promedio ~50 mg por porción (90 g), aunque existe variación entre los distintos tipos. La biodisponibilidad es en general del ~20 %, la cual resulta inferior a la de la leche y las verduras de hoja verde, pero sigue siendo razonablemente buena (Weaver y col., 1993).

Las legumbres son además ricas en Fe; una porción aporta ~2 mg. Sin embargo, la biodisponibilidad del Fe de las legumbres es pobre y por lo tanto su valor como fuente de este mineral es reducido. En contraste con la biodisponibilidad del Fe, la biodisponibilidad de Zn en legumbres es relativamente buena (~25 %) (Messina, 1999).

Por lo expuesto anteriormente, resulta de interés evaluar a futuro la dializabilidad mineral de las muestras óptimas aquí obtenidas, ya que el efecto negativo sobre la absorción de los minerales puede ser superado mediante el agregado de agentes promotores.

#### **IV.5.2. Determinaciones físicas**

##### *IV.5.2.a. Pan de molde*

En la Tabla IV.48 se presentan los parámetros físicos evaluados en las muestras testigo y optimizada de pan de molde.

El BI es un parámetro cuyo cálculo engloba a  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  y presenta importancia en

los procesos que ocurren reacciones de pardeamiento (no enzimático o enzimático) ya que se lo relaciona con la pureza del color marrón (Buera y col., 1985). El color mas oscuro en panes fortificados ha sido reportado por varios autores (Serrem y col., 2011; Akhtar y col., 2008; Singh y col., 2000). Sin embargo, hay que señalar que, aunque en algunos casos se hallaron diferencias significativas en los parámetros analizados en el PO respecto del pan elaborado 100 % con HT, estas pequeñas variaciones, detectables con el colorímetro, podrían tal vez no serlo por el ojo humano. Además, para todos los productos existe un rango de color en el que la aceptabilidad del mismo no se ve modificada, lo cual depende de la variabilidad en la preferencia entre los consumidores, la edad y el origen étnico, entre otros, (Mac Dougall, 2002); por lo que las diferencias encontradas en el color de la corteza podrían no afectar la elección del consumidor.

La aparición de un color mas oscuro en el PO está directamente relacionada con el aumento en el contenido de fibra de este (Hu y col., 2007), así como también se asocia a la incorporación de los ingredientes proteicos. El pardeamiento ocurre como consecuencia de las reacciones de caramelización y Maillard, reacciones que se ven favorecidas a través de la incorporación de materias primas proteicas, ya que son las proteínas los nutrientes que reaccionan con los azúcares durante el proceso de cocción (Mohseny col., 2009; Dhingra y Jood, 2001).

Entre los parámetros que determinan la calidad del pan se encuentra el volumen específico, que depende de la capacidad del gluten para retener el gas producido durante la fermentación, lo cual se encuentra asociado a un adecuado desarrollo de la red de gluten durante el amasado. El volumen alcanzado en el PO fue de 4,65 mL/g y no mostró diferencias significativas con el PT.

**Tabla IV.48.** Parámetros físicos en muestras testigo y optimizada de pan de molde

Parámetro	Muestra		<i>p</i>
	PT	PO	
Parámetros de color			
L*	54,0 ± 1,4	50,6 ± 0,8	< 0,0001
a*	16,5 ± 0,3	17,8 ± 0,2	< 0,0001
b*	32,8 ± 0,6	32,1 ± 0,8	0,081
BI*	109,6 ± 2,1	119,0 ± 1,9	< 0,0001
Vol. esp. (mL/g)	5,01 ± 0,09	4,65 ± 0,13	0,1371

\* Índice de amarronamiento.

Valores medios ± desvío estándar.

## IV.5.2.b. Cookies

Al igual que lo ocurrido en el pan, las CO presentaron diferencias significativas en los parámetros de color e BI respecto de la CT (Tabla IV.49). Estas diferencias, además de estar asociadas a los ingredientes proteicos utilizados en la muestra optimizada, responden a las distintas condiciones de procesamiento empleadas.

Diámetro, espesor y encogimiento no presentaron diferencias significativas entre muestras, indicando que la combinación de ingredientes seleccionada no perjudicó los parámetros físicos en la CO.

**Tabla IV.49.** Parámetros físicos en muestras testigo y optimizada de *cookies*

Parámetro	Muestra		<i>p</i>
	CT	CO	
Parámetros de color			
L*	58,7 ± 3,9	68,5 ± 0,6	< 0,0001
a*	12,2 ± 2,3	7,1 ± 1,1	< 0,0001
b*	31,1 ± 1,6	31,6 ± 0,9	0,4190
BI	87,2 ± 9,9	66,9 ± 3,3	< 0,0001
Diámetro (cm)	3,68 ± 0,18	3,73 ± 0,18	0,5401
Espesor (mm)	0,51 ± 0,02	0,51 ± 0,01	0,6778
Encogimiento (%)	3,75 ± 0,35	4,13 ± 0,18	0,3117

## IV.5.3. Estudio de la composición proteica

La calidad nutricional de una proteína está determinada por tres factores: su composición en aminoácidos esenciales, digestibilidad y el requerimiento de aminoácidos de las especies que la consumen.

## IV.5.3.a. Perfil de aminoácidos

Los valores obtenidos del perfil de aminoácidos en las muestras testigo y optimizadas se hallan representados en la Tabla IV.50 (pan de molde) y la Tabla IV.51 (*cookies*). Las concentraciones de los aminoácidos valina, isoleucina y triptófano no se presentan en este trabajo ya que no fueron evaluados. Sin embargo, al no ser éstos aminoácidos limitantes de las materias primas empleadas, el SQ fue calculado en función de los aminoácidos esenciales determinados.

**Tabla IV.50.** Perfil de aminoácidos en las muestras testigo y optimizada de pan de molde

AA	PT	PO	<i>p</i>
	mg /g proteína		
Asp + Glu	400,49 ± 2,94	375,48 ± 4,33	<b>0,0214</b>
Ser	68,65 ± 2,88	69,02 ± 0,11	0,8708
His	94,37 ± 2,86	87,35 ± 3,59	0,1631
Gli	60,57 ± 0,11	59,67 ± 0,45	0,1121
Tre	41,96 ± 1,19	48,41 ± 0,85	<b>0,0247</b>
Arg	52,49 ± 0,57	57,18 ± 1,12	<b>0,0342</b>
Ala	42,32 ± 2,90	49,56 ± 1,01	0,0729
Pro	24,15 ± 0,09	19,51 ± 1,15	<b>0,0296</b>
Tir	47,95 ± 0,65	48,01 ± 0,85	0,9492
Met	19,71 ± 0,01	17,50 ± 1,25	0,1291
Cis	58,48 ± 2,25	62,08 ± 2,01	0,2341
Leu	101,10 ± 2,22	106,58 ± 0,73	0,0797
Fen	75,54 ± 8,52	73,62 ± 0,50	0,7811
Lis	31,45 ± 3,49	47,95 ± 0,43	<b>0,0219</b>

Media ± desvío estándar. PT: pan de molde testigo; PO: pan de molde óptimo.

**Tabla IV.51.** Perfil de aminoácidos en las muestras testigo y optimizada de *cookies*

AA	CT	CO	<i>p</i>
	mg /g proteína		
Asp + Glu	434,71 ± 20,86	376,85 ± 4,71	0,0620
Ser	69,29 ± 0,40	66,85 ± 1,92	0,2197
His	74,83 ± 11,08	78,62 ± 3,08	0,6868
Gli	62,32 ± 2,69	59,00 ± 3,08	0,3695
Tre	39,75 ± 0,52	50,26 ± 1,18	<b>0,0074</b>
Arg	52,54 ± 1,15	72,63 ± 1,39	<b>0,0040</b>
Ala	43,57 ± 1,10	48,83 ± 2,13	0,0903
Pro	33,11 ± 1,37	18,84 ± 2,60	<b>0,0206</b>
Tir	40,03 ± 0,45	44,45 ± 0,45	<b>0,0101</b>
Met	17,04 ± 0,11	14,75 ± 0,53	<b>0,0270</b>
Cis	56,62 ± 1,73	63,79 ± 0,78	<b>0,0332</b>
Leu	97,97 ± 1,90	103,96 ± 1,07	0,0604
Fen	71,52 ± 3,07	70,72 ± 1,07	0,7620
Lis	24,62 ± 0,72	51,51 ± 3,70	<b>0,0096</b>

Media ± desvío estándar. CT: cookie testigo; CO: cookie óptima.

La utilización de harinas mezclas en pan mejoró significativamente los niveles de treonina, arginina y lisina, mientras que los valores de los aminoácidos no esenciales

ácidos aspártico y glutámico, y prolina resultaron ser estadísticamente inferiores en el PO cuando se los comparó con los niveles encontrados en el PT ( $p < 0,05$ ).

Por otro lado, en *cookies*, se halló que la CO presentó niveles superiores de los aminoácidos treonina, arginina, tirosina, cisteína y lisina, mientras que prolina y metionina se encontraron en cantidades inferiores a las halladas en la CT elaborada con 100 % de HT ( $p < 0,05$ ).

Los resultados hallados están asociados a las diferentes concentraciones de aminoácidos presentes en las materias primas empleadas en la elaboración de los productos.

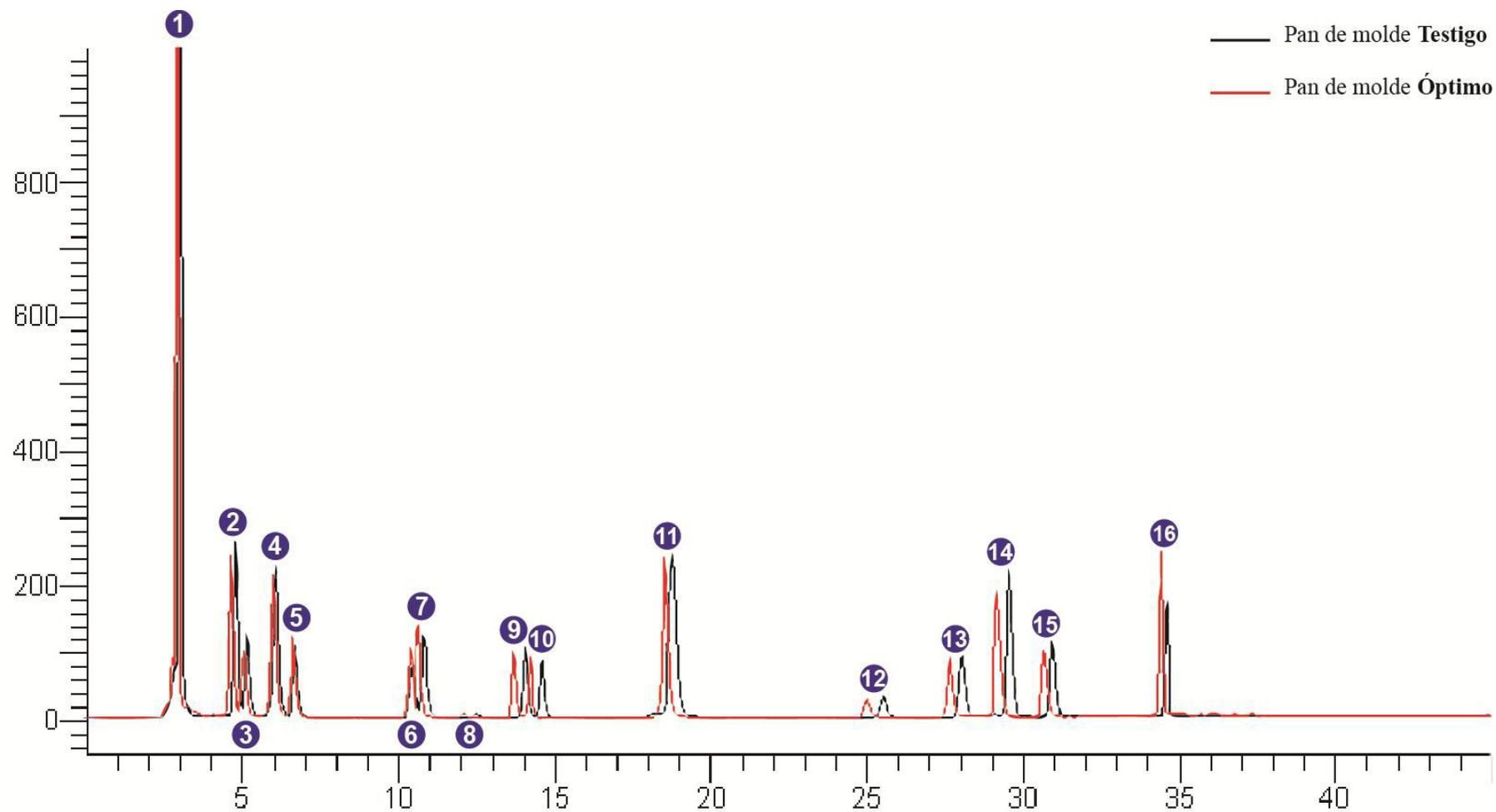
Las proteínas del trigo comprenden hasta un 80 % de gliadinas y glutelinas (proteínas formadoras del gluten), tienen un alto contenido de prolina y glutamina, a expensas de aminoácidos esenciales, en particular lisina y en menor medida treonina (Dewettinck y col., 2008).

La fortificación de productos de panadería con soja para mejorar el contenido de proteínas y el equilibrio en la composición de aminoácidos ha sido estudiada. La composición de aminoácidos de las proteínas de soja se asemeja, con excepción del contenido de aminoácidos azufrados (tales como metionina), a los patrones de aminoácidos de proteínas de alta calidad, como las proteínas de origen animal (Singh y col., 2008).

Tomoskozi y col. (2001) compararon la composición de aminoácidos de la harina, concentrados y aislados proteicos de arvejas con los correspondientes productos obtenidos a partir de soja. Los perfiles de aminoácidos resultaron similares en general, con altas concentraciones de glutamina, seguida por el ácido aspártico, arginina y lisina, y las más bajas contribuciones de metionina, triptófano y cisteína. Los productos de arveja tienen contenido más altos en arginina, valina y metionina, y más bajos en ácido glutámico y cisteína, que los productos a base de soja. En relación con las necesidades humanas (FAO/OMS/UNU, 2007), las proteínas presentes en arveja y otras legumbres, son ricas en lisina y marginales o deficientes con respecto a la metionina.

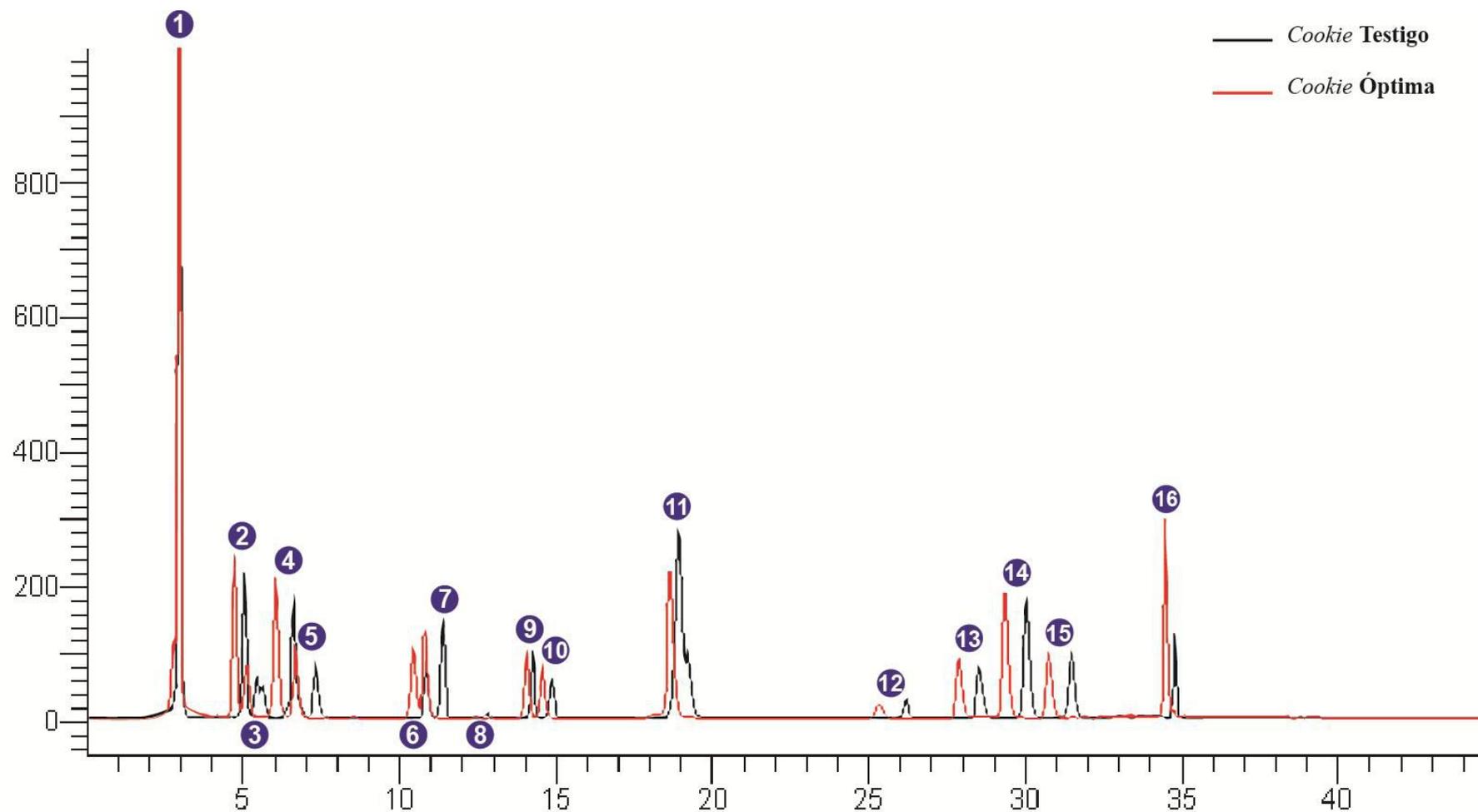
Por otro lado, las proteínas del WPC presentan un contenido elevado de los aminoácidos treonina, metionina y cisteína (Boye y col., 2011; Roy y col., 2010; Walzem y col., 2002; Renkema, 2001).

Los cromatogramas correspondientes se presentan en las Figuras IV.17 y IV.18.



**Figura IV.17.** Cromatogramas obtenidos del análisis de pan de molde Testigo y Óptimo por HPLC

1. Asp + Glu; 2. Ser; 3. His; 4. Gli; 5. Tre; 6. Arg; 7. Ala; 8. Pro; 9. Patrón interno; 10. Tir; 11.  $\text{NH}_3$ ; 12. Met; 13. Cis; 14. Leu; 15. Fen; 16. Lis.



**Figura IV.18.** Cromatogramas obtenidos del análisis de *Cookie Testigo* y *Óptima* por HPLC

1. Asp + Glu; 2. Ser; 3. His; 4. Gli; 5. Tre; 6. Arg; 7. Ala; 8. Pro; 9. Patrón interno; 10. Tir; 11.  $\text{NH}_3$ ; 12. Met; 13. Cis; 14. Leu; 15. Fen; 16. Lis.

Teniendo en cuenta que la calidad proteica está determinada por el contenido de AAe, se calculó el SQ para los panes y *cookies* analizados, dividiendo los mg de aminoácidos en la proteína en estudio por los mg de aminoácidos de la proteína patrón. Los resultados se presentan en la Tabla IV.52.

**Tabla IV.52.** SQ de las muestras testigo y optimizadas de pan de molde y *cookies*

AAe	Proteína de referencia*	SQ (%)			
		PT	PO	CT	CO
His	16	5,89	5,45	4,67	4,91
Tre	25	1,67	1,93	1,59	2,01
Fen + Tir	41	3,01	2,97	2,72	2,80
Met + Cis	23	3,40	3,46	3,20	3,41
Leu	61	1,65	1,74	1,60	1,70
Lis	48	0,65	0,99	0,51	1,07
AA limitante		Lis	Lis	Lis	-

\*Patrón de requerimientos de aminoácidos indispensables para niños de 3 a 10 años (FAO, 2013).

PT: pan de molde testigo; PO: pan de molde óptimo; CT: cookie testigo; CO: cookie óptima.

Al comparar la composición de las formulaciones de pan y *cookies* con el patrón de AA recomendado por la FAO (2013) en niños, de manera de evaluar la calidad biológica de las proteínas para todas las edades (excepto los menores de tres años), se encontró que la lisina fue el AA limitante en las muestras testigo. Los cereales son deficientes en lisina, por lo que los productos de panificación y galletería, al tener como ingrediente básico al trigo, presentan valores de SQ inferiores a 1 (Dewettinck y col., 2008). Las *cookies* optimizadas no presentaron AA limitante y el SQ del pan de molde para la lisina fue de 0,99.

#### IV.5.3.b. Digestibilidad proteica *in vitro* (%DP)

Varios ensayos han sido empleados para evaluar la calidad proteica en los alimentos incluyendo métodos *in vivo* e *in vitro*. Éstos últimos han sido recomendados por predecir de manera adecuada la digestibilidad verdadera de una proteína (FAO/OMS, 1989).

La digestibilidad condiciona la utilización de las proteínas alimenticias en forma variable, y refiere al porcentaje del nutriente consumido que es absorbido por el tracto gastrointestinal y que no es recuperado como N fecal (Hughes y col., 2011).

Las proteínas de la HT se modifican después del tratamiento térmico en un grado que depende de la intensidad del tratamiento aplicado. Ha sido demostrado que estas modificaciones implican no sólo la descomposición de las proteínas, sino también la agregación, reticulación y reacciones de tipo Maillard, que pueden traducirse en una disminución de la digestibilidad de la proteína (Martínez y col., 2014).

El método de evaluación *in vitro* aplicado en este trabajo, consistente en la digestión de la muestra en dos pasos con dos enzimas (pepsina y pancreatina), arrojó valores de %DP elevados, siendo de 100 y 95,5 % para el pan de molde y *cookie* formulados con harinas alternativas (Tabla IV.53). En los productos testigos, elaborados a partir de HT, la digestibilidad proteica resultó en ambos casos del 100 %. Estos resultados aseguran una buena asimilación y aprovechamiento de las proteínas por parte del organismo.

Al analizar datos de %DP en la bibliografía se hallaron diversidad de resultados, lo cual se asocia a que la %DP no sólo depende de la fuente de proteínas utilizada, sino también de las interacciones que pueden establecerse entre los nutrientes y la matriz, durante el proceso de elaboración así como también de los tratamientos térmicos aplicados.

El método sugerido en la actualidad para evaluar la calidad proteica es la calificación del cómputo químico o *score* de aminoácidos corregido por digestibilidad proteica o PDCAAS (Millward, 2012; Suárez López y col., 2006). El PDCAAS toma en consideración la capacidad de una proteína para suministrar aminoácidos esenciales y satisfacer las necesidades humanas. Este parámetro fue calculado en cada muestra multiplicando el dato de *score* por la cifra de digestibilidad proteica. En la Tabla IV.53 se presentan los resultados obtenidos.

**Tabla IV.53.** SQ de aminoácidos corregido por la digestibilidad (PDCAAS) en las muestras testigo y optimizadas de pan de molde y *cookies*

Muestra	Parámetro		
	SQ (Lis)	%DP	PDCAAS (%)
PT	0,65	100 ± 4,26	65,0
PO	0,99	100 ± 3,89	99,0
CT	0,51	100 ± 0,07	51,0
CO	1,07	95,5 ± 1,12	95,5

Los valores de PDCAAS se calcularon a partir de un SQ máximo de 1. %DP: digestibilidad proteica *in vitro*; PT: pan de molde testigo; PO: pan de molde óptimo; CT: *cookie* testigo; CO: *cookie* óptima.

Como se puede observar, los productos optimizados presentaron valores de PDCAAS significativamente más altos que sus correspondientes testigos elaborados a partir de HT, lo que implica una mejora en la calidad nutricional de los mismos. Estos valores son similares a los hallados por Endres (2001), quien determinó un valor de PDCAAS de 0,65 para el 100 % de HT y un PDCAAS de 0,98 para la mezcla 90-10 de HT y concentrado de proteínas de soja, y se corresponden además con los resultados obtenidos por Serrem y col. (2011).

#### *IV.5.3.c. Lisina Disponible*

Debido a que el contenido de lisina total (LT), no siempre se correlaciona bien con el valor nutricional de la proteína, es importante determinar el contenido de LD o biológicamente activa (Araújo y Menezes, 2005). Grandes diferencias entre la LT y la LD en productos alimenticios a base de cereales han sido observadas con anterioridad (Torbatinejad y col., 2005). Como con todos los métodos químicos directos, el método para determinar la LD utilizado en este trabajo tiene la ventaja de permitir cuantificar las alteraciones que afectan al grupo  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> de la lisina. En consecuencia, además de la reacción de Maillard, otras reacciones que alteren a la proteína y que hagan a la lisina no disponible, también estarían siendo medidas. Los valores de LD en las muestras testigos y optimizadas se presentan a continuación en la Tabla IV.54. Como se observa, los productos optimizados presentaron un contenido de lisina significativamente superior a su correspondiente testigo ( $p < 0,05$ ). El contenido de este aminoácido esencial aumentó un 49,6 y 107,1 % en PO y CO respectivamente, en comparación con las muestras elaboradas con 100 % de HT.

Al comparar las concentraciones de este aminoácido halladas en otros estudios, se observa que las cantidades varían ampliamente. Según Endres (2001), mediante la adición de 12 % de HS en pan, la cantidad de lisina se duplica y el contenido de proteínas se incrementa hasta en un 50 %. Por otro lado, Dhingra y Jood (2001) hallaron que el contenido total de lisina en un pan control elaborado con HT 100 % fue de 23,6 mg/g proteína, cantidad inferior a las halladas en el presente trabajo, y que en panes suplementados con HS desgrasada en una cantidad de 10 % de sustitución, el contenido total de lisina aumentó significativamente a 30,5 mg/g de proteína, lo que implica un aumento del ~30 %.

A partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo se observa que la pérdida en

la disponibilidad de lisina es elevada en todos los casos. La disminución en los niveles de LD con respecto a la LT ha sido observada por otros autores (Sosa, 2011; Pérez y col., 2008; Ramírez Jiménez y col., 2001; Tosi y col., 1994). La reacción de Maillard, que da origen a la formación de aromas, compuestos coloreados y antioxidantes, produciendo además la pérdida de aminoácidos esenciales, fundamentaría los resultados hallados. Además, destaca que la reducción en la disponibilidad fue superior en los panes respecto de las *cookies*. Esto último podría ser asociado a la exposición durante tiempos más prolongados a las altas temperaturas de horneado.

**Tabla IV.54.** Valores de lisina total y lisina disponible en muestras testigos y optimizadas de pan de molde y *cookies*

Muestra	Lisina (mg/g proteína)		Pérdida LD (%)
	Total	Disponible	
PT	31,45 ± 3,49	22,55 ± 0,86	28,3
PO	47,95 ± 0,43	33,74 ± 1,67	29,6
CT	24,62 ± 0,72	20,26 ± 0,16	17,7
CO	51,51 ± 3,70	41,96 ± 0,43	19,5

Media ± desvío estándar. PT: pan de molde testigo; PO: pan de molde óptimo; CT: cookie testigo; cookie óptima.

Debido a que son los valores de LD los que representan la cantidad de aminoácido que puede ser utilizado por el organismo, se recalculó el SQ así como también el parámetro PDCAAS a partir de éstos valores (Tabla IV.55).

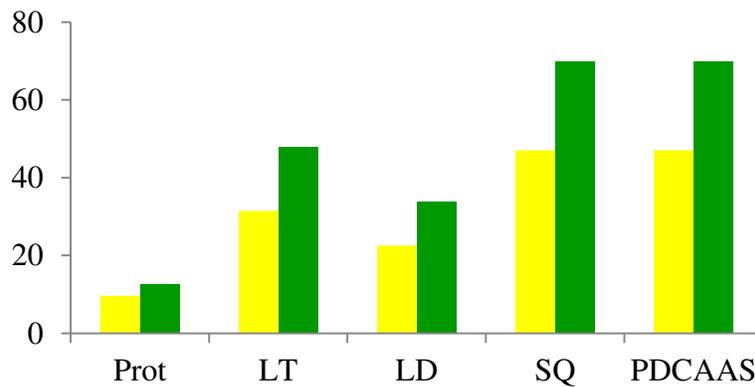
**Tabla IV.55.** SQ de aminoácidos corregido por la digestibilidad (PDCAAS)

Muestra	Parámetro			
	LD*	SQ	%DP	PDCAAS (%)
PT	22,55 ± 0,86	0,47	100 ± 4,26	47,0
PO	33,74 ± 1,67	0,70	100 ± 3,89	70,0
CT	20,26 ± 0,16	0,42	100 ± 0,07	42,0
CO	41,96 ± 0,43	0,86	95,5 ± 1,12	82,0

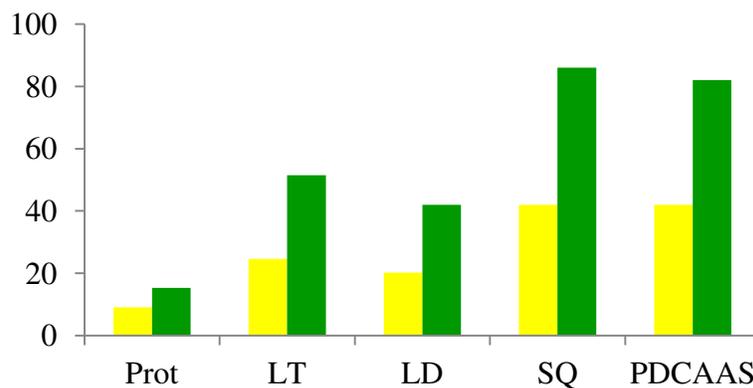
\* (mg/g proteína). Los valores de PDCAAS se calcularon a partir de un SQ máximo de 1. %DP: digestibilidad proteica in vitro; PT: pan de molde testigo; PO: pan de molde óptimo; CT: cookie testigo; CO: cookie óptima.

El cambio en los resultados refleja la importancia en considerar los datos de LD como los valores reales de aminoácido aprovechable.

Las Figuras IV.19 y IV.20 comparan los resultados de calidad proteica en las muestras testigos y óptimas de pan de molde y *cookies* desarrollados. Allí se puede apreciar la mejora nutricional lograda en los productos optimizados tanto desde el punto de vista cuantitativo como cualitativo.



**Figura IV.19.** Calidad proteica: ■ PT ■ PO



**Figura IV.20.** Calidad proteica: ■ CT ■ CO

#### IV.5.4. Análisis sensorial

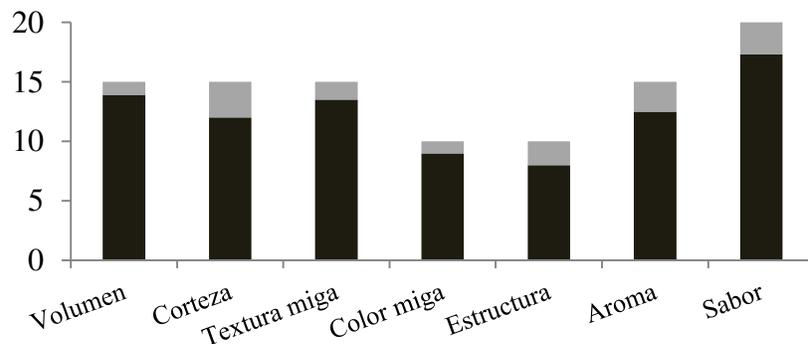
Para el análisis sensorial de los productos optimizados se aplicó una evaluación con panel de expertos y un ensayo de aceptabilidad con consumidores no entrenados. A fin de evaluar la aceptación de los productos desarrollados y teniendo en cuenta que la medida de la aceptabilidad sensorial es un paso lógico y necesario antes de lanzar un producto al mercado, los consumidores evaluaron el agrado general a través de una escala hedónica estructurada de cinco puntos (1 = me disgusta mucho, 5 = me gusta mucho). El propósito de usar ambos tipos de evaluadores consistió en emplear el carácter objetivo que puede brindar un panelista entrenado (panel de expertos) y el carácter subjetivo de los consumidores (catadores no entrenados).

##### IV.5.4.a. Pan de molde

Los panes se elaboraron teniendo en cuenta los ingredientes y las condiciones de proceso detalladas en la Tabla IV.43 y se colocaron en bolsas polietileno con cierre hermético. El análisis sensorial se llevó a cabo el mismo día de la elaboración.

##### *Evaluación sensorial con panel de expertos*

El panel de evaluadores expertos realizó el análisis sensorial de pan de molde según se detalla en el punto III.3.1.a. A partir de la evaluación, se obtuvieron los valores medios obtenidos para cada atributo y se calculó el puntaje total asignado. En la Figura IV.21 se representa mediante un gráfico de columna la evaluación sensorial realizada.

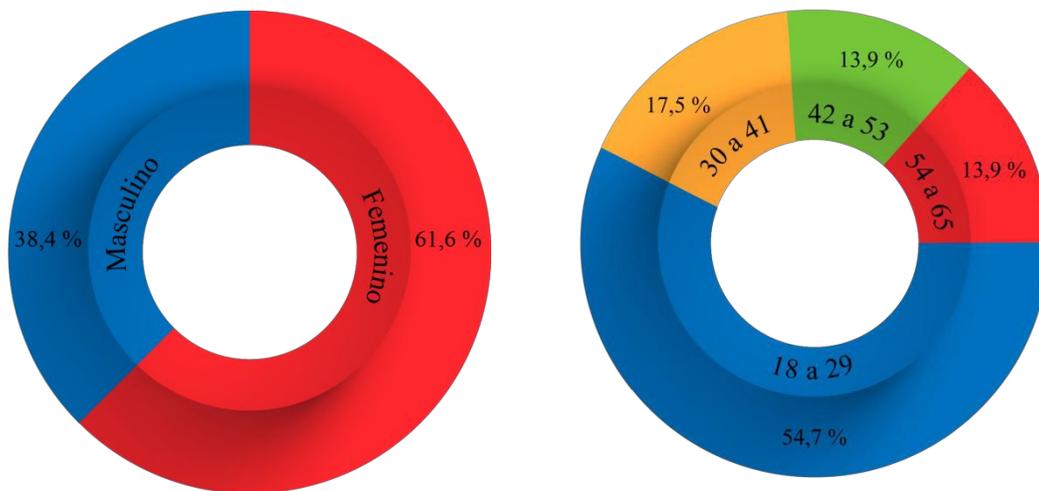


**Figura IV.21.** Evaluación sensorial en PO realizada por evaluadores expertos

De la gráfica se observa que todos los atributos evaluados presentaron una buena aceptación por parte del panel. La calificación final de acuerdo a la sumatoria de los puntajes asignados por atributos del PO fue de 86,2 y correspondió a la categoría “muy bueno” (MB: 80-90).

*Ensayo de aceptabilidad con consumidores*

La evaluación sensorial del PO con evaluadores no entrenados fue realizada por 86 personas, consumidores habituales del producto, que participaron del ensayo de manera voluntaria. En la Figura IV.22 se muestra la distribución por sexo y edad de los participantes.



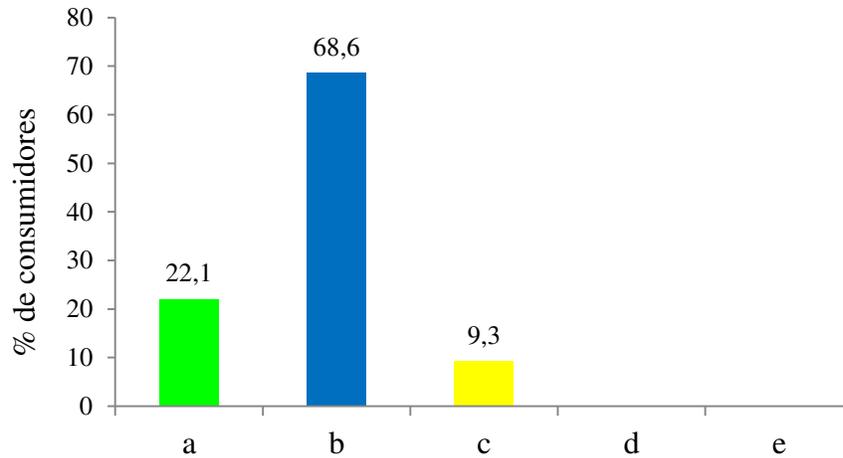
**Figura IV.22.** Distribución por sexo y edad de los consumidores

En la distribución por sexo se observa un claro predominio de mujeres. El rango de edad de los participantes estuvo comprendido entre 18 y 65 años y para el análisis de los datos los participante se dividieron en cuatro grupos etarios correspondientes a las categorías de edad de 18 a 29, 30 a 41, 42 a 53 y 54 a 65 años.

En la Figura IV.23 se muestra a través de un gráfico de columnas, el porcentaje de consumidores que seleccionó cada parámetro de la escala hedónica.

El grado de aceptación del PO resultó muy bueno, un porcentaje superior al 90 % de los participantes coincidieron en un grado de gusto entre “me gusta” y “me gusta mucho”, mientras que ningún consumidor calificó a la muestra con las opciones de disgusto. El valor

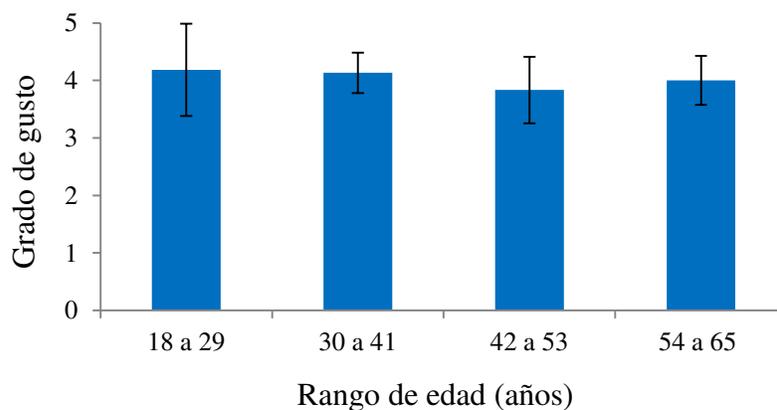
medio correspondiente al *score* asignado al pan de molde fue de 4,14, valor que se corresponde con la categoría “me gusta” en la escala hedónica.



**Figura IV.23.** Frecuencia de aceptabilidad sensorial del PO

*a: me gusta mucho; b: me gusta; c: no me gusta ni me disgusta; d: me disgusta; e: me disgusta mucho.*

En la Figura IV.24 se muestran los promedios obtenidos de la escala hedónica, según edad del evaluador. Se realizó un análisis de la varianza para evaluar la aceptabilidad en función del grupo etario de los consumidores, hallando que no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,09$ ). Tampoco se encontraron diferencias en la percepción de agrado cuando se analizaron los datos en función del sexo de los individuos encuestados ( $p = 0,28$ ).



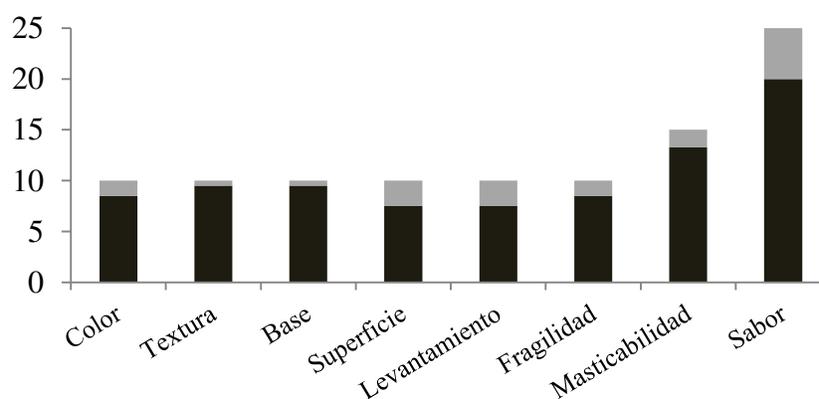
**Figura IV.24.** Puntajes promedio del grado de gusto del PO por franja etaria

## IV.5.4.b. Cookies

Las *cookies* fueron elaboradas teniendo en cuenta los ingredientes y las condiciones de proceso detalladas en la Tabla IV.43. Luego de su elaboración, fueron almacenadas en bolsas polietileno con cierre hermético. El análisis sensorial se llevó a cabo al día siguiente.

*Evaluación sensorial con panel de expertos*

De la evaluación realizada con el panel de evaluadores expertos se calcularon los valores medios obtenidos para cada atributo y se calculó el puntaje total otorgado a la muestra. En la Figura IV.25 se representa mediante un gráfico de columna la evaluación sensorial realizada por el panel.

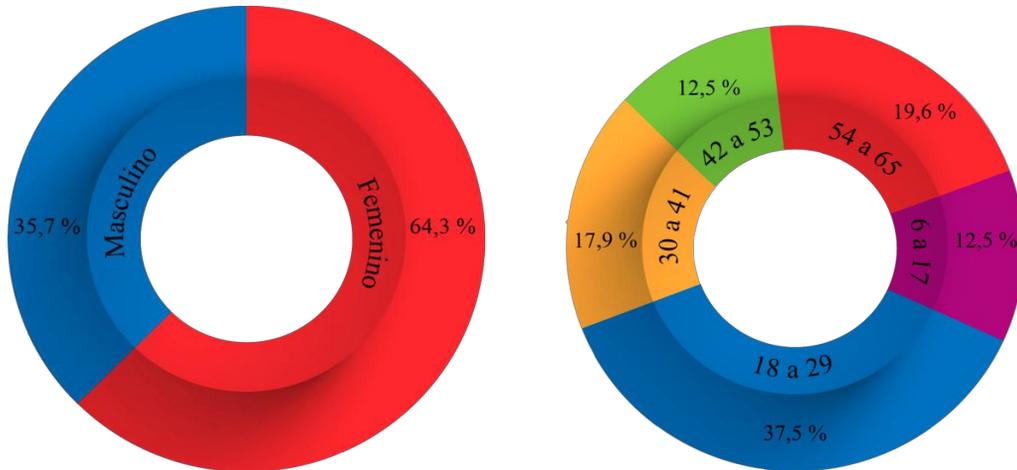


**Figura IV.25.** Evaluación sensorial en las CO realizada por evaluadores expertos

La calificación final de las CO, de acuerdo a la sumatoria de los puntajes asignados se correspondió con la categoría “muy bueno” (MB: 80-90), siendo cada uno de los atributos evaluados por los expertos aceptables sensorialmente.

*Ensayo de aceptabilidad con consumidores*

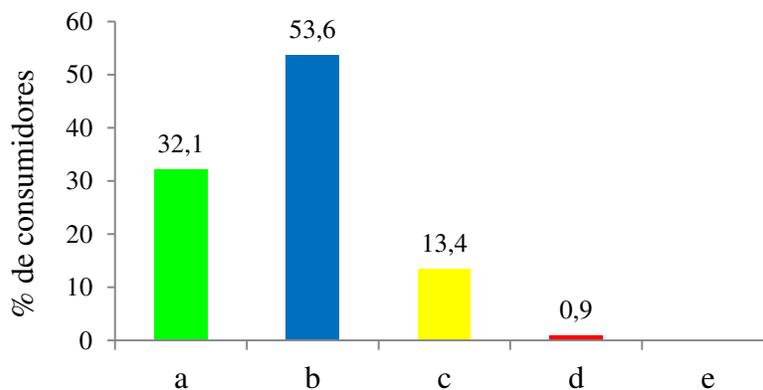
La evaluación de aceptabilidad fue realizada por 112 personas, frecuentes consumidores del producto, que participaron del ensayo de manera voluntaria. En la Figura IV.26 se muestra la distribución por sexo y edad de los participantes.



**Figura IV.26.** Distribución por sexo y edad de los consumidores

Nuevamente, se observa un predominio del sexo femenino. El rango de edad estuvo comprendido entre 6 y 65 años. En este caso se decidió incorporar en la evaluación a niños y adolescentes de entre 6 y 17 años ya que constituyen uno de los principales consumidores de este producto (Cornejo Anneris y col., 2009). Al igual que lo realizado en la evaluación del pan, para el análisis de los datos los participante se dividieron por grupos etarios como se muestra en la Figura IV.26.

En la Figura IV.27 se presenta el gráfico de frecuencia donde se puede observar el porcentaje de consumidores que seleccionó cada parámetro de la escala hedónica, a partir de un gráfico de columnas.

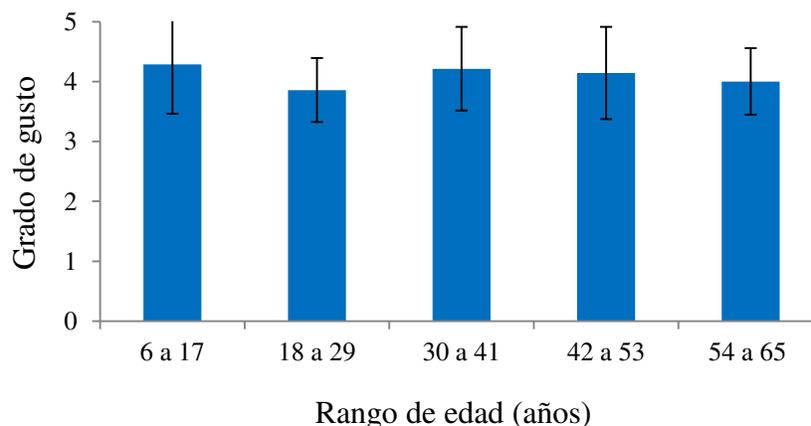


**Figura IV.27.** Frecuencia de aceptabilidad sensorial en *cookies*

a: me gusta mucho; b: me gusta; c: no me gusta ni me disgusta; d: me disgusta; e: me disgusta mucho.

En líneas generales se puede decir que la aceptabilidad de las *cookies* fue muy buena, más del 85 % de los participantes coincidieron en un grado de gusto que estuvo entre “me gusta” y “me gusta mucho” y sólo un participante, correspondiente a la categoría de edad entre 6 y 17 años, contestó “me disgusta”.

Se aplicó el test de Anova para evaluar el grado de gusto en función del sexo de los consumidores, hallando que no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,11$ ). Como se observa en la Figura IV.28 tampoco fueron halladas diferencias significativas en el grado de gusto cuando se analizó según la edad del evaluador ( $p = 0,47$ ). Estos resultados indican un agrado similar de la muestra que resulta independiente del sexo y edad del consumidor.



**Figura. IV.28.** Puntajes promedio del grado de gusto de *cookies* por franja etaria

Finalmente, el estudio sensorial aplicado sobre los productos desarrollados en el presente trabajo demostró una buena calidad en las características sensoriales según lo evaluado por el panel de expertos y una buena aceptabilidad global por parte de los consumidores. Estos resultados sugieren el éxito en la combinación de los ingredientes proteicos utilizados, así como también la adecuada selección de las condiciones de procesamiento empleadas en cada producto.

## IV.5.5. Valor nutricional

Las Tablas IV.56 y IV.57 presentan la información nutricional de los panes de molde y *cookies* elaborados con 100 % de HT y los puntos óptimos obtenidos en este trabajo.

**Tabla IV.56.** Información nutricional de las muestras testigo y optimizada de pan de molde

	PT		PO	
	Cant. por porción*	% VD **	Cant. por porción	%VD
Calorías (Kcal)	131,4	6,6	135,5	6,8
Proteínas (g)	4,8	5,6	6,3	7,4
Grasas (g)	1,0	1,8	1,1	2,0
Carbohidratos (g)	25,8	9,1	25,1	8,8
Fibra dietaria (g)	1,9	7,6	2,14	8,6
Sodio (mg)	329,43	13,2	329,74	13,2

\*Porción equivalente a 50 g (2 rodajas). \*\*Valores diarios con base a una dieta de 2000 kcal.

**Tabla IV.57.** Información nutricional de las muestras testigo y optimizada de *cookies*

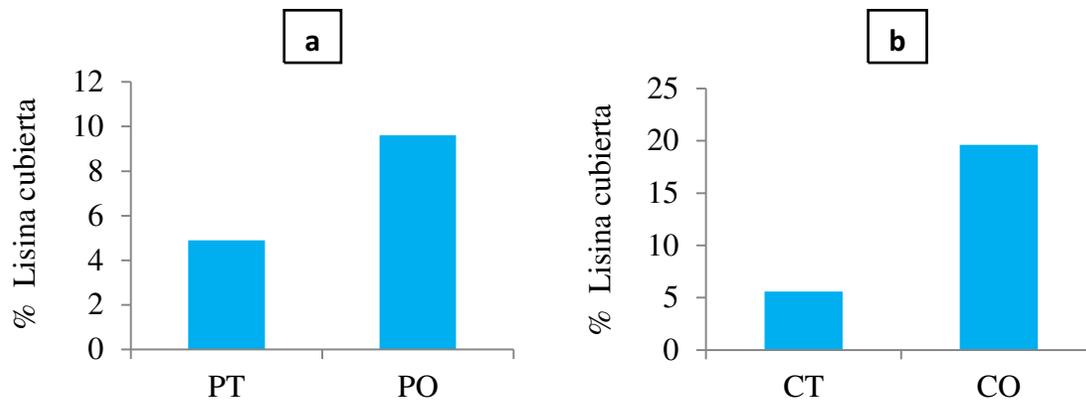
	CT		CO	
	Cant. por porción*	% VD **	Cant. por porción	%VD
Calorías (Kcal)	138,2	6,9	136,3	6,8
Proteínas (g)	2,7	3,2	4,6	5,4
Grasas (g)	5,0	9,1	5,1	9,3
Carbohidratos (g)	20,6	7,2	18,0	6,3
Fibra dietaria (g)	1,1	4,4	1,5	6,0
Sodio	79,9	3,2	65,9	2,6

\*Porción equivalente a 30 g (10 cookies). \*\*Valores diarios con base a una dieta de 2000 kcal.

Según un reporte de FAO/OMS/UNU (2007) la ingesta de lisina que cubre las necesidades para todas las edades (excepto menores de 3 años) es de 48 mg por cada g de proteína ingerido. Este informe recomienda además la ingesta de 0,66 g de proteínas por cada kg de peso corporal por día.

Con los datos obtenidos en el presente trabajo y las recomendaciones citadas anteriormente, se calculó el porcentaje de lisina que cubre una porción de 50 g de PT y PO en adultos con un peso promedio de 70 kg. Por otro lado, se analizó el porcentaje de lisina que es

cubierto mediante una porción diaria de 30 g de CT y CO, en niños de 10 años de edad con un peso promedio de 31 kg. Los resultados se presentan en la Figura IV.29.



**Figura IV.29.** Porcentaje de lisina cubiertos: **a)** por porción de PT y PO en adultos. **b)** por porción de CT y CO en niños de aproximadamente 10 años de edad

Por medio de estos cálculos se determinó que una porción de PO cubre ~10 % de la ingesta recomendada de lisina en adultos; mientras que una porción de CO aporta el ~20 % en niños. Teniendo en cuenta que estos productos no son alimentos principales en la dieta, un aporte de este tipo podría considerarse suficiente y contribuir junto al consumo de otros alimentos (huevos, carne, leche, legumbres) a aproximar al consumo de lisina recomendado.

Finalmente se calculó el precio de los productos desarrollados con el objetivo de comparar los costos respecto de las muestras control. El valor de los productos fue calculado teniendo en cuenta el precio de las materias primas en las empresas y mercados donde fueron adquiridas, como se indicó en el apartado de materiales y métodos. A partir del análisis realizado fue determinado el valor de los productos por 100 g. El PO presentó un costo de \$ 1,68 frente al PT con un valor de \$ 1,61, lo que implicó un incremento del valor del 4,3 %. Por otro lado, la CO tuvo un valor de \$1,88 respecto a la CT con un valor de \$ 1,76, implicando en este caso la fortificación del producto, un incremento del 6,8 % en su valor. De esta forma, se concluye que los productos obtenidos en el presente trabajo pueden ser considerados Alimentos de Interés Social, es decir alimentos con valor nutricional mejorado y de bajo costo.

### III.5.6. Conclusiones parciales

La utilización de harinas compuestas permitió desarrollar formulaciones de pan de molde y *cookies* con mejores características nutricionales sin perjudicar la calidad organoléptica de los productos. Las mezclas optimizadas resultaron fuentes de proteínas y con un aumento en el contenido de FD, además mejoró en aporte de Ca y en caso de la *cookie* también aumentó el aporte de Fe.

Respecto a la calidad proteica, las muestras presentaron muy buena digestibilidad y mayores niveles de lisina total, LD, SQ y PDCAAS con respecto a las elaboradas con 100 % de HT (testigos). Una porción de PO cubre alrededor de 10 % de la ingesta recomendada de lisina en adultos; mientras que una porción de CO cubre el 20 % en niños, aportes que contribuyen eficientemente a alcanzar los niveles de consumo recomendados.

De los resultados del análisis sensorial aplicado en las muestras optimizadas de pan de molde y *cookies* se deduce que ambos productos fueron calificados como MB por el panel de expertos. Además, la evaluación realizada con consumidores, sugieren que la mezcla de ingredientes adicionados resultó exitosa, al no perjudicar características generales de los productos como apariencia, color y sabor, aspectos que son tomados en cuenta por el consumidor a la hora de realizar la evaluación global en un alimento. En su mayoría los consumidores seleccionaron la opción “me gusta”, grado de gusto que resultó independiente del sexo y edad del evaluador. Finalmente, se halló una coherencia entre los resultados obtenidos a partir de la evaluación sensorial con el panel de expertos y el ensayo de aceptabilidad con consumidores.

## ***V. CONCLUSIONES GENERALES***

---

La demanda de productos de panadería ha ido en aumento en todo el mundo durante los últimos tiempos. La mayoría de estos productos, pan y *cookies*, se elaboran a partir de HT refinadas, por lo que son bajos en proteína, lisina, minerales, vitaminas y fibra dietética. La mayoría, entre ellos las *cookies*, presenta una buena vida útil, son fáciles de transportar y presentan una amplia aceptación entre los consumidores. Por lo tanto, resultan atractivos vehículos para la fortificación.

En este trabajo de tesis se estudió la posibilidad de desarrollar formulaciones para elaboración de pan de molde y *cookies* con calidad tecnológica y sensorial aceptables y mayor calidad nutricional, a través de la incorporación de proteínas de alto valor biológico, utilizando materias primas no convencionales.

### ***Harinas de trigo comercial***

Se hallaron diferencias entre las HT comercial evaluadas en cuanto a sus características físicas, reológicas y la performance panadera. Esta variabilidad se encuentra relacionada fundamentalmente a variaciones en el proceso de molienda. Todas las muestras cumplieron con las especificaciones establecidas en el CAA respecto al contenido de humedad, sin embargo ninguna presentó un contenido de cenizas dentro del rango establecido para harinas panificables. En la prueba de panificación se obtuvieron panes de diferentes tamaños, asociado fundamentalmente este hecho al contenido de proteínas en la harina y los parámetros alveográficos W y P/L.

### ***Ingredientes proteicos***

Al analizar las características de composición y el comportamiento reológico de los ingredientes proteicos utilizados: HS, HA y WPC, se observó que presentaron valores de proteína, materia grasa y ceniza superiores a los de la HT. La HS presentó un contenido de proteínas muy superior a la HA (~45 y 21 %, respectivamente), de hecho esta leguminosa se caracteriza por presentar un alto contenido de este nutriente, pero al ser la harina utilizada desgrasada, el contenido relativo de proteínas resultó aún mayor. Estos ingredientes afectaron ligeramente los parámetros farinográficos como estabilidad y ablandamiento, además la absorción de agua aumentó con el agregado de HS y HA, mientras que el agregado de WPC

produjo el efecto contrario.

### ***Pan de molde***

A fin de obtener panes elaborados con HS, HA y WPC que presenten aceptables características físicas y sensoriales, se ensayaron diferentes niveles de sustitución, para analizar cómo estas harinas no panaderas afectaban la estructura y atributos sensoriales, de modo de establecer la máxima cantidad en las que podían ser utilizadas.

La HS provocó una reducción en el volumen de la pieza y en el puntaje total otorgado por el panel de evaluadores proporcional al nivel de sustitución ensayado. La HA no ocasionó cambios en el volumen específico del pan cuando se empleó en niveles de 5 y 10 %, pero produjo una reducción significativa al emplear dosis mayores. Así mismo, la sustitución con HA produjo efectos negativos en el color y sabor del pan, por lo cual el puntaje total asignado disminuyó a medida que se incrementaron los niveles de sustitución de este ingrediente. Por último, el WPC fue el componente que perjudicó en mayor medida las características físicas del pan a medida que se avanzó en el nivel de sustitución utilizado, asociado fundamentalmente con una reducción del volumen y mala calificación a los atributos sabor, aroma y textura.

Es importante considerar, más allá de las propiedades nutricionales, que los ingredientes proteicos utilizados en este trabajo carecen de gluten, el cual presenta un papel primordial en la calidad de panes. Por esto se llegó a una situación de equilibrio entre la incorporación de estas fuentes proteicas y la calidad tecnológica y sensorial del producto resultante. Así, se propuso como límite de reemplazo máximo a utilizar en la combinación de ingredientes proteicos, porcentajes de sustitución no mayores al 15 % para la HS, 20 % para HA y 10 % para WPC.

La utilización del diseño estadístico de mezclas contribuyó a dar el máximo de información de los constituyentes, sus efectos individuales y sus eventuales interacciones. Asimismo, permitió reducir considerablemente el número de ensayos necesarios facilitando el estudio.

El diseño de mezcla utilizado en la combinación de ingredientes proteicos para pan de molde se denominó diseño experimental 1 y los panes obtenidos con las distintas mezclas

fueron evaluados en su volumen específico, puntaje total y contenido de proteínas. Al analizar el volumen específico se observó que los tres ingredientes proteicos adicionados causaron una disminución de esta respuesta, siendo el WPC el componente que causó mayor variabilidad. En cuanto al puntaje total, se observó que el mínimo valor en la respuesta fue producido por la máxima concentración de WPC en la mezcla. Finalmente la HS fue el componente que maximizó el contenido de proteínas, mientras que la HA lo disminuyó conforme incrementó su concentración en la mezcla de ingredientes proteicos. Este diseño permitió la optimización de las respuestas evaluadas mediante una solución de compromiso entre calidad sensorial y valor nutricional, expresado como aporte proteico. La formulación así obtenida arrojó una solución correspondiente al punto: HT: 88,8 %, HS: 8,2 %, HA: 0 % y WPC 3 %, logrando de esta manera un nivel de reemplazo con harinas compuestas de 11,2 %. Esta formulación no incorporó HA, asociado principalmente a que fue ésta, dentro de los ingredientes evaluados, la que presentó el menor aporte proteico. El pan de molde obtenido a partir de este diseño experimental presentó un volumen específico de 4,65 mL/g, una calificación MB a partir del puntaje total asignado y un valor de proteínas de 12,55 g/100 g.

Al analizar los cambios en los parámetros de color en corteza y miga, peso, volumen, volumen específico y LD en función de las variables de proceso temperatura y tiempo de cocción, a partir del diseño experimental 2, se observó que los parámetros de color  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$  en la corteza de pan de molde presentaron una relación inversamente proporcional con los factores analizados, asociado al pardeamiento desarrollado. Sin embargo no fue posible modelar el cambio de color del parámetro  $a^*$ , ya que el modelo presentó falta de ajuste significativa. Así mismo, éstas variables presentaron menor influencia sobre los parámetros de color cuando fueron evaluados en la miga del pan, debido fundamentalmente a que este parámetro es sensible al cambio de formulación, efecto que no fue estudiado en este punto. La variación del volumen no pudo ser explicada por las variables de proceso analizadas, lo cual puede estar asociado a diferentes tiempo de leudado durante la fermentación. El peso del pan disminuyó significativamente con el aumento de la temperatura, lo cual demuestra que los parámetros temperatura y tiempo de cocción afectan la capacidad de retención de humedad en la miga. Respecto al contenido de LD, se evidenció que parte de este aminoácido esencial se pierde durante la cocción, siendo este hecho influenciado por las condiciones de proceso

empleadas. Los niveles de LD presentaron una relación inversamente proporcional con la temperatura y el tiempo de horneado, variables que redujeron hasta un 15 % los valores de disponibilidad. Así mismo, se halló una correlación positiva significativa entre los niveles de LD y los parámetros  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $C_{ab}^*$  y  $h_{ab}^*$  analizados en la corteza del pan, indicando que un cambio de color repercutirá en forma proporcional en los valores de disponibilidad del aminoácido y podría ser utilizado como un indicador del calentamiento excesivo.

Las condiciones de horneado óptimas, que permitieron generar un pan de molde con desarrollo de color aceptable y maximizaron el contenido de LD, correspondieron a una temperatura de 160°C y un tiempo de horneado de 28 minutos.

### *Cookies*

La fuente grasa empleada en la formulación de *cookies* resultó ser oleomargarina debido a su mejor comportamiento respecto al sabor, rancidez e índice de peróxidos, cuando se comparó los resultados con los hallados a partir de la utilización de aceite de maíz y girasol.

A diferencia de lo ocurrido en el pan, las *cookies*, permitieron incorporar mayores porcentajes de sustituyentes de la HT, manteniendo aceptables sus características y atributos sensoriales. Los niveles de reemplazo máximo de ingredientes proteicos a ser utilizados en el diseño experimental mezcla fueron establecidos en 25 % para los tres componentes valorados (HS, HA y WPC).

El diseño experimental de mezcla, denominado diseño experimental 3, permitió evaluar la combinación de ingredientes proteicos en esta matriz. La optimización del diseño, consistente en la maximización del valor asignado al puntaje total y la cantidad de proteínas aportadas, arrojó una solución correspondiente al punto: HT: 75 %, HS: 19 %, HA: 3 % y WPC: 3 %, la cual fue calificada como B en sus atributos sensoriales y presentó un contenido en proteínas de 15,30 g/100 g de producto. Los niveles elevados de HS en la formulación óptima están asociados al aporte proteico de este ingrediente, mientras que concentraciones más bajas de HA y WPC se asocian fundamentalmente a su influencia en los parámetros sensoriales.

El  $t_{op}$  definido por el panel de evaluadores resultó dependiente de la temperatura y cantidad de agua empleada en la formulación. Para una determinada temperatura, el  $t_{op}$

aumentó a medida que incrementó el nivel de agua agregado a la masa, mientras que a concentraciones constantes de agua, el  $t_{op}$  disminuyó con incrementos en la temperatura de horneado. Así mismo, al comparar el método de inspección visual con el método espectrofotométrico, se observó la mayor sensibilidad y objetividad de este último para caracterizar cambios de color en *cookies*.

Al evaluar las variables de proceso sobre los niveles de LD utilizando el diseño experimental 4, se halló que la cantidad de agua adicionada a la formulación presentó un efecto significativo, indicando que un aumento en la cantidad de agua agregada a la masa produce un retraso en la reacción de Maillard. Debido a que a que las muestras fueron evaluadas a los  $t_{op}$  determinados, la temperatura de horneado no modificó los valores de LD de manera significativa.

Las condiciones de procesamiento que maximizaron los niveles de LD fueron 29 % de agua en la formulación y temperatura de horneado de 250°C con un tiempo de cocción de 4,5 minutos.

#### ***Evaluación de los productos (pan de molde y cookies) obtenidos según diseños experimentales 2 y 4 (puntos óptimos)***

Mediante la utilización de diseños experimentales de mezcla fue posible desarrollar productos con calidad tecnológica y sensorial aceptables y mayor calidad nutricional, a través de la incorporación de proteínas de alto valor biológico, utilizando materias primas no convencionales. Los productos optimizados resultaron fuentes de proteínas y presentaron un contenido superior de FD, además mejoró en aporte de ciertos minerales como el Ca y en caso de la *cookie* también aumentó el aporte de Fe.

En cuanto a la calidad proteica, las muestras optimizadas presentaron una elevada digestibilidad y mayores niveles de lisina total, LD, SQ y PDCAAS con respecto a las elaboradas con 100 % de HT (testigos). Por lo cual, el aporte proteico no solo mejoró en cuanto a la cantidad, sino también cualitativamente dado el equilibrio en el balance de aminoácidos esenciales. Una porción de PO cubre alrededor de 10 % de la ingesta recomendada de lisina en adultos; mientras que una porción de CO cubre el 20 % en niños, aportes que contribuyen eficientemente a alcanzar los niveles de consumo recomendados por

la FAO/OMS/UNU.

Finalmente, tanto la combinación de los ingredientes proteicos utilizados como la selección de las condiciones de procesamiento empleadas resultó exitosa, ya que el análisis sensorial aplicado a los productos obtenidos en el presente trabajo demostró la calidad en las características sensoriales, según lo evaluado por el panel de expertos y la buena aceptabilidad global por parte de los consumidores. Estos resultados revelan que fue posible cumplir con dos necesidades básicas: desarrollar alimentos mejorados nutricionalmente y ricos, lo cual contribuye a que el producto nutritivo tenga éxito.

Los productos aquí desarrollados pueden ser considerados Alimentos de Interés Social y por lo tanto, ser incluidos en programas de asistencia alimentaria.

## ***VI. PERSPECTIVAS FUTURAS***

---

A partir de los estudios y discusiones presentados en este trabajo de Tesis Doctoral, las perspectivas de investigaciones futuras orientan a complementar el trabajo aquí realizado en dos direcciones:

- Teniendo en cuenta que en Argentina la deficiencia de Fe y la anemia ferropénica constituyen problemas de salud pública importantes que afectan a millones de personas, así como también un alto porcentaje de la población presenta riesgo de deficiencia de Zn y Ca, se pretende evaluar la dilizabilidad de estos minerales en los productos optimizados de pan de molde y *cookies*, de manera que permita estimar la proporción de estos elementos que esta disponible para su absorción, así como también valorar la eventual utilización de promotores de la absorción en caso de ser necesario.

- Por otro lado, resulta fundamental evaluar el tiempo de vida útil de los productos óptimos desarrollados a través de la evolución en los niveles de LD, así como también en función de los atributos sensoriales y los cambios texturales ocasionados durante el almacenamiento.

## ***VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

---

- AACC. (2000). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*. American Association of Cereal Chemists. (10<sup>a</sup> Ed.). Minnessota, United States.
- Aider, M.; Halleux D. y Melnikova I. (2009). Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10(3): 334-341.
- Akhtar, S.; Anjum, F.; Rehman, S.; Sheikh, M. y Farzana, K. (2008). Effect of fortification on the physico-chemical and microbiological stability of whole wheat flour. *Food Chem.* 112:156-163.
- Akubor, P.I. (2005). Functional properties of soybean-corn-carrot flour blends for cookie production. *J. Food Sci. Technol.* 42(4): 303-307.
- Alaiz, M.; Navarro, J.L.; Girón, J. y Vioque, E. (1992). Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with diethyl ethoxymethylenemalonate. *J. Chromatogr. A.* 591(1): 181-186.
- Alasino, M.C.; Andrich, O.; Sabbag, N.; Costa, S.; de la Torre, M.A. y Sánchez, H.D. (2008). Panificación con harina de arvejas (*Pisum sativum*) previamente sometidas a inactivación enzimática. *Arch. Latinoam. Nutr.* 58: 397-402.
- Alasino, M.C.; Osella, C.A.; de la Torre, M.A. y Sánchez, H.D. (2011). Efecto de oxidantes y emulsionantes sobre la calidad del pan elaborado con incorporación de harina de arvejas (*Pisum sativum*) inactivadas enzimáticamente. *Inf. Tecnol.* 22(1): 41-50.
- Almeida, K.E.; Tamime, A.Y. y Oliveira, M.N. (2009). Influence of total solids contents of milk whey on the acidifying profile and viability of various lactic acid bacteria. *Food Sci. Technol.* 42(2): 672-678.
- Alviña, M. (2009). *Indicadores de calidad nutricional. Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación*. (1<sup>a</sup> Ed.). Universidad de Valparaíso Chile. Valparaíso, Chile.
- Alvis, A.; Pérez, L.J. y Arrazola, G.S. (2011). Estudio de propiedades físicas y viscoelásticas de panes elaborados con mezclas de harinas de trigo y de arroz integral. *Inf. Tecnol.* 22(4): 107-116.
- Añon, M.C.; Puppo, M.C.; Pedroza Islas, R.; Oliete, B. y Villagómez Zavala, D. (2009). Valor nutricional y saludable de materias primas para la elaboración de productos de panificación. *Aspectos saludables y nutricionales de los productos de panificación*. (1<sup>a</sup> Ed.). Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile.
- AOAC. (2012). *Official method of analysis*. Association of Officiating Analytical Chemists.

- (18<sup>a</sup> Ed.). Washington, United States.
- Araújo, E.M. y Menezes, H.C. (2005). Composicao centesimal, lisina disponível e digestibilidade in vitro de proteínas de fórmulas para nutricao oral ou enteral. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 25(4): 768-771.
- Arendt, E.K.; O'Brien, T.J.; Schober, T.J.; Gallagher, E. y Gormley, T.R. (2002). Development of gluten-free cereal products. *Farm Food.* 12: 21-27.
- Aumiller, T.; Mosenthin, R. y Weiss, E. (2015). Potential of cereal grains and grain legumes in modulating pigs' intestinal microbiota—A review. *Lives. Sci.* 172: 16-32.
- Baixauli, R.; Salvador, A. y Fiszman, S.M. (2008). Textural and color changes during storage and sensory shelf life of muffins containing resistant starch. *Eur. Food Res. Technol.* 226(3): 523-530.
- Barak, S.; Mudgil, D. y Khatkar, B.S. (2013). Relationship of gliadin and glutenin proteins with dough rheology, flour pasting and bread making performance of wheat varieties. *Food Sci. Technol.* 51(1): 211-217.
- Barberis, N.A. (2014). Evolución y perspectiva mundial y nacional de la producción y el comercio de trigo. Estación Experimental Agropecuaria Manfredi. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA.
- Baro, L.; Jiménez, J.; Martínez, A. y Bouza, J. (2001). Péptidos y proteínas de la leche. *Ars. Pharmaceutica.* 42(3-4): 135-145.
- Barrera, G.N.; Bassi, E.; Reyes Martínez, R.J.; León, A.E. y Ribotta, P.D. (2012). Efectos de diferentes fracciones de harinas de trigo pan obtenidas con molino industrial sobre la calidad de galletitas dulces. *Agriscientia.* 29(2): 69-79.
- Basaran, A. y Gocmen, D. (2003). The effects of low mixing temperature on dough rheology and bread properties. *Eur. Food Res. Technol.* 217:138-142.
- Basman, A.; Koxsel, H. y Ng, P.K.W. (2003). Utilization of transglutaminase to increase the level of barley and soy flour incorporation in wheat flour breads. *J. Food Sci.* 68(8): 2453-2460.
- Bean, M.; Hanamoto, M.; Nishita, K.; Mecham, D. y Fellers, D. (1977). Soy-fortified wheat-flour blends. IV. Storage stability with several surfactant additives. *Cereal Chem.* 54: 1159-1169.
- Belitz, H.D. y Grosch, W. (1997). Cereales y derivados. *Química de los alimentos.* (2<sup>a</sup> Ed.). Acribia. Zaragoza, España.

- Belitz, H.D. y Grosch, W. (1999). Polysaccharides. Food Chemistry. (2a Ed.). Springer. Germany.
- Blanco, A. (2006). Química Biológica. (8ª Ed.). El Ateneo. Buenos Aires, Argentina.
- Booth, V.H. (1971). Problems in the determination of FDNB-available lysine. J. Sci. Food Agric. 22(12): 658-666.
- Bourgeois, M.; Jacquin, F.; Cassecuelle, F.; Savoie, V.; Belghazi, M.; Aubert, G. y Burstin, J. (2011). A PQL (protein quantity loci) analysis of mature pea seed proteins identifies loci determining seed protein composition. J. Proteomics. 11(9): 1581-1594.
- Boye, J.; Zare, F. y Pletch, A. (2011). Pulse proteins: processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. Food Res. Int. 43: 414-431.
- Broyart, B.; Trystram, G. y Duquenoy, A. (1998). Predicting colour kinetics during cracker baking. J. Food Eng. 35(3): 351-368.
- Buera, M.P.; Retriella, C. y Lozano, R.D. (1985). Definition of colour in the nonenzymatic browning. Die. Farbe. 33: 316-326.
- Bulut Solak, B. y Akın, N. (2012). Functionality of whey protein. Int. J. Health Nutr. 3(1): 1-7.
- Calderón Domínguez, G.; Vera Domínguez, M.; Farrera Rebollo, R.; Arana Errasquin, R. y Mora Escobedo, R. (2004). Rheological changes of dough and bread quality prepared from a sweet dough: Effect of temperature and mixing time. Int. J. Food Prop. 7: 165-174.
- Callejo, M.J. (2011). Present situation on the descriptive sensory analysis of bread. J. Sens. Stud. 26(4): 255-268.
- Calvel, R. (1983). La Panadería Moderna. (2ª Ed.). Américalee SRL. Buenos Aires, Argentina.
- Campos Vega, R.; Loarca Pina, G. y Oomah, B.D. (2010). Minor components of pulses and their potential impact on human health. Food Res. Int. 43: 461-482.
- Carpenter, K.J. (1960). The estimation of available lysine in animal protein foods. Biochem. J. 77(3): 604-610.
- Castillo, E.; Siles, M.; Ríos R. y Gabriel, J. (2014). Herencia del número de vainas por nudo y su relación con características afines en arveja (*Pisum sativum* L.) J. Selva Andina Biosph. 2(1): 2-14.

- Cerezal Mezquita, P.; Carrasco Verdejo, A.; Pinto Tapia, K.; Romero Palacios, N. y Arcos Zabala, R. (2007). Suplemento alimenticio de alto contenido protéico para niños de 2-5 años. Desarrollo de la formulación y aceptabilidad. *Interciencia*. 32(12): 857-864.
- Cerezal Mezquita, P.; Acosta Barrientos, E.; RojasValdivia, G.; Romero Palacios, N. y Arcos Zavala, R. (2012). Desarrollo de una bebida de alto contenido proteico a partir de algarrobo, lupino y quinoa para la dieta de preescolares. *Nutr. Hosp.* 27(1): 232-243.
- Cerny, C. (2008). The aroma side of the Maillard reaction. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1126(1): 66-71.
- Chavan, J.K.; Kadam, S.S. y Reddy, N.R. (1993). Nutritional enrichment of bakery products by supplementation with nonwheat flours. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* 33(3): 189-226.
- Cheftel, J.C.; Cuq, J.L. y Lorient, D. (1989). Proteínas alimentarias: bioquímica, propiedades funcionales, valor nutritivo, modificaciones químicas. (2ª Ed.) Acribia. Zaragoza, España.
- Cheftel, J.C. y Cheftel, H. (1992). Introducción a la bioquímica de los alimentos. (2ª Ed.). Acribia. Zaragoza, España.
- Chevallier, S.; Colonna, P.; Della Valle, G. y Lourdin, D. (2000). Contribution of major ingredients during baking of biscuit dough systems. *J. Cereal Sci.* 31: 241-252.
- Chevallier, S.; Della Valle, G.; Colonia, P.; Broyart, B. y Trysman, G. (2002). Structural and chemical modifications of short dough during baking. *J. Cereal Sci.* 35: 1-10.
- Christian, G.K.; Changani, S.D. y Fryer, P.J. (2002). The effect of adding minerals on fouling from whey protein concentrate: Development of a model fouling fluid for a plate heat exchanger. *Food Bioprod. Process.* 80(4): 231-239.
- Chung, H.J.; Liu, Q.; Hoover, R.; Warkentin, T.D. y Vandenberg, B. (2008). In vitro starch digestibility, expected glycemic index, and thermal and pasting properties of flours from pea, lentil and chickpea cultivars. *Food Chem.* 111(2): 316-321.
- Chung, O.; Tsen, C. y Robinson, R. (1981). Functional properties of surfactants in breadmaking. III. Effects of surfactants and soy flour on lipid binding in breads. *Cereal Chem.* 58: 220-226.
- Chung, S.; Moughan, P.; Awati A. y Morton H. (2009). The influence of whey protein and glycomacropeptide on satiety in adult humans. *Physiol. Behav.* 96(1): 162-168.
- Codex (2009). Report on the 30th session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for

- Special Dietary Uses. Codex Alimentarius Commission. Rome, Italy.
- Código Alimentario Argentino (CAA). Ley 25630, Decreto 593/03.
- Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo V: Normas para la rotulación y publicidad de los alimentos. Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo\\_V.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_V.pdf)
- Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo VII: Alimentos grasos aceites alimenticios. Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO\\_VII.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_VII.pdf)
- Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo IX: Alimentos Farináceos - Cereales, Harinas y Derivados. Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO\\_IX.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_IX.pdf)
- Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo XVII: Alimentos de régimen o dietéticos. Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo\\_XVII.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_XVII.pdf)
- Constandache, M. (2005). Effects of vegetal protein extracts to the quality of bread. *Agroalimentary Pro. Technol.* 11(1): 79-84.
- Cornejo Anneris, M.; Olmedo, E.M. y Escudero, D.E. (2009). Influencia de los hábitos alimentarios en el rendimiento escolar de adolescentes. *Actualización Nutr.* 10(4): 291-296.
- Cornell, J.A. (2011). *Experiments with mixtures: design, models and the analysis of mixtures.* (3<sup>a</sup> Ed.). John Wiley & Sons. New York, United States.
- Dahl, W.J.; Foster, L.M. y Tyler, R.T. (2012). Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *Br. J. Nutr.* 108(1): 3-10.
- Davidsson, L.; Dimitriou, T.; Walczyk, T. y Hurrell, R.F. (2001). Iron absorption from experimental infant formulas based on pea-protein isolate: The effect of phytic acid and ascorbic acid. *Br. J. Nutr.* 85: 59-63.
- De la Horra, A.E.; Seghezzo, M.L.; Molfese, E.; Ribotta, P.D. y León, A.E. (2012). Indicadores de calidad de las harinas de trigo: índice de calidad industrial y su relación con ensayos predictivos. *Agriscientia.* 29(2): 81-89.
- De Wit, J.N. (2003). Dairy ingredients in non-dairy foods. *Encyclopedia of dairy sciences.* Elsevier Science. Londres, England.
- Decock, P. y Cappelle, S. (2005). Bread technology and sourdough technology. *Trends Food Sci. Technol.* 16 (1-3): 113-120.

- Delcour, J.A.; Joye, I.J.; Pareyt, B.; Wilderjans, E.; Brijs, K. y Lagrain, B. (2012). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 3: 469-492.
- Delgado Andrade, C.; Rufián Henares, J.A. y Morales, F.J. (2007). Lysine availability is diminished in commercial fibre-enriched breakfast cereals. *Food Chem.* 100(2): 725-731.
- Derringer, G.C. y Suich, R. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. *J. Qual. Technol.* 12: 214-219.
- Dewettinck, K.; Van Bockstaele, F.; Kühne, B.; Van de Walle, D.; Courtens, T.M. y Gellynck, X. (2008). Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception. *J. Cereal Sci.* 48(2): 243-257.
- Dhingra, S. y Jood, S. (2004). Effect of flour blending on functional, baking and organoleptic characteristics of bread. *Int. J. Food Sci. Technol.* 39(2): 213-222.
- Dhingra, S. y Jood, S. (2001). Organoleptic and nutritional evaluation of wheat breads supplemented with soybean and barley flour. *Food Chem.* 77: 479-488.
- Díaz, O.; Pereira, C.D. y Cobos, A. (2004). Functional properties of ovine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese manufacture by-products. *Food Hydrocoll.* 18(4): 601-610.
- Dobraszczyk, B.J. y Morgenstern, M.P. (2003). Rheology and the breadmaking process. *J. Cereal Sci.* 38: 229-245.
- Dostálová, R.; HoRáček, J.; Hasalová, I. y Trojan, R. (2009). Study of resistant starch (RS) content in peas during maturation. *Czech. J. Food Sci.* 27: 120-124.
- Doxastakis, G.; Zafiriadis, I.; Irakli, M.; Marlani, H. y Tananaki, C. (2002). Lupin, soya and triticale addition to wheat flour doughs and their effect on rheological properties. *Food Chem.* 77: 219-227.
- Drago, S.R.; González, R.J.; Chel Guerrero, L.; Valencia, M.E. (2007). Evaluación de la disponibilidad de minerales en harinas de frijol y en mezclas de maíz/frijol extrudidas. *Inf. Tecnol.* 18(1): 41-46.
- EFSA. European Food Safety Authority. (2010). Scientific opinion on dietary reference values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal.* 8(3): 1462.
- Eggleston, G.; Omoaka, P.E. y Arowosegbe, A.U. (1993). Flour starch and composite breadmaking quality of various cassava clones. *J. Sci. Food Agric.* 62: 49-59.

- Endres, J.G. (2001). Uses in food systems. Soy protein products. Characteristics, nutritional aspects, and utilization. AOCS. Illinois, United States.
- ENNyS. Encuesta Nacional de Nutrición y Salud. (2007). Documento de Resultados. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina: Ministerio de Salud de la Nación.
- Erkan, H.; Celik, S.; Bilgi, B. y Koskel, H. (2006). A new approach for the utilization of barley in food products: barley tarhana. *Food Chem.* 97: 12-18.
- Espitia Rangel, E.; Mir, H.E.V.; Bautista, R.J.P., Espino, J.H. y Ortega, A.L. (2004). Calidad industrial de trigos harineros mexicanos para temporal. II. Variabilidad genética y criterios de selección. *Rev. Fitotec. Mex.* 27(1): 41-47.
- European Commission. (2008). Nutrition labelling for food stuffs as regards recommended daily allowances, energy conversion factors and definitions.. Official Journal of the European Union.
- Elleuch, M.; Bedigian, D.; Roiseux, O.; Besbes, S.; Blecker, C. y Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: *Rev. Food Chem.* 124: 411-421.
- Falcón, M.F.; Barrón, J.M.; Romero, A.L. y Domínguez, M.F. (2011). Efecto adverso en la calidad proteica de los alimentos de dietas con alto contenido de fibra. *Rev. Chil. Nutr.* 38(3): 369-375.
- FAO. (2013). Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO Expert Consultation. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.
- FAO/OMS. (1991). Protein quality evaluation in human diets. FAO. Food and Nutrition paper. Rome, Italy.
- FAO/OMS. (1989). Report of the joint FAO/WHO expert consultation, Bethesda, MD, EEUU.
- FAO/OMS/UNU. (1985). Energy and protein requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. WHO Technical Report Series, No. 724. Geneva, Switzerland.
- FAO/OMS/UNU. (2007). Amino acid requirements of adults. Protein and amino acids requirements in human nutrition. United Nations University. Geneva, Switzerland.
- Fernando, W.; Hill, J.; Zello, G.; Tyler, R.; Dahl, W. y Van Kessel, A. (2010). Diets supplemented with chickpea or its main oligosaccharide component raffinose modify faecal microbial composition in healthy adults. *Benef. Micr.* 1(2): 197-207.

- FIL-IDF. (1993). Determination of water content. International dairy federation standard 26A. International Dairy Federation. Brussels, Belgium.
- Finish Composition Database (FINELI). (2009). National Public Health Institute of Finland. Nutrition Unit. Disponible en: <http://fineli.fi/food.php?foodid=371&lang=en>
- Foegeding, E. y Luck, P. (2002). Whey protein products. Encyclopedia of Foods Sciences and Nutrition. Academic Press. New York, United States.
- Frazier, P. (1979). Lipoxygenase action and lipid binding in bread making. Baker's Dig. 53: 8-11.
- Frias, A.C.D. y Sgarbieri, V.C. (1998). Guar gum effects on food intake, blood serum lipids and glucose levels of Wistar rats. Plant Foods Hum. Nutr. 53: 15-28.
- Friedman, M. y Brandon, D.L. (2001). Nutritional and health benefits of soy proteins. J. Agric. Food Chem. 49: 1069-1086.
- Fuentes Zaragoza, E.; Riquelme Navarrete, M.J.; Sánchez Zapata, E. y Pérez Álvarez, J.A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. Food Res. Int. 43(4): 931-942.
- Fuentes Zaragoza, E.; Sánchez Zapata, E.; Sendra, E.; Sayas, E.; Navarro, C.; Fernández López, J. y Pérez Álvarez, J.A. (2011). Resistant starch as prebiotic: A review. Starch Stärke. 63(7): 406-415.
- Gallagher, E.; Gormley, T.R. y Arendt, E.K. (2003a). Crust and crumb characteristics of gluten free breads. J. Food Eng. 56: 153-163.
- Gallagher, E.; Kunkel, A.; Gormley, T.R. y Arendt, E.K. (2003b). The effect of dairy powder addition on loaf and crumb characteristics, and on shelf life (intermediate and long term) of gluten-free breads stored in a modified atmosphere. Eur. J. Food Res. 21: 44-48.
- Garrote, R.L.; Silva, E.R. y Bertone, R.A. (2001). Kinetics parameters for thermal inactivation of cut green beans lipoxygenase calculated using unsteady-state methods. Int. J. Food Sci. Technol. 36: 377-385.
- Gliguem, H. y Birlouez Aragon, I. (2005). Effects of sterilization, packaging, and storage on vitamin C degradation, protein denaturation, and glycation in fortified milks. J. Dairy Sci. 88: 891-899.
- Gómez Pallarés, M.; León, A.E. y Rosell, C.M. (2007). Trigo. De Tales Harinas, Tales Panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. (1ª Ed.). Hugo Baéz.

- Córdoba, Argentina.
- Goñi, I.; García Diz, L.; Mañas, E. y Saura Calixto, F. (1996). Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chem.* 56(4): 445-449.
- Goodhart, R.S. y Shils, M.E. (1980). *Modern nutrition in health and disease.* (6<sup>a</sup> Ed.). Lea and Febiger. Philadelphia, United States.
- Green, C.J. (2001). Fibre in enteral nutrition. *Clin. Nutr.* 20(1): 23-39.
- Gudbrandsen, O.A.; Wergedahl, H.; Berge, R.K.; Liaset, B. y Espe, M. (2005). Dietary proteins with high isoflavone content or low methionine-glycine and lysine-arginine ratios are hypocholesterolaemic and lower the plasma homocysteine level in male Zucker fa/fa rats. *Brit. J. Nutr.* 94: 321-330.
- Güemes Vera, N.; Totosaus, A.; Hernández, J.F.; Soto, S.; Aquino Bolaños, E.N. (2009). Propiedades de textura de masa y pan dulce tipo "concha" fortificados con proteínas de suero de leche. *Food Sci. Technol.* 29(1): 70-75.
- Guerra Araujo Á.V.; Castro, L.M.M. y Tovar, A.L.Q. (2015). Aprovechamiento del lactosuero como fuente de energía nutricional para minimizar el problema de contaminación ambiental. *RIAA.* 4(2): 55-65.
- Guillon, F. y Champ, M.M. (2002). Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *Br. J. Nutr.* 88: 293-306.
- Guy, E. (1984). Evaluation of the bread-baking quality and storage stability of 12 % soy-fortified wheat flour containing sweet cheese whey solids. *Cereal Chem.* 61: 83-88.
- Ha, E. y Zemel, M. (2003). Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: Mechanisms underlying health benefits for active people. *J. Nutr. Biochem.* 14(5): 251- 258.
- Hannigan, K.J. (1979). Flour from peas. *Food Eng. Int.* 4(2): 22.
- Hauner, H.; Bechthold, A.; Boeing, H.; Brönstrup, A.; Buyken, A.; Leschi Bonnet, E. y Wolfram, G. (2012). Evidence-based guideline of the German nutrition society: Carbohydrate intake and prevention of nutrition-related diseases. *Ann. Nutr. Metab.* 60: 1-58.
- Helou, C.; Jacolot, P.; Niquet Léridon, C.; Gadonna Widehem, P. y Tessier, F.J. (2015). Maillard reaction products in bread: A novel semi-quantitative method for evaluating melanoidins in bread. *Food Chem.* 190: 904-911.
- Herrera, C.H.; Bolaños, N. y Lutz, G. (2003). *Química de Alimentos, Manual de laboratorio.*

- (1ª Ed.). Editorial de la Universidad de Costa Rica. San Jose, Costa Rica.
- Hinrichs, R.; Götz, J.; Noll, M.; Wolfschoon, A.; Eibel, H. y Weisser, H. (2004). Characterisation of different treated whey protein concentrates by means of low-resolution nuclear magnetic resonance. *Int. Dairy J.* 14(9): 817-827.
- Homayouni, A.; Azizi, A.; Ehsani, M.R.; Yarmand, M.S. y Razavi, S.H. (2008). Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chem.* 111(1): 50-55.
- Hood Niefer, S.D.; Warkentin, T.D.; Chibbar, R.N.; Vandenberg, A. y Tyler, R.T. (2012). Effect of genotype and environment on the concentrations of starch and protein in, and the physicochemical properties of starch from, field pea and fababean. *J. Sci. Food Agric.* 92: 141–150.
- Hoover, R.; Hughes, T.; Chung, H.J. y Liu, Q. (2010). Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: a review. *Food Res. Int.* 43: 399-413.
- Hoppe, C.; Andersen, G.S.; Jacobsen, S.; Molgaard, C.; Friis, H.; Sangild, P.T. y Michaelsen, K.F. (2008). The use of whey or skimmed milk powder in fortified blended foods for vulnerable groups. *J. Nutr.* 138(1): 145-161.
- Hoseney, R.C. (1994). Principles of cereal science and technology. (2ª Ed.) Hoseney RC. American Association of Cereal Chemists. United States.
- Hu, G.H.; Yang, F.; Ma, Z. y Zhou, Q. (2007). Development of Research and application of rice bran dietary fibre. *China Food Addit.* 84(5): 80-85.
- Hughes, G.J.; Ryan, D.J.; Mukherjea, R. y Schasteen, C.S. (2011). Protein digestibility-corrected amino acid scores (PDCAAS) for soy protein isolates and concentrate: criteria for evaluation. *J. Agr. Food Chem.* 59(23): 12707-12712.
- Hunter L\*a\*b\*. (2000). Universal Software Versión 4.0 and Above User's Manual. Hunter Associates Laboratory. Virginia, United States.
- Hurrell, R.F. y Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *Am. J. Clin. Nutr.* 91(5): 1461–1417.
- Ibrahim, F.; Babiker, E.; Yousif, N. y Tinay, A. (2005). Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristics of sorghum flour supplemented with whey protein. *Food Chem.* 92(2): 285-292.
- IERAL. (2011a). Instituto de Estudios sobre la Realidad Argentina y Latinoamericana de Fundación Mediterránea. Una Argentina competitiva, productiva y federal. Cadena del

- trigo y sus productos derivados. Córdoba, Argentina.
- IERAL. (2011b). Instituto de Estudios sobre la Realidad Argentina y Latinoamericana de Fundación Mediterránea. Una Argentina competitiva, productiva y federal. Cadena de las legumbres. Córdoba, Argentina.
- Imhof, M.; Molzer, S. y Imhof, M. (2008). Effects of soy isoflavones on 17 b-estradiol-induced proliferation of MCF-7 breast cancer cells. *Toxicol. Vitro.* 22: 1452-1460.
- Indrani, D. y Rao, G.V. (2007). Rheological characteristics of wheat flour dough as influenced by ingredients of parotta. *J. Food Eng.* 79(1): 100-105.
- Indrani, D.; Prabhasankar, P.; Rajiv, J. y Rao, G.V. (2007). Influence of whey protein concentrate on the rheological characteristics of dough, microstructure and quality of unleavened flat bread (parotta). *Food Res. Int.* 40(10): 1254-1260.
- Iqbal, A.; Khalil, I.A.; Ateeq, N.; Khan, M.S. (2006). Nutritional quality of important food legumes. *Food Chem.* 97(2): 331-335.
- Islam, T.; Chowdhury, A.; Islam, M. y Islam. S. (2007). Standardization of bread preparation from soy flour. *Int. J. Sustain. Crop Prod.* 2(6):15-20.
- Jacob, J. y Leelavathi, K. (2007). Effect of fat type on cookie dough and cookie quality. *J. Food Eng.* 79(1): 299-305.
- Jelen, P. (2003). Whey processing. Utilization and Products. *Encyclopedia of Dairy Sciences.* Academic Press. London, England.
- Jideani, V. y Onwubali, F. (2009). Optimisation of wheat-sprouted soybean flour bread using response surface methodology. *Afr. J. Biotechnol.* 8(22): 6364-6373.
- Jisha, S. y Padmaja, G. (2011). Whey protein concentrate fortified baked goods from cassava-based composite flours: Nutritional and functional properties. *Food Bioprocess Technol.* 4(1): 92-101.
- Jooyandeh, H. (2011). Soy products as healthy and functional foods. *MEJSR.* 7(1): 71-80.
- Kadharmestan, C.; Baik, B.K. y Czuchajowska, Z. (1998). Whey protein concentrate treated with heat or high hydrostatic pressure in wheat-based products. *Cereal Chem.* 75(5): 762-766.
- Kamal Eldin A. (2006). Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108: 1051-1061.
- Kamal, A.H.M.; Kim, K.H.; Shin, D.H.; Seo, H.S.; Shin, K.H.; Park, C.S.; Heo, H.Y. y Woo,

- S.H. (2009). Proteomics profile of pre-harvest sprouting wheat by using Maldi-Tof Mass Spectrometry. *Plant Omics*. 2(3):110-119.
- Kamaljit, K.; Baljeet, S. y Amarjeet, K. (2010). Preparation of bakery products by incorporating pea flour as a functional ingredient. *Am. J. Food Technol.* 5(2): 130-135.
- Kang, X.; Zhang, Q.; Wang, S.; Huang, X. y Jin, S. (2010). Effect of soy isoflavones on breast cancer recurrence and death for patients receiving adjuvant endocrine therapy. *Can. Med. Assoc.* 182(17): 1857-1862.
- Kasarda, D.D.; Bernardin, J. y Nimmo, C. (1976). *Advances in Cereal Science and Technology*. Pomeranz Y. American Association of Cereal Chemists. United States.
- Kenny, S.; Wehrle, K.; Stanton, C. y Arendt, E.K. (2000). Incorporation of dairy ingredients into wheat bread: Effects on dough rheology and bread quality. *Eur. Food Res. Technol.* 210(6): 391-396.
- Kenny, S.; Wehrle, K.; Auty, M. y Arendt, E.K. (2001). Influence of sodium caseinate and whey protein on baking properties and rheology of frozen dough. *Cereal Chem.* 78(4): 458-463.
- Khan, S.; Ghanghro, A.B.; Memon, A.N.; Tahir, I.; Shah, A.M.; Sahito, M.A. y Qureshi, S. (2013). Quantitative analysis of wheat proteins in different varieties grown in Sindh, Pakistan. *Intl. J. Agri. Crop. Sci.* 5(16): 1836-1839.
- Kissel, L.T. y Yamasaki, W.T. (1975). Protein enrichment of cookie flours with wheat gluten and soy flour derivates. *Cereal Chem.* 52: 638-649.
- Komlenic, D.K.; Ugarcic Hardi, Z.; Jukic, M.; Planinic, M.; Bucic Kojic, A. y Strelec, S. (2010). Wheat dough rheology and bread quality effected by *Lactobacillus brevis* preferment, dry sourdough and lactic acid addition. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45(7): 1417-1425.
- Korhonen, H. y Pihlanto, A. (2006). Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.* 16(9): 945-960.
- Koutinas, A.; Papapostolou, H.; Dimitrellou, D.; Kopsahelis, N.; Katechaki, E.; Bekatorou, A. y Bosnea, L. (2009). Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. *Bioresour. Technol.* 100(15): 3734-3739.
- Krissansen, G.W. (2007). Emerging health properties of whey proteins and their clinical implications. *J. Am. Coll. Nutr.* 26(6): 713-723.

- Kulp, K. (1994). *Functionality of ingredients in cookie systems. Cookie chemistry and Technology.* (1<sup>a</sup> Ed.). The American Institute of Baking. Kansas, United States.
- Kulp, K. y Olewnik, M.C. (1989). *Functionality of protein components of soft wheat flour in cookie applications. Protein Quality and the Effects of Processing.* (1<sup>a</sup> Ed.). Marcel Dekker. New York, United States.
- Lai, C.; Davis, A. y Hosney, R. (1989). Production of whole wheat bread with good loaf volume. *Cereal Chem.* 66: 224-246.
- Larroque, O.; Gianibelli, M.; Gómez Sánchez, M. y MacRitchie, F. (2000). Procedure for obtaining stable extracts of cereal flour and whole meal for size-exclusion HPLC analysis. *Cereal Chem.* 77: 448-450.
- Lee, M.R.; Swanson, B.G. y Baik, B.K. (2001). Influence of amylose content on properties of wheat starch and breadmaking quality of starch and gluten blends. *Cereal Chem.* 78: 701-706.
- Lee, S.A.; Shu, X.O.; Li, H.; Yang, G.; Cai, H.; Wen, W. y Zheng, W. (2009). Adolescent and adult soy food intake and breast cancer risk: Results from the Shanghai Women's Health Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 89(6): 1920-1926.
- Lezcano, E. (2010). Informe sectorial N°5: Farináceos. Dirección Nacional de Transformación y Comercialización de Productos Agrícolas y Forestales; Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Argentina.
- Lezcano, E. (2012). Informe Sectorial N°13: Cadena Farináceos. Los farináceos en el primer semestre: harinas movedizas. Dirección Nacional de Alimentos. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.
- Lezcano, E. (2013). Informe sectorial N°14: Farináceos. Dirección Nacional de Transformación y Comercialización de Productos Agrícolas y Forestales; Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Argentina.
- Lin, P.F.; Chiang, S.H. y Chang, C.Y. (2003). Comparison of rheological properties of dough prepared with different wheat flours. *J. Food Drug Anal.* 11: 220-225.
- Lindenmeier, M. y Hofmann, T. (2004). Influence of baking conditions and precursor supplementation on the amounts of the antioxidant pronyl-L-lysine in bakery products. *J. Agric. Food Chem.* 52(2): 350-354.
- Londoño, M.; Sepúlveda, J.; Hernández, A. y Parra, J. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus Casei*. *Rev. Fac. Nac. Agr. Medellín.* 61(1):

- 4409-4421.
- Lucena, M.E.; Álvarez, S.; Menéndez, C.; Riera, F.A. y Álvarez R. (2007).  $\alpha$ -Lactalbumin precipitation from commercial whey protein concentrates. *Sep. Purif. Technol.* 52(3): 446-53.
- Lunde, M.S.; Hjellset, V.T.; Holmboe Ottesen, G. y Hostmark, A.T. (2011). Variations in postprandial blood glucose responses and satiety after intake of three types of bread. *J. Nutr. Metab.* 2011: 1-7.
- Lusas, E.W. y Riaz, M.N. (1995). Soy protein products: Processing and use. *J. Nutr.* 125(3): 573-580.
- Mac Dougall, D.B. (2002). Colour measurement of food: principles and practice. *Color in food. Improving Quality.* CRC Press LLC. Philadelphia, United States.
- Macías, S.; Binaghi, M.J.; Zuleta, A., Ronayne de Ferrer, P.; Costa, K. y Generoso, S. (2013). Desarrollo de galletas con sustitución parcial de harina de trigo con harina de algarroba (*Prosopis alba*) y avena para planes sociales. *RVCTA.* 4(2): 170-188.
- Madureira, A.R.; Tavares, T.; Gomes, A.M.P.; Pintado, M.E. y Malcata, F.X. (2010). Invited review: Physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins. *J. Dairy Sci.* 93(2): 437-455.
- Mahecha, G. (2009). Elementos traza esenciales en dos variedades de trigo y cambios de distribución de los mismos causados por el procesamiento. *Rev. Colom. Quím.* 3(1): 1-16.
- Marinangeli, C.P.; Kassis, A.N. y Jones, P.J. (2009). Glycemic responses and sensory characteristics of whole yellow pea flour added to novel functional foods. *J. Food Sci.* 74: 385-389.
- Mariotti, F.; Pueyo, M.E.; Tomé, D.; Benamouzig, R. y Mahé, S. (2001). Guar gum does not impair the absorption and utilization of dietary nitrogen but affects early endogenous urea kinetics in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 74: 487-93.
- Martínez, M.; Oliete, B. y Gómez, M. (2013). Effect of the addition of extruded wheat flours on dough rheology and bread quality. *J. Cereal Sci.* 57(3): 424-429.
- Martínez, M.M.; Rosell, C.M. y Gómez, M. (2014). Modification of wheat flour functionality and digestibility through different extrusion conditions. *J. Food Eng.* 143: 74-79.
- McWatters, K.H. (1978). Cookie baking properties of defatted peanut, soybean and field pea flour. *Cereal Chem.* 55(6): 853- 863.

- Meade, S.J.; Reid, E.A. y Gerrard, J.A. (2005). The impact of processing on the nutritional quality of food proteins. *J. AOAC Int.* 88: 904-922.
- Mecham, D.; Hanamoto, M.; Bean, M.; Fellers, D. y Guadagni, D. (1976). Soy-fortified wheatflour blends. III. Storage stability of ingredients and incomplete blends. *Cereal Chem.* 53:405-412.
- Meltretter, J.; Seeber, S.; Humeny, A.; Becker, C.M. y Pischetsrieder, M. (2007). Site-specific formation of Maillard, oxidation, and condensation products from whey proteins during reaction with lactose. *J. Agr. Food Chem.* 55(15): 6096-6103.
- Mesas, J.M. y Alegre, M.T. (2002). El pan y su proceso de elaboración. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 3(5): 307-313.
- Mesías García, M.; Guerra Hernández, E. y García Villanova, B. (2010). Determination of furan precursors and some thermal damage markers in baby foods: ascorbic acid, dehydroascorbic acid, hydroxymethylfurfural and furfural. *J. Agr. Food Chem.* 58(10): 6027-6032.
- Messina, M.J. (1999). Legumes and soybeans: Overview of their nutritional profiles and health effects. *Am. J. Clin. Nutr.* 70(3): 439-450.
- Millward, D.J. (2012). Amino acid scoring patterns for protein quality assessment. *Br. J. of Nutr.* 108(2): 31-43.
- Misra, P.; Usha, M.S. y Surjain Singh (1991). Soy-wheat flour blends: chemical, rheological and baking characteristics. *J. Food Sci. Technol.* 28: 89-91.
- Mohamed, A.A.; Rayas Duarte, P.; Shogren, R.L. y Sessa, D.J. (2006). Low carbohydrates bread: Formulation, processing and sensory quality. *Food Chem.* 99(4): 686-692.
- Mohsen, M.S.; Fadel, H.H.M.; Bekhit, M.A.; Edris, A.E. y Ahmed, Y.S. (2009). Effect of substitution of soy protein isolate on aroma volatiles, chemical composition and sensory quality of wheat cookies. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44: 1705-1712.
- Moiraghi, M.; Ribotta, P.D.; Aguirre, A.; Pérez G.T. y León, A.E. (2005). Análisis de la aptitud de trigos pan para la elaboración de galletitas y bizcochuelos. *Agriscientia.* (2): 47-54.
- Mollinedo Patzi, M.A. y Benavides Calderón, G.L. (2014). Carbohidratos. *Rev. Act. Clin. Med.* 41: 2133-2136.
- Morales, F.J.; Acar, O.C.; Serpen, A.; Arribas Lorenzo, G.; Gokmen, V. (2007). Degradation of free tryptophan in a cookie model system and its application in commercial samples.

- J. Agric. Food Chem. 55: 6793-6797.
- Morr, C.V. (1992). Whey utilization. Whey and lactose processing (1a Ed.). Springer. Netherlands.
- Morr, C.V. y Ha, E.Y.W. (1993). Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 33(6): 431-476.
- Mosqueda, M.R. y Tabil, L.G. (2011). Drying characteristics and lysine content of wheat distiller's grain with solubles under three drying methods. Drying Technol. 29(7): 797-807.
- Mundt, S. y Wedzicha, B.L. (2007). A kinetic model for browning in the baking of biscuits: Effects of water activity and temperature. Food Sci. Technol. 40(6): 1078-1082.
- Muñi, A.; Paez, G.; Faría, J.; Ferrer, J. y Ramones, E. (2005). Eficiencia de un sistema de ultrafiltración/nanofiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración del lactosuero. Rev. Cient. 15(4): 361-367.
- Nadal, X.L. y Fornos, X.P. (2004). Pan de molde. Química y Bioquímica de los alimentos II. (1ª Ed.). Universidad de Barcelona. Barcelona, España.
- Nagata, C. (2010). Factors to consider in the association between soy isoflavone intake and breast cancer risk. J. Epidemiol. 20(2): 83-89.
- Naguleswaran, S. y Vasanthan, T. (2010). Dry milling of field pea (*Pisum sativum* L.) groats prior to wet fractionation influences the starch yield and purity. Food Chem. 118(3): 627-633.
- Ndife, J.; Abdurraheem, L.O. y Zakari, U.M. (2011). Evaluation of the nutritional and sensory quality of functional breads produced from whole wheat and soya bean flour blends. African J. Food Sci. 5(8): 466-472.
- Nguyen, H.T.; van der Fels Klerxa, H.J. y van Boekel, M.A.J.S. (2014). Ne -(carboxymethyl) lysine: A review on analytical methods, formation, and occurrence in processed food, and health impact. Food Rev. Int. 30(1): 36-52.
- Oh, N.S.; Lee, H.A.; Lee, J.Y.; Joung, J.Y.; Lee, K.B., Kim, Y. y Kim, S.H. (2013). The dual effects of Maillard reaction and enzymatic hydrolysis on the antioxidant activity of milk proteins. J. Dairy Sci. 96(8): 4899-4911.
- Olagnero, G.; Abad, A.; Bendersky, S.; Genevois, C.; Granzella, L. y Montonati, M. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. Diaeta. 25(121): 20-33.

- Osella, C.A.; Sánchez, H.D.; González, R.J. y de la Torre, M.A. (2006). Molienda de trigo: Ensayos comparativos de escala industrial con planta piloto. *Inf. Tecnol.* 17(3): 33-39.
- Osella, C.A.; Robutti, J.; Sánchez, H.D.; Borrás, F. y de la Torre, M.A. (2008). Dough properties related to baking quality using principal component analysis. *CyTA- J. Food.* 6(2): 95-100.
- Ou, S.; Kwok, K.C. y Kang, Y. (2004). Changes in in vitro digestibility and available lysine of soy protein isolate after formation of film. *J. Food Eng.* 4(3): 301-305.
- Padula, G.; Salceda, S.A. (2013). Prevalencias de desnutrición global, desmedro, sobrepeso y obesidad: su evolución en niños de Azampay (Catamarca, Argentina). *Runa.* 34(2): 233-244.
- Panesar, P.; Kennedy, J.; Gandhi, D. y Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chem.* 105: 1-14.
- Pantanelli, A. (2009). Parámetros Industriales de la Calidad del Trigo. Disponible en: <http://www.roagro.com.ar/upload/varios/Par%C3%A1metros%20Calidad%20del%20Trigo.doc>
- Parra Huertas, R.A. (2009). Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín.* 62(1): 4967-4982.
- Patisaul, H.B. y Jefferson, W. (2010). The pros and cons of phytoestrogens. *Front. Neuroendocrinol.* 31(4): 400-419
- Peighambardoust, S.H.; Fallah, E.; Hamer, R.J. y Van Der Goot, A.J. (2010). Aeration of bread dough influenced by different way of processing. *J. Cereal Sci.* 51(1): 89-95.
- Peña, R.J. (2002). Wheat for bread and other foods. Bread wheat improvement and production. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy.
- Pérez, S.R.; Osella, C.A.; de la Torre, M.A.; Sánchez, H.D. (2008). Efecto del mejoramiento proteico sobre los parámetros de calidad nutricional y sensorial de galletitas dulces (cookies). *Arch. Latinoam. Nutr.* 58(4): 403-410.
- Pérez, S.R.; Matta, E.; Osella, C.A.; de la Torre, M.A. y Sánchez H.D. (2013). Effect of soy flour and whey protein concentrate on cookie color. *Food Sci. Technol.* 50: 120-125.
- Pérez, G.; Estelrich, C. y Amado, M.R. (2014). Evaluación de variedades de Arveja en Bolívar, campaña 2013-2014. AER Bolívar – UCT Agrícola Ganadera del Centro INTA Pergamino.
- Piagentini, A.M.; Mendez, J.C.; Güemes, D.R. y Pirovani, M.E. (2005). Modeling changes of

- sensory attributes for individual and mixed fresh-cut leafy vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 38(3): 202-212.
- Piagentini, A.M.; Martín, L.; Bernardi, C.; Güemes, D.R. y Pirovani, M.E. (2012). Color changes in fresh-cut fruits as affected by cultivar, chemical treatment, and storage time and temperature. *Color in food: Technological and psychophysical aspects.* (1<sup>a</sup> Ed.). CRC Press. New York, United States.
- Pomareda, C. (1991) Modernización de la agricultura como requisito para el desarrollo. De la crisis al crecimiento. *Memorias del 3<sup>er</sup> Congreso de Economía Agrícola de América Latina y el Caribe*, Asociación Colombiana de Economía Agrícola.
- Pomeranz, J. (1988). *Wheat Chemistry and Technology.* (3<sup>a</sup> Ed.). American Association of Cereal Chemists. AACC. United States.
- Pordesimo, L.O. y Onwulata, C.I. (2008). *Whey processing, functionality and health benefits.* (1<sup>a</sup> Ed.). Wiley-Blackwell IFT. United States.
- Potter, N. y Hotchkiss, J. (1999). *Ciencia de los alimentos.* (5<sup>a</sup> Ed.). Acribia. Zaragoza, España.
- Puppo M.C.; Gularte M.A.; Pérez G.; Ribotta P. y Añón M.C. (2007). *Soja. De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica.* (1<sup>a</sup> Ed.). Hugo Baéz. Córdoba, Argentina.
- Pyler, E.J. (1973). *Baking Science and Technology.* (2<sup>a</sup> Ed.). Siebel Publishing Company. Chicago, United States.
- Pyler, E.J. (1988). *Wheat and wheat flour. Baking Science and Technology.* Sosland Publishing. Kansas, United States.
- Quaglia, G. (1991). *Ciencia y tecnología de la panificación.* (1<sup>a</sup> Ed.). Acribia. Zaragoza, España.
- Quicazán, M. y Caicedo, L. (2012). Inactivación del inhibidor de tripsina durante el tratamiento térmico de bebidas de soya. *Vitae.* 19(1): 337-339.
- Rada Mendoza, M.; García Baños J.L.; Villamiel M. y Olano A. (2004). Study on nonenzymatic browning in cookies, crackers and breakfast cereal by maltulose and furosine determination. *J. Cereal Sci.* 39: 167-173.
- Ragae, S. y Abdel Aal, E.S.M. (2006). Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their products. *Food Chem.* 95: 9-18.
- Raidl, M.A. y Klein, B.P. (1983). Effects of soy field pea flour substitution on physical and

- sensory characteristics of chemically leavened quick breads. *Cereal Chem.* 60(5): 367-370.
- Ramírez Jiménez, A.; García Villanova, B. y Guerra Hernández, E. (2001). Effect of toasting time on the browning of sliced bread. *J. Sci. Food Agric.* 81: 513-518.
- Reboratti, C. (2010). Un mar de soja: la nueva agricultura en Argentina y sus consecuencias. *Rev. Geogr. Norte Gd.* (45): 63-76.
- Reichert, R.D. y Mac Kenzie, S.L. (1982). Composition of peas (*Pisum sativum*) varying widely in protein content. *J. Agric. Food Chem.* 30: 312-317.
- Renkema, J.M.S. (2001). Formation, structure and rheological properties of soy protein gels. Tesis para la obtención del título de Doctor. Wageningen University. Netherlands.
- Rhee, K.S. y Rhee, K.C. (1981). Nutritional evaluation of the protein in oilseed products heated with sugars. *J. Food Sci.* 46(1): 164-168.
- Ribotta, P.D.; Arnulphi, S.A.; León, A.E. y Añón, M.C. (2005a). Effect of soybean addition on the rheological properties and breadmaking quality of wheat flour. *J. Sci. Food Agr.* 85:1889-1896.
- Ribotta, P.D.; León, A.E.; Pérez, G.T. y Añón, M.C. (2005b). Electrophoresis studies for determining wheat-soy protein interactions in dough and bread. *Eur. Food Res. Technol.* 221: 48-53.
- Ribotta, P.D.; Pérez, G.T.; Añón, M.C. y León, A.E. (2010). Optimization of additive combination for improved soy-wheat bread quality. *Food Bioprocess Technol.* 3(3): 395-405.
- Riou, E.; Havea, P.; McCarthy, O.; Watkinson, P. y Singh, H. (2011). Behavior of protein in the presence of calcium during heating of whey protein concentrate solutions. *J. Agric. Food Chem.* 59(24): 13156-13164.
- Roccia, P.; Ribotta, P.D.; Pérez, G.T. y León, A.E. (2009). Influence of soy protein on rheological properties and water retention capacity of wheat gluten. *Food Sci. Technol.* 42(1): 358-362.
- Rodriguez, E.; Jimenez, A.; Fernandex Bolanos, J.; Guiltén, R. y Heredia, A. (2006). Dietary fiber from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends Food Sci. Technol.* 17: 3-5.
- Roisinblit, D.A. (2003). Consideraciones sobre la soja en la alimentación. Consejo Nacional de Coordinación de Políticas Sociales. Presidencia de la Nación. Argentina. 1-17.

- Rojas, J.A.; Rossell, C.M.; Benedito, C.; Pérez Munuera I. y Llunch, M.A. (2000). The baking process of wheat rolls followed by cryo scanning electron microscopy. *Eur. Food Res. Technol.* 212: 57-63.
- Rosenberg, H.R. y Rohdenburg, E.L. (1951). The fortification of bread with lysine I. The loss of lysine during baking. *J. Nutr.* 45(4): 593-598.
- Roufik, S.; Paquin, P. y Britten, M. (2005). Use of high-performance size exclusion chromatography to characterize protein aggregation in commercial whey protein concentrates. *Int. Dairy J.* 15(3): 231-241.
- Roy, F.; Boye, J.I. y Simpson, B.K. (2010). Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. *Food Res. Int.* 43(2): 432-442.
- Rozycki, S.D.; Pauletti, M.S.; Costa, S.C.; Piagentini, A.M. y Buera, M.P. (2007). The kinetics of colour and fluorescence development in concentrated milk systems. *Int. Dairy J.* 17(8): 907-915.
- Rubio, A.I.; MacRitchie, F.; Gandikota, S. y Hou, G. (2005). Relaciones de la composición proteínica y mediciones reológicas en masa con la calidad panadera de harinas de trigo. *Rev. Fitotec. Mex.* 28(3): 243-251.
- Rudloff, S. y Lönnerdal, B. (1992). Solubility and digestibility of milk proteins in infant formulas exposed to different heat treatments. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 15(1): 25-33.
- Ryan, K.; Homco Ryan, C.L.; Jenson, J.; Robbins, K.L.; Prestat, C. y Brewer, M. (2002). Lipid extraction process on texturized soy flour and wheat gluten protein-protein interactions in a dough matrix. *Cereal Chem.* 79: 434-438.
- SAGPyA. Secretaría de Agricultura Ganadería, Pesca y Alimentación. (2012). Disponible en: <http://www.sagpya.mecon.gov.ar>.
- Sánchez, C.; Klopfenstein, C.F. y Walker, C.E. (1995). Use of carbohydrate fat substitute and emulsifying agents in reduced-fat shortbread cookies. *Cereal Chem.* 72: 25-29.
- Sánchez, H.D.; Osella, C.A. y de la Torre, M.A. (1998). Mejoramiento de la calidad nutricional de pan tipo francés. *Arch. Latinoam. Nutr.* 48(4): 349-353.
- Sánchez, H.D.; Osella, C.A.; de la Torre, M.A. (2003). Use of response surface methodology to optimize gluten – free bread fortified with soy flour and dry milk. *Food Sci. Technol. Int.* 10(1): 5-9.
- Sandberg, A.S. (2002). Bioavailability of minerals in legumes. *Br. J. Nutr.* 88: 281-285.

- Schaller, A. (2009). Sueros de Lechería. Dirección Nacional de Agroindustria. Cadenas Alimentarias. Alimentos Argentinos.
- Schneider, A.V.C. 2002. Overview of the market and consumption of pulses in Europe. *Brit. J. Nutr.* 88: 243-250.
- Selvaraj, A. y Shurpalekar, S.R. (1982). On improving the quality of soy fortified bread. *J. Food Sci. Technol.* 19: 242-246.
- Senthil, A.; Ravi, R.; Bhat, K. y Seethalakshmi, M.K. (2002). Studies on the quality of fried snacks based on blends of wheat flour and soy flour. *Food Qual. Prefer.* 13(5): 267-273.
- Serrem, C.; Kock, H. y Taylor, J. (2011). Nutritional quality, sensory quality and consumer acceptability of sorghum and bread wheat biscuits fortified with defatted soy flour. *Int. J. Food Sci. Technol.* 46: 74-83.
- Shamah Levy, T.; Cuevas Nasu, L.; Mayorga Borbolla, E. y Valenzuela Bravo, D.G. (2014). Consumo de alimentos en América Latina y el Caribe. *An. Venez. Nutr.* 27(1): 40-46.
- Sharma, A.; Yadav, B.S. y Ritika. (2008). Resistant starch: physiological roles and food applications. *Food Rev. Int.* 24(2): 193-234.
- Shittu, T.A.; Raji A.O. y Sanni L.O. (2007). Bread from composite cassava wheat flour: I. Effect of baking time and temperature on some physical properties of bread loaf. *Food Res. Int.* 40: 280-290.
- Shittu, T.A.; Raji, A.O. y Sanni, L.O. (2008). Bread from composite cassava wheat flour. II: Effect of cassava genotype and nitrogen fertilizer on bread quality. *Food Res. Int.* 41: 569-578.
- Silva, M.F.; Fornari, R.C.; Mazutti, M.A.; de Oliveira, D.; Padilha, F.F.; Cichoski, A.J. y Treichel, H. (2009). Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. *J. Food Eng.* 90(1): 119-123.
- Singh, R.; Singh G. y Chauhan G.S. (2000). Nutritional evaluation of soy fortified biscuits. *J. Food Sci. Technol.* 37(2): 162-164.
- Singh, M. y Mohamed, A. (2007). Influence of gluten–soy protein blends on the quality of reduced carbohydrates cookies. *Food Sci. Technol.* 40(2): 353-360.
- Singh, P.; Kumar, R.; Sabapathy, S.N. y Bawa, A.S. (2008). Functional and edible uses of soy protein products. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety.* 7(1): 14-28.
- Skovmand, B.; Fox, P. y Villareal, R. (1984). Triticale in commercial agriculture: Progress

- and promise. *Adv. Agron.* 37: 1-45.
- Slavin, J.L. (2005). Dietary fiber and body weight. *Nutr.* 21: 411-418.
- Sluimer, P. (2005). Principles of breadmaking. *Functionality of Raw materials and Process Steps*. AACC. Minnesota, United States.
- Smithers, G.W. (2008). Whey and whey proteins, from 'gutter-to-gold'. *Int. Dairy J.* 18(7): 695-704.
- Sosa, M. (2011). Optimización de la aceptabilidad sensorial y global de productos elaborados con amaranto destinados a programas sociales nutricionales. Tesis para la obtención del título de Doctor. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Exactas. Argentina.
- Stipanuk, M.H. y Caudill, M.A. (2013). *Biochemical, physiological, and molecular aspects of human nutrition*. (3<sup>a</sup> Ed.). Elsevier Health Sciences. Philadelphia, United States.
- Suárez López, M.M.; Kizlansky, A. y López, L.B. (2006). Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el score de aminoácidos corregido por digestibilidad. *Nutr. Hosp.* 21(1): 47-51.
- Surh, J.; Ward, L.S. y Mc Clements, D.J. (2006). Ability of conventional and nutritionally modified whey protein concentrates to stabilize oil in water emulsions. *Food Res. Int.* 39(7): 761-71.
- Tachibana, N.; Fukui, K.; Takamatsu, K.; Matsumoto, I.; Kato, H.; Abe, K. y Arai, S. (2005). Intake of soy protein isolate alters hepatic gene expression in rats. *J. Agric. Food Chem.* 53: 4253-4257.
- Tomoskozi, S.; Lasztity, R.; Haraszi, R. y Baticz, O. (2001) Isolation and study of the functional properties of pea proteins. *Nahrung Food* 45: 399-401.
- Torbatinejad, N.M.; Rutherford, S.M. y Moughan, P.J. (2005). Total and reactive lysine contents in selected cereal-based food products. *J. Agric. Food Chem.* 53: 4454-4458.
- Torún, B. (1988). Fortificación y enriquecimiento de alimentos: consideraciones sobre su uso para alcanzar las metas nutricionales. *Arch. latinoam. Nutr.* 38(3): 647-55.
- Tosh, S.M. y Yada, S. (2010). Dietary fibres in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications. *Food Res. Int.* 43(2): 450-460.
- Tosi, E.A.; Ciappini, M.C.; Masciarelli, R. y Re, E. (1994). Uso de harina integral de amaranto y harina de trigo en la fabricación de galletitas. *Alimentaria.* 258: 51-53.

- Tosi, E.A.; Re, E.D.; Masciarelli, R.; Sánchez, H.D.; Osella, C.A. y de La Torre, M.A. (2002). Whole and defatted hyperproteic amaranth flours tested as wheat flour supplementation in mold breads. *Food Sci. Technol.* 35(5): 472-475.
- Trethowan, R.M.; Peña, R.J. y VanGinkel, M. (2001). The effect of indirect tests for grain quality on the grain yield and industrial quality of bread wheat. *Plant Breed.* 120: 509-512.
- Trinidad, T.P.; Mallillin, A.C.; Loyola, A.S.; Sagum, R.S. y Encabo, R.R. (2010). The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fibre. *Br. J. Nutr.* 103: 569-574.
- Tsen, C.C.; Peters, E.M.; Schaffer, T. y Hoover, J.M. High protein cookies. (1973). Effect of soy fortification and surfactants. *Bakers Digest.* 47: 34-38.
- Tzitzikas, E.N.; Vincken, J.P.; de Groot, J.; Gruppen, H. y Visser, R.G. (2006). Genetic variation in pea seed globulin composition. *J. Agric. Food Chem.* 54: 425-433.
- Urbano, G.; López Jurado, M.; Frejnagel, S.; Gómez Villalva, E.; Porres, J.M. y Frías, J. (2005a). Nutritional assessment of raw and germinated pea (*Pisum sativum* L.) protein and carbohydrate by in vitro and in vivo techniques. *Nutrition.* 21: 230-239.
- Urbano, G.; Aranda, P.; Vilchez, A.; Aranda, C.; Cabrera, L.; Porres, J.M.; López Jurado, M. (2005b). Effects of germination on the composition and nutritive value of proteins in *Pisum sativum*, L. *Food Chem.* 93(4): 671-679.
- Ureta, M.M.; Olivera, D.F. y Salvadori, V.O. (2014). Baking of muffins: Kinetics of crust color development and optimal baking time. *Food Bioprocess Technol.* 7(11): 3208-3216.
- Van Boekel, M.A.J.S. (2001). Reviews kinetic aspects of the Maillard reaction: A critical review. *Nahrung.* 45(3): 150-159.
- Van Rooijen, C.; Bosch, G.; Van der Poel, A.F.; Wierenga, P.A.; Alexander, L. y Hendriks, W.H. (2013). The Maillard reaction and pet food processing: effects on nutritive value and pet health. *Nutr. Res. Rev.* 26(02): 130-148.
- Varesi, G.A. (2010). El circuito productivo sojero argentino en el modelo posconvertibilidad. Una aproximación desde el enfoque de análisis regional. *Cuadernos del CEDES.* 74: 107-137.
- Vega López, S.; Yeum, K.J.; Lecker, J.L.; Ausman, L.M.; Johnson, E.J.; Devaraj, S.; Jialal, I. y Lichtenstein, A.H. (2005). Plasma antioxidant capacity in response to diets high in

- soy or animal protein with or without isoflavones. *Am. J. Clin. Nutr.* 81: 43-49.
- Visentín, A.N.; Drago, S.R.; Osella, C.A.; de la Torre, M.A.; Sánchez, H.D. y González, R.J. (2009). Efecto de la adición de harina de soja y concentrado proteico de suero de queso sobre la calidad del pan y la dializabilidad de minerales. *Arch. Latinoam. Nutr.* 59(3): 325-331.
- Wagner, M.J.; Lucas, T.; Le Ray D. y Trystram G. (2007). Water transport in bread during baking. *J. Food Eng.* 78: 1167-1173.
- Walzem, R.L.; Dillard, C.J. y German, J.B. (2002). Whey components: Millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: What we know and what we may be overlooking. *Food Sci. Nutr.* 42(4): 353-375.
- Weaver, C.M.; Heaney, R.P.; Proulz, W.R.; Hinders, S.M. y Packard, P.T. (1993). Absorbability of calcium from common beans. *J. Food Sci.* 58: 1401-1403.
- Westenbrink, S.; Brunt, K. y van der Kamp, J.W. (2013). Dietary fibre: challenges in production and use of food composition data. *Food Chem.* 140(3): 562-567.
- Whitson, M.E.; Miracle, R.E. y Drake, M.A. (2010). Sensory characterization of chemical components responsible for cardboard flavor in whey protein. *J. Sens. Stud.* 25(4): 616-636.
- Wieser, H. y Seilmeier, W. (1998). The influence of nitrogen fertilisation on quantities and proportions of different protein types in wheat flour. *J. Sci. Food Agr.* 76(1): 49-55.
- Wong, K.H. y Cheung, P.C.K. (2003). Effect of fiber-rich brown seaweeds on protein bioavailability of casein in growing rats. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 54(4): 269-279.
- Xiao, C.W. (2008). Health effects of soy protein and isoflavones in humans. *The J. Nutr.* 138(6): 1244-1249.
- Zakrys, P.I.; Hogan, S.I.; O'Sullivan, M.G.; Allenand P. y Kerry J.P. (2008). Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Sci.* 19: 648-655.
- Zanoni, B.; Peri, C. y Bruno, D. (1995). Modelling of browning kinetics of bread crust during baking. *Food Sci. Technol.* 28(6): 604-609.
- Zghal, M.C.; Scanlon, M.G. y Sapirstein, H.D. (2002). Cellular structure of bread crumb and its influence on mechanical properties. *J. Cereal Chem.* 36: 167-176.