

UNIVERSIDAD DE OVIEDO

**MASTER UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA
ALIMENTARIA**

**“APLICACIÓN DE LOS GRÁNULOS DE
YEMA DE HUEVO EN EL DESARROLLO
DE NUEVOS PRODUCTOS DE
REPOSTERÍA”**

**TRABAJO FIN DE MASTER
POR**

VANESA GARCÍA PINTADO

JULIO, 2014



AGRADECIMIENTOS

Quisiera mostrar mi gratitud, en primer lugar, al Dr. Don Benjamín Paredes por su gran dedicación, atención e inestimables correcciones. De igual forma, agradecer a la Dra. Amanda Laca su paciencia, dedicación y apoyo, sus consejos y ayuda han sido muy importantes tanto a nivel personal como para la realización de este proyecto. Ambos han hecho que me sintiera parte de su equipo durante todos los días de trabajo.

A mi madre, sin ella no hubiera podido realizar este Máster, por su paciencia y apoyo incondicional, día tras día, durante todos los años de estudio. Y a mi familia que, desde la distancia, son un apoyo constante en mi vida.

A mis compañeros del Máster, porque además de todo lo aprendido en este curso me llevo unos grandes amigos, que habéis hecho de este año una experiencia positiva no solo a nivel profesional sino también en lo personal. No me olvido de daros las gracias, una vez más, por vuestra participación en la cata. Y, en especial, a Ainhoa, por su gran apoyo en todas las horas compartidas de estudio y laboratorio.

ÍNDICE

| | |
|--|------------|
| RESUMEN | III |
| ABSTRACT | IV |
| LISTA DE TABLAS | V |
| LISTA DE FIGURAS | VII |
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS | 5 |
| 2.1 HUEVO DE GALLINA | 6 |
| 2.1.1 Estructura del huevo..... | 9 |
| 2.1.2 Composición de la yema..... | 13 |
| 2.1.3 Fracciones de la yema..... | 16 |
| 2.2 COLESTEROL..... | 19 |
| 2.3 EL HUEVO Y LA SALUD..... | 23 |
| 2.4 REOLOGÍA..... | 23 |
| 2.4.1 Conceptos de reología..... | 23 |
| 2.4.2 Clasificación de los fluidos..... | 26 |
| 2.4.3 Determinaciones reométricas..... | 30 |
| 2.4.4 Ensayos reométricos..... | 33 |
| 2.5 TEXTUROMETRÍA | 34 |
| 2.6 COLORIMETRÍA | 37 |
| 2.7 ANÁLISIS SENSORIAL | 39 |
| 3. MATERIAL Y MÉTODOS | 43 |
| 3.1 FRACCIONAMIENTO DE YEMA DE HUEVO | 44 |
| 3.1.1 Rendimiento del proceso..... | 45 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2 LIOFILIZACIÓN..... | 46 |
| 3.3 FORMULACIÓN DEL TOCINILLO DE CIELO..... | 46 |
| 3.4 CARACTERIZACIÓN DE LOS TOCINILLOS DE CIELO..... | 50 |
| 3.4.1 Medidas reológicas..... | 50 |
| 3.4.2 Medidas colorimétricas..... | 52 |
| 3.4.3 Perfil textural..... | 53 |
| 3.4.4 Microscopía..... | 55 |
| 3.4.5 Recuento total..... | 57 |
| 3.4.6 Evaluación organoléptica..... | 57 |
| 4. RESULTADOS..... | 58 |
| 4.1 TOCINILLO DE CIELO..... | 61 |
| 4.2 PROPIEDADES FÍSICAS Y FÍSICO-QUÍMICAS DEL TOCINILLO DE CIELO..... | 62 |
| 4.2.1 Reología..... | 62 |
| 4.2.2 Colorímetro..... | 68 |
| 4.2.3 Texturómetro..... | 69 |
| 4.2.4 Microscopía..... | 70 |
| 4.2.5 Microbiología..... | 74 |
| 4.2.6 Evaluación organoléptica..... | 74 |
| 5. CONCLUSIONES..... | 76 |
| LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS..... | 78 |
| 6. BIBLIOGRAFÍA..... | 79 |
| 7. ANEXOS..... | 81 |
| ANEXO 1: LISTA CON LOS DIFERENTES ENSAYOS REALIZADOS..... | 84 |
| ANEXO 2: EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA..... | 87 |
| ANEXO 3: ETIQUETADO DEL PRODUCTO..... | 88 |
| ANEXO 4: ADITIVOS ALIMENTARIOS..... | 92 |

RESUMEN

Teniendo en cuenta la creciente demanda por parte de los consumidores de productos saludables, el objetivo de este proyecto ha sido elaborar un tocino de cielo, postre tradicional de nuestra región, con unas mejores propiedades nutricionales que el tocino convencional. Para ello se ha mantenido uno de sus ingredientes principales, la yema de huevo, pero, en este caso, se ha utilizado su fracción granular. Tras diversas pruebas se obtuvo un producto con un menor valor energético, así como con un menor contenido en colesterol, que el tocino tradicional.

El tocino de cielo elaborado con la fracción granular se comparó con el producto tradicional mediante diversas técnicas: medidas reológicas, análisis textural, colorimetría, microscopía y, finalmente, una evaluación sensorial. Las medidas instrumentales detectaron diferencias entre ambos productos, tanto en sus propiedades físicas como en su microestructura. Por otra parte, los resultados obtenidos en la evaluación sensorial indican que existen pocas diferencias en el sabor (*flavour*) de ambos productos, además, es importante destacar que, el tocino de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada obtuvo una puntuación más elevada.

ABSTRACT

As a result of the increasing demand for healthy products on the part of the consumers, this project aims to develop a traditional dessert from our region with better nutritional properties than the natural one. Egg yolk is one of the main ingredients, but only a part of it is used in order to achieve a healthier product, its granular fraction. After several tests, a product that has less energy value as well as lower cholesterol content than the traditional dessert was obtained.

The granular fraction dessert was compared with the natural dessert using different techniques: rheological measurements, texture analysis, colour measurements, microscopy and finally, sensory evaluation. Instrumental measurements detected differences between the two products, regarding physical properties and also, microstructure. Additionally, according to sensory evaluation results, both desserts showed very similar flavour, being remarkable that the granular fraction dessert obtained a higher score than the traditional one.

LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| <i>Tabla 1: Contenido nutricional y energético de un huevo completo en 100g., por un huevo (~60g.) y porcentaje en función de la ingesta diaria recomendada (adaptado de Antón et al., 2007).</i> | 8 |
| <i>Tabla 2: Distribución detallada de los minerales en el huevo (adaptado del Instituto de estudios del huevo, 2009).</i> | 16 |
| <i>Tabla 3: Proteínas de la yema de huevo y su distribución (adaptado de Sáenz, 2008).</i> 17 | |
| <i>Tabla 4: Definición de los parámetros mecánicos de textura (Szczesniak, 2002).</i> | 36 |
| <i>Tabla 5: Clasificación de los atributos de textura (adaptado de Díaz, 2014).</i> | 41 |
| <i>Tabla 6: Composición de la yema natural en comparación con la fracción granular. Se informan los valores medios \pm SD (Laca et al., 2010).</i> | 45 |
| <i>Tabla 7: Receta tradicional del tocnillo de cielo, realizado con yema de huevo liofilizada.</i> | 46 |
| <i>Tabla 8: Recetas del tocnillo de cielo con la fracción granular liofilizada.</i> | 47 |
| <i>Tabla 9: Ingredientes y aditivos utilizados en la elaboración de los tocnillos de cielo.</i> | 48 |
| <i>Tabla 10: Valor energético y contenido nutricional del tocnillo del cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada y del tocnillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.</i> | 61 |
| <i>Tabla 11: Comparativa entre el TCGR y tocnillos de cielo (TC) comerciales.</i> | 62 |
| <i>Tabla 12: Datos obtenidos tras la realización del modelo de ajuste Herschel-Buckley.</i> 64 | |
| <i>Tabla 13: Valores de tixotropía (Pa/s) para los tocnillos de cielo elaborados con yema natural y con la fracción granular.</i> | 64 |
| <i>Tabla 14: Resultados obtenidos tras el análisis colorimétrico.</i> | 68 |

| | |
|--|-----------|
| <i>Tabla 15: Parámetros mecánicos obtenidos del análisis de textura.....</i> | <i>69</i> |
| <i>Tabla 16: Resultados de la evaluación sensorial.....</i> | <i>74</i> |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| <i>Figura 1: Corte transversal del huevo y sus partes (adaptado del Instituto de estudios del huevo, 2009).</i> | 9 |
| <i>Figura 2: Componentes de yema de huevo natural (adaptado Sáenz, 2008).</i> | 13 |
| <i>Figura 3: Síntesis de proteínas de la yema y transferencia a la yema de huevo (adaptado Mine, 2008).</i> | 14 |
| <i>Figura 4: Ley de Hook.</i> | 24 |
| <i>Figura 5: Ley de Newton de la viscosidad.</i> | 25 |
| <i>Figura 6: Modelo de flujo entre dos láminas planas y paralelas (adaptado Deschramm, 2000).</i> | 25 |
| <i>Figura 7: Clasificación de los fluidos en función de su comportamiento reológico (adaptado Marin et al., 2014).</i> | 26 |
| <i>Figura 8: Esfuerzo cortante frente a gradiente de velocidad para fluidos nn independientes del tiempo (adaptado de Riera, 2014).</i> | 27 |
| <i>Figura 9: Fluidos NN pseudoplásticos (adaptado de Riera, 2014).</i> | 27 |
| <i>Figura 10: Modelo de Herschel-Bulkley</i> | 28 |
| <i>Figura 11: Fluidos NN: tixotropía y reopexia (adaptado de Riera, 2014).</i> | 29 |
| <i>Figura 12: Fluidos NN: tixotropía y reopexia (adaptado de Riera, 2014).</i> | 30 |
| <i>Figura 13: Esquema de los distintos elementos sensores. A. Cilindros coaxiales, B. Cono-placa, C. Placa-placa y D. Torsión rectangular (adaptado de Marin et al., 2014).</i> | 32 |
| <i>Figura 14: Curva de flujo correspondiente a distintos tipos de fluidos: 1. Fluidos newtonianos, 2. Fluidos pseudoplásticos, 3. Fluidos dilatantes y 4. Fluidos plásticos (adaptado de Schramm, 2000).</i> | 33 |

| | |
|---|----|
| <i>Figura 15: Espacio CIE-LAB (adaptado de INTA, 2014).</i> | 38 |
| <i>Figura 16: Espacio CIE-LAB (adaptado de INTA, 2014).</i> | 38 |
| <i>Figura 17: Esquema general del fraccionamiento de yema de huevo.</i> | 44 |
| <i>Figura 18: Muestras preparadas para la liofilización. A. Yema de huevo. B. Fracción granular.</i> | 45 |
| <i>Figura 19: Imagen tomada mientras se realizaba la mezcla, con el homogeneizador, de los ingredientes utilizados.</i> | 50 |
| <i>Figura 20: Reómetro Haake Mars II.</i> | 50 |
| <i>Figura 21: Espectrofotómetro ULTRASCAN VIS (HunterLab).</i> | 53 |
| <i>Figura 22: Diferencia de color CIE-LAB.</i> | 53 |
| <i>Figura 23: Texturómetro TA.XTplus Texture Analyser (Stable Micro Systems).</i> | 54 |
| <i>Figura 24: Sonda P/0.55</i> | 54 |
| <i>Figura 25: Gráfica obtenida tras el ensayo de penetración realizado con el texturómetro.</i> | 55 |
| <i>Figura 26: Bandeja con las muestras ofrecidas a los panelistas.</i> | 59 |
| <i>Figura 27: A. Tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada. B. Tocinillo de cielo elaborado con fracción granular liofilizada.</i> | 61 |
| <i>Figura 28: Curva de flujo correspondiente al tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada.</i> | 63 |
| <i>Figura 29: Curva de flujo correspondiente al tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.</i> | 63 |
| <i>Figura 30: Barrido de frecuencia del tocinillo de cielo elaborado con la yema de huevo natural liofilizada.</i> | 66 |
| <i>Figura 31: Barrido de frecuencia correspondiente al tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.</i> | 66 |

| | |
|--|-----------|
| <i>Figura 32: Rampa de temperatura correspondiente al tocinillo de cielo elaborado con yema natural liofilizada.....</i> | <i>67</i> |
| <i>Figura 33: Rampa de temperatura correspondiente al tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.</i> | <i>67</i> |
| <i>Figura 34: Emulsión de TCY. Aumento a 100x.....</i> | <i>70</i> |
| <i>Figura 35: Emulsión de TCGR al microscopio óptico. Aumento a 10x.....</i> | <i>70</i> |
| <i>Figura 36: Detalle de la estructura formada por el carragenato en la emulsión de TCGR al microscopio óptico. Aumento a 40x.</i> | <i>71</i> |
| <i>Figura 37: Detalle de un gránulo de almidón en la emulsión de TCGR al microscopio óptico. Aumento a 100x.</i> | <i>71</i> |
| <i>Figura 38: Producto final de TCY al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 100x.</i> | <i>69</i> |
| <i>Figura 39: Producto final de TCY al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 5,000x.</i> | <i>72</i> |
| <i>Figura 40: Detalle de la estructura en el producto final de TCY al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 27,000x.</i> | <i>72</i> |
| <i>Figura 41: Producto final de TCGR al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 100x.</i> | <i>72</i> |
| <i>Figura 42: Detalle de un gránulo de almidón en la muestra de producto final de TCGR al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 1,500x.</i> | <i>73</i> |
| <i>Figura 43: Detalle de un gránulo de almidón en la muestra de producto final de TGCR al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 3,700x.</i> | <i>73</i> |

1. INTRODUCCIÓN

El huevo, para el ser humano, ha sido siempre mucho más que un alimento, estando presente en numerosos ritos y expresiones populares, en la mitología y el arte. Es fuente de todos los nutrientes necesarios para la vida. Por esta razón, en tiempos de escasez, se guardaban los huevos para las personas que más los necesitaban (niños, ancianos, enfermos y mujeres embarazadas) a modo de reconstituyente. Así mismo, en las mesas de los grandes señores era considerado un manjar muy apetecible (Instituto de estudios del huevo, 2009).

La yema de huevo es considerada como uno de los alimentos más nutritivos que existen, esto es debido a que está constituida por los siguientes componentes: lípidos (34%) de los cuales <5% de colesterol, carotenoides (<5%) fosfolípidos (33%) y triglicéridos (62%), proteínas (16%) de las cuales LDL (68%), HDL (16%), fosfoproteínas (4%) y proteína minoritaria (2%), e hidratos de carbono y cenizas (2-3%) (Antón et al., 2007). Estos componentes son los responsables de que la yema de huevo tenga numerosas propiedades, como por ejemplo, sus propiedades coagulantes y emulsionantes, y que la hacen ser un producto apto para su aplicación culinaria e industrial, tanto en la industria alimentaria, química, farmacéutica o cosmética.

El sector de la industria alimentaria trata de aprovechar el gran valor nutritivo del huevo y sus partes, además de las extraordinarias características funcionales convirtiéndolo en un ingrediente clave en la elaboración de otros alimentos (Antón et al., 2000), como los denominados ovoproductos. Los ovoproductos son los productos derivados del huevo, en los cuales el huevo se presenta de forma diversa: líquidos refrigerados, congelados, en polvo, etc. En algunos casos los ovoproductos, en función de las demandas del cliente, contienen ciertos aditivos incorporados como sal o azúcar, que se añaden para preservar sus cualidades, o están sometidos a otros tratamientos previos, lo que condiciona el uso al que se destine el correspondiente ovoproducto (Instituto de estudios del huevo, 2009).

Desde hace unas décadas, se han ido desarrollando nuevas aplicaciones del huevo como resultado de la realización de numerosos estudios. Entre los estudios realizados recientemente se encuentra la obtención de péptidos con actividad antihipertensiva a partir de la hidrólisis enzimática de la clara o albumen (Instituto de estudios del huevo, 2009).

Para la realización de este trabajo se empleó uno de estos avances, el fraccionamiento de la yema de huevo, desarrollado en los últimos años por los investigadores del grupo TBR del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Oviedo. Consiste en la obtención de una fracción granular y una fracción plasmática a partir de una yema de huevo natural, mediante un proceso sencillo de dilución de la yema en NaOH y posterior centrifugación.

Las fracciones siguen siendo un alimento fresco, por lo que posteriormente se realizó un proceso de liofilización de la fracción granular obtenida para así alargar su vida útil y permitir su almacenamiento (Sáenz, 2008).

La fracción granular es una fracción enriquecida en proteínas, fundamentalmente en lipoproteínas de alta densidad (HDL) y fosvitinas, tiene una estructura compacta y poco hidratada por la formación de puentes fosfocálcicos (Antón et al., 2007). Esta fracción es de interés ya que posee un bajo contenido en colesterol, el cual, además, es considerado como “colesterol bueno”, corresponde al colesterol que se une a las lipoproteínas de alta densidad (Sáenz, 2008).

El alto contenido en colesterol de la yema de huevo y, por consiguiente, de los ovoproductos es un tema de preocupación actual en relación al efecto que provoca en la salud de las personas: arterosclerosis, diabetes, enfermedades renales, etc. La ingesta diaria recomendada de colesterol está limitada a menos de 200 mg/día para personas con riesgos cardiovasculares y en menos de 300 mg/día para personas sanas. Una yema de huevo contiene aproximadamente 275 mg de colesterol, cantidad que supera el límite establecido para personas con riesgos cardiovasculares y está cerca del límite para personas sanas (Spence et al., 2010). Desde otro punto de vista, una de las demandas de los consumidores actuales es la reducción de los niveles de grasa (Nikzade et al., 2012).

La grasa, cuya presencia se ve reducida en la fracción granular, juega un papel importante en las propiedades emulsionantes de los alimentos y contribuye al *flavour*, apariencia, textura y vida útil de las emulsiones de los alimentos de forma elevada y específica. Por lo tanto, es difícil de imitar la calidad del producto tradicional en la preparación de alimentos con bajo contenido en grasa. Algunos componentes utilizados para simular la propiedad emulsionante que aporta la grasa son el almidón y el

carragenato, generalmente estabilizan la emulsión y aumentan la viscosidad (Nikzade et al., 2012). Estos ingredientes han sido utilizados para la elaboración del producto.

El objetivo de este trabajo ha sido la elaboración de un producto de repostería tradicional de nuestra región, como es el tocinillo de cielo, utilizando para ello la fracción granular liofilizada de la yema de huevo. Consiguiendo así un producto con bajo contenido en colesterol y grasas, por tanto, más saludable para el consumidor. Dentro de los objetivos también ha estado que dicho producto tenga unas propiedades reológicas, texturales y colorimétricas similares a las de un tocinillo de cielo elaborado con yema natural liofilizada. Así mismo, se han realizado pruebas microbiológicas y una evaluación organoléptica del producto.

2. *FUNDAMENTOS TEÓRICOS*

2.1 Huevo de gallina

Al hablar de huevo y sus productos se hace referencia al huevo de gallina (*Gallus domesticus*), cuyo uso es el más extendido a nivel mundial.

El huevo nos interesa como materia prima industrial, ya que es uno de los alimentos más completos que existen para el ser humano: es una fuente de proteínas de alta calidad, ácidos grasos insaturados, vitaminas y minerales, además es relativamente fácil de digerir y bajo en calorías -75 Kcal-, barato y sencillo de preparar. Por estas razones, es necesario que sea de primera calidad: para ello es fundamental la selección de una buena raza, buena alimentación y una producción en condiciones sanitarias de primera (Surgino et al., 1997 y Rendueles, 2014).

Una vez puestos, los huevos deberán ser recogidos, lavados, clasificados, envasados y almacenados a unos 10°C o procesados. Toda esta operación se debe realizar en el menor tiempo posible para evitar así la pérdida de calidad de la proteína. La limpieza se realiza por vía húmeda o seca. La clasificación se realiza en función del peso; existen distintos grados que van desde 50 hasta más de 70 g. El almacenamiento se realiza en cámaras que no deberán tener alta humedad, aunque tampoco muy bajas, para evitar una excesiva desecación; lo ideal sería entre un 75-80% de humedad. Al huevo se le puede dar antes de almacenar una cubierta tenue de aceite para sellar los poros de la cáscara, evitando la pérdida de humedad y CO₂; esto hace que el pH del albumen suba más despacio, evitando el deterioro de la membrana de la yema y el adelgazamiento de la clara que ocurre a pH altos (Rendueles, 2014).

Los huevos, una vez limpios, son escogidos para su comercialización en base a los siguientes criterios de calidad:

- Sin roturas.
- La bolsa de aire debe no tener más de 3mm de profundidad, no se debe mover apenas ni debe estar rota en secciones. Profundidad se define a la distancia que va desde el tope superior de la cámara hasta el inferior, cuando el huevo se sostiene con la cámara hacia arriba.
- La clara será translúcida y la yema apenas se deberá ver al mover el huevo a trasluz.

La composición general de los huevos de gallinas es la siguiente: 10% de cáscara (dónde se incluye también la membrana), 62% de clara y 28% de yema. El extracto seco del huevo de gallina es aproximadamente un 25%, siendo un 12% de la clara, un 52% de la yema y más de 9% de la cáscara (Surgino et al., 1997).

El conocimiento de la composición química del huevo es de gran importancia dada la sensibilidad de algunos componentes a los tratamientos tecnológicos, que pueden alterar las propiedades espumantes de la clara o emulsionantes de la yema; siendo estas dos cualidades técnicas muy apreciadas del huevo, junto con la coagulación (Surgino et al., 1997).

Los componentes primarios del huevo corresponden a 12% de proteínas, 12% de lípidos y un 75% de agua con pequeñas cantidades de hidratos de carbono y minerales. Las proteínas del huevo se encuentran distribuidas en un 44% en la yema y en un 50% en la clara, mientras que los lípidos están principalmente en la yema de huevo, en forma de lipoproteínas. El 40% de los hidratos de carbono se encuentran contenidos en la yema en forma libre, o unidos a lípidos y proteínas. El mayor contenido de pigmentos se encuentra en la yema, cuyo color es considerado un parámetro de calidad. La mayoría de los minerales están presentes en forma conjugada y solo una mínima fracción se encuentra como compuestos inorgánicos o iones. Aproximadamente el 94% del contenido mineral está en la cáscara (Surgino et al., 1997).

En la Tabla 1 se puede observar el contenido nutricional y energético de un huevo de gallina sin cáscara.

Tabla 1: Contenido nutricional y energético de un huevo completo en 100g., por un huevo (~60g.) y porcentaje en función de la ingesta diaria recomendada (adaptado de Antón et al., 2007).

| Análisis nutricional de un huevo completo sin cáscara | | | |
|---|-----------------|------------------------|--------------|
| Componentes | Por cada 100 g. | Por cada huevo (~60g.) | IDR (%) |
| Proteínas (g.) | 12,9 | 6,8 | 55 |
| Carbohidratos (g.) | 0,7 | 0,4 | 245 |
| Grasas (g.) | 11,1 | 5,9 | 85 |
| Ácidos grasos es. (g.) | 1,3 | 0,7 | 6,5 |
| Ácidos grasos n-3 (g.) | 0,4 | 0,2 | 1,6 |
| <i>Minerales</i> | | | |
| Sodio (g.) | 0,14 | 0,08 | 0,55 |
| Potasio (g.) | 0,15 | 0,08 | 3 |
| Calcio (mg.) | 56 | 30 | 900 |
| Fósforo (mg.) | 216 | 115 | 700 |
| Magnesio (mg.) | 12,1 | 6,4 | 350 |
| Hierro (mg.) | 2,1 | 1,1 | 12,5 |
| Zinc (mg.) | 1,4 | 0,74 | 8,5 |
| Fluoruro (mg.) | 0,11 | 0,06 | 3,0 |
| Yodo (µg.) | 11 | 6 | 200 |
| Selenio (µg.) | 24,5 | 13 | 45 |
| <i>Vitaminas</i> | | | |
| Vitamina A(mg.) | 0,28 | 0,15 | 1 |
| Vitamina D (µg.) | 2,9 | 1,54 | 5 |
| Vitamina E (mg.) | 2,0 | 1,1 | 13 |
| Vitamina K (µg.) | 48 | 25 | 65 |
| Vitamina B₁ (mg.) | 0,1 | 0,05 | 1,2 |
| Vitamina B₂ (mg.) | 0,30 | 0,16 | 1,4 |
| Vitamina B₆ (mg.) | 0,12 | 0,06 | 1,3 |
| Vitamina B₁₂ (µg.) | 2,0 | 1,06 | 3 |
| Ácido fólico (µg.) | 65 | 34 | 400 |
| Niacina (mg.) | 3,1 | 1,6 | 14,5 |
| Biotina (µg.) | 25,0 | 13,25 | 45 |
| Ácido pantoténico (mg.) | 1,6 | 0,85 | 6 |
| Colesterol (mg.) | 396 | 210 | 300 |
| Valor energético (kcal/KJ) | 154/646 | 82/342 | 2,500/10,450 |

2.1.1 Estructura del huevo

La estructura del huevo está diseñada por la naturaleza para dar protección y mantener el embrión. Su contenido es de enorme valor nutritivo, siendo capaz por sí mismo de dar origen a un nuevo ser vivo. El huevo se encuentra protegido de la contaminación exterior por la barrera física que le proporciona su cáscara y membranas y por la barrera química que le proporcionan los componentes antibacterianos presentes en su contenido.

El corte transversal de un huevo, Figura 1, permite diferenciar nítidamente sus partes: la cáscara, la clara o albúmen y la yema, separadas entre sí por medio de membranas que mantienen su integridad (Instituto de estudios del huevo, 2009).

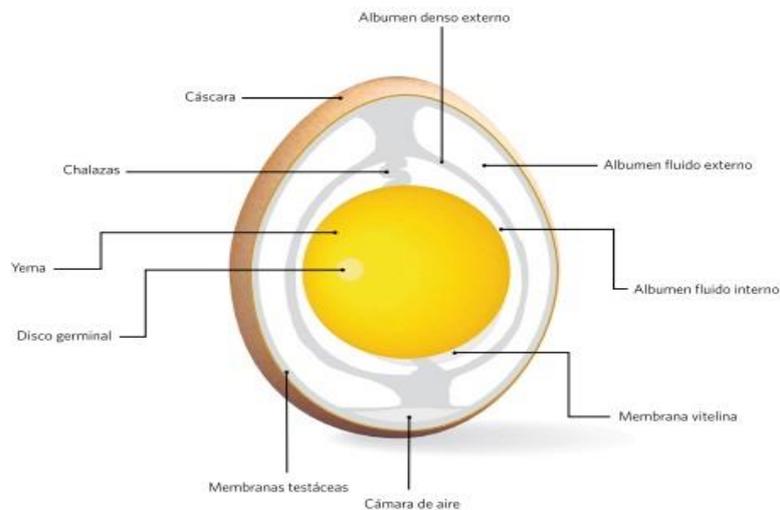


Figura 1: Corte transversal del huevo y sus partes (adaptado del Instituto de estudios del huevo, 2009).

El peso medio de un huevo está en torno a 60 g. de los cuales, como se ha indicado anteriormente, aproximadamente la clara presenta el 60%, la yema el 30% y la cáscara, junto a las membranas, el 10% del total (Instituto de estudios del huevo, 2009).

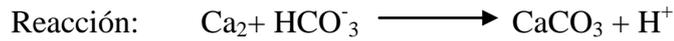
A continuación se van a describir en detalle las distintas partes que componen un huevo con la finalidad de llegar a entender la naturaleza del mismo.

Cáscara

La cáscara es la cubierta exterior del huevo y tiene gran importancia ya que mantiene la integridad física además de actuar como barrera bacteriológica. Está constituida por una matriz cálcica con un entramado orgánico, donde el calcio es el elemento principal, encontrándose proporciones mucho menores de sodio, magnesio (proporciona dureza), zinc, manganeso, hierro, cobre, aluminio y boro. Además de pequeñas cantidades de mucopolisacáridos y proteínas que van a contribuir a formar el entramado de la matriz. La matriz tiene dos zonas: la inferior, en contacto con las membranas y la superior o exterior, cuyas fibras corren paralelas a la superficie de la cáscara. La cáscara está atravesada por numerosos poros que forman túneles entre los cristales minerales y permiten el intercambio gaseoso de vapor de agua y CO₂ entre el interior y el exterior. El número de poros varía entre 7.000 y 15.000. Van a ser especialmente numerosos en la zona del polo ancho del huevo, donde aparece la cámara de aire. La superficie de la cáscara, incluidos los poros, están recubiertos por una película de mucina o cutícula orgánica, que tiene un grosor de aproximadamente 20 micras, formada principalmente por proteínas (90%) y el resto por lípidos y carbohidratos. La función de esta cutícula se encuentra en cerrar los poros, formando así una barrera física contra la penetración de microorganismos. Además, evita la pérdida de agua y da un aspecto brillante al huevo. El interior de la cáscara está recubierto por dos membranas: membrana testácea interna y membrana testácea externa. Ambas rodean el albumen y proporcionan protección contra la penetración bacteriana. Tienen una micra de grosor y están constituidas por proteínas duras como la queratina, también son ricas en arginina, metionina, histidina, cistina y prolina (Sáenz, 2008, Instituto de estudios del huevo, 2009 y Rendueles, 2014).

El color de la cáscara, blanco o marrón (en función de la raza de la gallina), va a depender de la concentración de pigmentos. Estos pigmentos se denominan porfirinas, se depositan en la matriz cálcica y no afectan ni a la calidad ni a las propiedades del huevo (Instituto de estudios del huevo, 2009).

La calidad o resistencia de la cáscara va a depender básicamente del metabolismo mineral de la gallina y de su adecuada alimentación. El metabolismo mineral es el resultado de la combinación de iones calcio con bicarbonato de sodio.



El carbonato cálcico obtenido en la reacción anterior constituye el 94% del peso de la cáscara, un 4% está formado por proteínas de alta dureza y, el porcentaje restante lo forman los componentes minoritarios anteriormente nombrados (Sáenz, 2008).

Clara o albumen

Está formado por varias capas más o menos densas denominadas albumen denso y fluido, y por la chalaza. El 88% del albumen está formado por agua, el resto (12%) son proteínas, éste contenido proteico lo forman fibras mucosas dispersas en disolución de proteínas globulares, entre ellas tenemos (Instituto de estudios del huevo, 2009 y Rendueles, 2014):

- Ovoalbúmina: representa el 54% del contenido proteico total y sus propiedades son de gran interés tanto desde el punto de vista nutritivo como culinario. Es una fosfoglicoproteína de pm= 42,700 Da, está formada por una secuencia de 285 unidades aminoacídicas, durante el almacenamiento se convierte en la s-ovoalbúmina, que es una forma más compacta y estable al calor ya que la ovoalbúmina se desnatura a una temperatura de 84,5°C mientras que la s-ovoalbúmina se desnatura a 95,2°C.
- Conalbúmina u ovotransferrina: es una glicoproteína con un pm= 76,000 Da. Destaca por su facilidad para unirse a cationes como el Al^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} , dando lugar a complejos de mayor estabilidad térmica.
- Avidina: es una glicoproteína que asociada a la biotina del complejo vitamínico B, forma un complejo estable no absorbible por el intestino. Esta proteína tiene un pm= 35,000 Da, está formada por una secuencia aminoacídica de 512 unidades y su temperatura de desnaturación es de 70°C (el complejo se desnatura a 100°C).
- Ovomucoide: es una glicoproteína muy resistente al calor, con un pm= 28,000Da y su punto isoeléctrico se encuentra en 4,1. Se caracteriza por inhibir la tripsina.
- Otras: lisozima, ovomucina, ovoglobulina y flavoproteína.

Por tanto, en la clara se encuentran algo más de la mitad de las proteínas del huevo y está exenta de lípidos. Las vitaminas B₂ y niacina están en mayor cantidad en la clara que en la yema (Instituto de estudios del huevo, 2009).

Sujetando la yema para que quede centrada se encuentran unos engrosamientos del albumen denominados chalazas, con forma de filamentos enrollados, que van desde la yema hasta los dos polos opuestos del huevo (Instituto de estudios del huevo, 2009).

Desde el punto de vista reológico, el albumen es considerado un fluido pseudoplástico, a baja temperatura (~ 2°C) y un intervalo de 0 a 5 Pa de esfuerzo de deformación, con $\eta = 20$ cP (Sáenz, 2008).

Yema o vitelo

La yema de huevo de gallina es un ingrediente enormemente multifuncional, usado para la elaboración de numerosos productos culinarios como mayonesa, postres, tartas, pasta, cremas, etc. Esto es debido a sus propiedades emulsificantes, gelificantes, colorantes, aromatizantes y antioxidantes. Cada constituyente de la yema de huevo posee características físicas y químicas peculiares responsables de sus propias propiedades funcionales. Las condiciones ambientales como pH y fuerza iónica, y los tratamientos de conservación (secado, congelación o cocción) pueden influir y modular estas propiedades funcionales (Antón et al., 2007).

Debido al papel esencial del huevo en el desarrollo embrionario, la yema contiene numerosos constituyentes esenciales para la vida. Los valores biológicos de las proteínas del huevo son incluso superiores a los valores de las proteínas de la leche (Antón et al., 2007).

La yema es una suspensión de partículas esféricas, gránulos y microgránulos grasos en una solución llamada plasma. Este plasma supone en torno al 80% del líquido de la yema, los sólidos que están disueltos en dicho líquido son fundamentalmente proteínas y lípidos. La yema se encuentra rodeada de una membrana denominada membrana vitelina y tiene dos capas separadas, en los huevos frescos las fibras de estas capas se entrelazan con la chalaza. En la yema de huevo hay también pigmentos que dan color denominados carotenos (Rendueles, 2014).

El colesterol que posee la yema de huevo juega un importante papel en el desarrollo embrionario. Es un componente estructural de las membranas celulares y un precursor hormonal, de vitamina D y de los ácidos biliares (ampliación en el apartado 2.2). La cantidad de colesterol presente en el huevo y su contribución a la captación de colesterol por el metabolismo humano hace que sea aún un tema de debate entre los nutricionistas (Antón et al., 2007).

En la Figura 2 se pueden ver los principales componentes presentes en la yema de huevo de gallina.

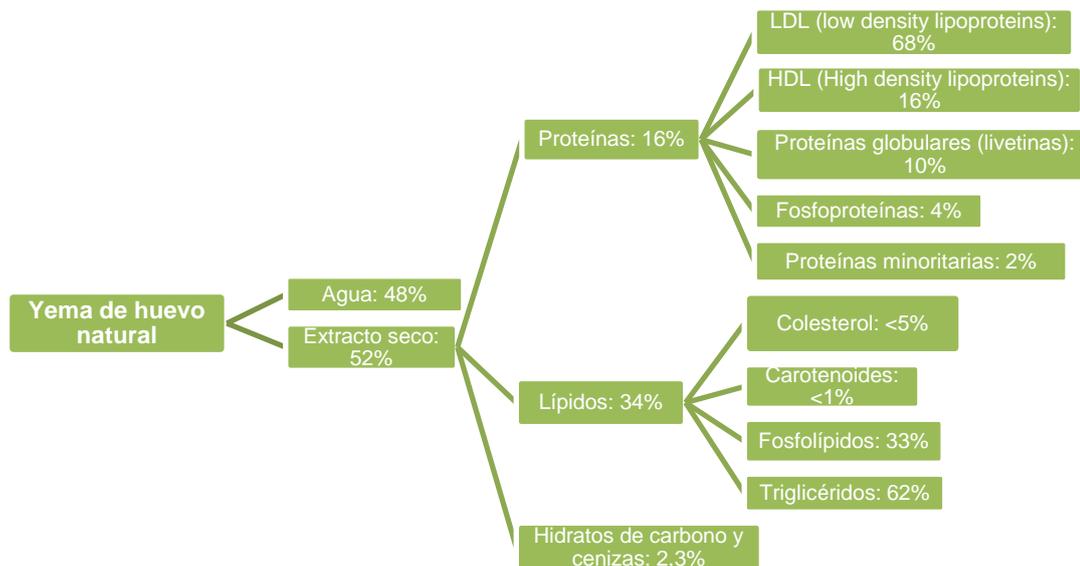


Figura 2: Componentes de yema de huevo natural (adaptado Sáenz, 2008).

Desde el punto de vista reológico, la yema de huevo es un fluido pseudoplástico cuando se encuentra en un intervalo de temperatura de 4 a 60°C (Mendes de Souza, 2013).

2.1.2 Composición de la yema

Proteínas de la yema

Dentro de la clasificación de las proteínas se tiene en cuenta tanto las libres como las asociadas a lípidos, denominadas lipoproteínas. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) están presentes en mayor porcentaje (68% del contenido proteico total de la yema) y se caracterizan por su propiedad emulsionante. Están constituidas por un

80-89% de lípidos y son partículas esféricas con un núcleo de lípidos no polar, rodeado por una capa de apoproteínas y fosfolípidos (Cordobés et al., 2003). Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) consisten fundamentalmente en α y β lipovitelinas (constituyen el 21% del contenido proteico total de la yema), los cuales forman complejos con fosfoproteínas, principalmente fosvitinas. Las fosvitinas están formadas en un 10% de fósforo (0% del fósforo total presente en la yema) y poseen un 54% de contenido en serina, en forma de ésteres de ácido fosfórico. Las livetinas, presentes mayoritariamente en el plasma de la yema (contienen el 30% de las proteínas de la yema), contienen gran cantidad de las enzimas del huevo, principalmente aquellas de baja actividad como son α -amilasas o fosfatasa; además, forman parte de este grupo las inmunoglobulinas, y su comportamiento es similar al de las proteínas de la sangre (Sáenz, 2008).

En la siguiente figura, Figura 3, podemos ver un esquema sobre la síntesis de las proteínas de la yema y su transferencia a la yema de huevo.

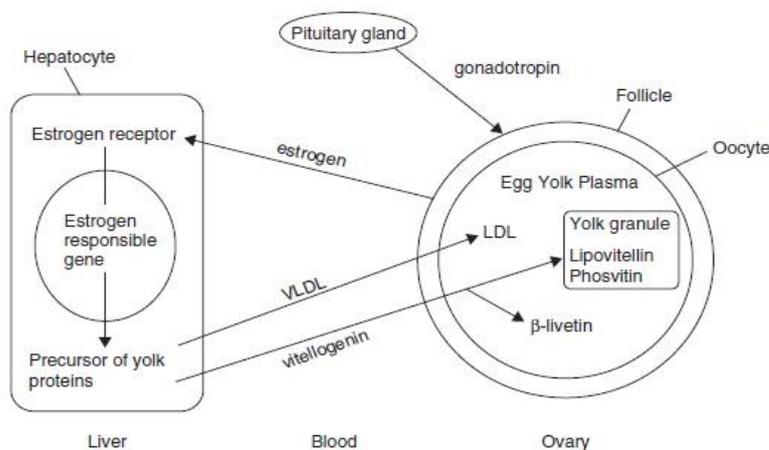


Figura 3: Síntesis de proteínas de la yema y transferencia a la yema de huevo (adaptado Mine, 2008).

Lípidos de la yema

Los lípidos son el principal componente de la yema de huevo (forman el 60% del extracto seco) e incluyen triacilglicéridos, fosfolípidos, colesterol, cerebrósidos y otros lípidos menores (Sáenz, 2008). Su composición depende de la alimentación de las gallinas, sin embargo una aproximación a estos valores sería: ácidos grasos saturados: 30-35%, ácidos grasos monoinsaturados: 40-45% y ácidos grasos poliinsaturados: 20-

25%. Siendo los principales ácidos grasos el oléico, palmítico y linoléico, de los cuales, oléico y palmítico están presentes en mayor proporción que los triacilglicéridos (Antón et al., 2007).

Los fosfolípidos son un componente importante de las lipoproteínas de la yema de huevo. Poseen extremos lipofílicos e hidrofílicos y se caracterizan por sus propiedades emulsionantes. Se encuentran divididos en clases α y β , en los cuales los ácidos grasos unidos en posición α son principalmente saturados, mientras que los unidos en posición β son insaturados. En esta fracción también se encuentran concentrados los ácidos grasos poliinsaturados como son el ácido araquidónico y el docosahexaenoico (DHA), los cuales son beneficiosos para el hombre ya que previenen de enfermedades cardiovasculares. Dentro de los fosfolípidos la lecitina es la más importante ya que es indispensable en todas las células vivas, ofreciendo protección frente a la oxidación, es una fuente de vitamina B y, juega un gran papel en la industria gracias a su poder emulgente de grasas (Sáenz, 2008).

El colesterol, aunque también depende de la alimentación de la gallina, la mayor parte es sintetizada en el hígado del animal, y juega un papel importante en la elaboración de las lipoproteínas. El 84% está presente en forma libre (participa en la estructura de la LDL), mientras que el 16% restante es éster (forma parte del núcleo central de la LDL) (Sáenz, 2008).

Los cerebrósidos son glicoproteínas, compuestos por azúcares (galactosa y sacarosa) esfingosina y una base nitrogenada. La yema de huevo contiene la ovofrenosina (dextrógira) y la ovokerasina (levógira), las cuales se diferencian en sus ácidos grasos (Sáenz, 2008).

Componentes minoritarios de la yema de huevo

Los minerales constituyen el 1% de la yema, siendo el fósforo el mineral más abundante. A continuación, en la Tabla 2, se puede observar la composición detallada en minerales de una yema de huevo.

Tabla 2: Distribución detallada de los minerales en el huevo (adaptado del Instituto de estudios del huevo, 2009).

| Elementos inorgánicos | Yema de huevo (mg/huevo) |
|------------------------|--------------------------|
| Na⁺ | 13 |
| Mg⁺ | 24 |
| P | 110 |
| S | 3 |
| Cl⁻ | 23 |
| K⁺ | 21 |
| Ca²⁺ | 27 |
| Fe³⁺ | 2 |
| Total | 223 |

El color característico de la yema de huevo es debido a la presencia de carotenoides, cuya concentración tiene relevancia económica ya que el color es tomado como criterio de calidad (Antón et al., 2007). El contenido de pigmentos en la yema es de 0,02% del extracto seco y están constituidos por carotenoides (carotenos y xantofilas) y riboflavininas (vitamina B₂) (Sáenz, 2008). Aportan numerosos beneficios a la salud, ya que son, por ejemplo, precursores de la vitamina A y antioxidantes, lo que los hace ser ampliamente utilizados en la industria alimentaria (Delgado-Vargas et al., 2000). Los carotenoides son los responsables del color propio de la yema, pero no pueden ser sintetizados por el metabolismo de las gallinas por lo que la alimentación va a ser su fuente principal (Sáenz, 2008).

2.1.3 Fracciones de la yema

La yema de huevo es un sistema complejo formado por un conjunto de partículas en suspensión y un fluido amarillo claro denominado plasma, con un alto contenido proteico. La estructura compleja y diferente de estas partículas hace posible su fraccionamiento previa dilución. La dilución se realiza para disminuir la viscosidad del fluido y favorecer así la movilidad de las partículas. El resultado son dos fracciones, una correspondiente al sobrenadante, con coloración naranja fuerte y denominada plasma, y un precipitado, de baja coloración denominado fracción granular (Antón et al., 2007). La distribución proteica se podrá observar en la Tabla 3:

Tabla 3: Proteínas de la yema de huevo y su distribución (adaptado de Sáenz, 2008).

| Fracción | Plasma (%) | Gránulos (%) | Peso molecular (kDa) |
|-------------------------------|------------|--------------|-----------------------|
| % Proteínas de la yema | 72 | 22 | - |
| HDL: | | | |
| <i>α-lipoproteínas</i> | - | 41 | 400 |
| <i>B-lipoproteínas</i> | - | 29 | 400 |
| LDL | 87 | 12 | 4800 |
| Fosfovitas | - | 17 | 36 |
| Livetinas | 13 | - | α:80 β:42 γ:180 |

Fracción granular:

Los gránulos representan entre el 19-23% del extracto seco de la yema de huevo, con un contenido aproximadamente del 50% de las proteínas de la yema y un 7% de los lípidos. El contenido de extracto seco de los gránulos es del 44% y contiene en torno a un 64% en proteínas, 31% en lípidos y 5% en ceniza. Los lípidos de la fracción granular están formados por triglicéridos (60%), fosfolípidos (35%) y colesterol (5%). Están constituidos por HDL (70%) y fosvitina (16%) unidos por puentes fosfo-calcio entre los grupos fosfato de sus residuos fosforilados; lo que confiere a los gránulos una estructura compacta, poco hidratada, débilmente accesible a enzimas, resistente a la desnaturalización térmica y la gelación (Antón et al., 2007).

La estructura de los gránulos se debilita cuando se somete a una fuerza iónica por encima de 0,3M de NaCl; ya que el sodio desplaza al calcio de los puentes fosfocálcicos, lo que permite la solubilización de las proteínas (HDL y fosvitinas). Al alcanzar concentraciones de 1,71M de NaCl se pierde la estructura totalmente (Antón et al., 2007). Esta desestructuración de los gránulos permite que tanto las fosvitinas como las HDL actúen como vínculo entre agua y aceite para generar emulsiones (Le Denmat et al., 2000).

Fracción plasmática

El plasma comprende entre el 77 y el 81% del extracto seco de la yema y está compuesto por un 85% de LDL y por un 15% de livetinas, también llamadas proteínas globulares desprovistas de núcleo. Esta fracción es la forma de fase acuosa en donde las partículas de la yema se encuentran en suspensión. Contiene el 90% de los lípidos de la yema, incluidos los carotenoides, y el 50% de las proteínas de la yema. El plasma tiene un contenido de 75% en lípidos, 25% en proteínas y 2% en ceniza. Los lípidos en el plasma están distribuidos de la siguiente manera: 70% triglicéridos, 25% fosfolípidos y 5% colesterol (Antón et al., 2007).

Principales propiedades funcionales y organolépticas del huevo.

El huevo es una compleja asociación de diversos componentes que lo caracterizan de un conjunto de propiedades funcionales, estas propiedades lo hacen un producto apto para su aplicación culinaria e industrial (Sáenz, 2008).

- Capacidad coagulante: propiedad presente tanto en la yema como en la clara. Se produce por la desnaturalización de las proteínas, bajo efecto del calor, pH o agitación. En la clara, las responsables son las ovoalbúminas, que inician su proceso de coagulación a 57°C y lo finalizan a 70°C. En la yema el proceso de coagulación se inicia a 65°C y cesa a 70°C. Las sales aceleran el proceso de coagulación mientras que el azúcar incrementa los intervalos de temperatura.
- Capacidad aglutinante: propiedad presente tanto en la yema como en la clara al tratarse de sistemas coloidales, los cuales son capaces de englobar sustancias añadidas y unir las entre sí.
- Capacidad espumante: la clara posee proteínas (globulinas y lisozimas) capaces de formar espuma. La estabilidad de la espuma se debe a la acción de la ovomucina. Además, la clara posee proteínas termo-coagulables que mantienen la espuma estable durante la cocción. La sal afecta desfavorablemente la formación de espuma, el azúcar la retrasa y ciertos aditivos incrementan su estabilidad.
- Capacidad emulsionante: propiedad propia de la yema. La yema en sí es una emulsión de aceite en una disolución acuosa con sólidos en suspensión. Esta propiedad se debe a la presencia de múltiples proteínas y lipoproteínas, principalmente por efecto de la lecitina.

- Capacidad colorante: el color es aportado por los pigmentos presentes en la yema.
- Capacidad aromatizante: los aromas propios del huevo son aportados por fenoles, pirroles, indoles, pirazinas y sulfuros.
- Capacidad anticristalizante: propiedad causada por la clara, permite trabajar con concentraciones muy elevadas de azúcar.

2.2 Colesterol

El colesterol es un lípido muy importante que se encuentra en sangre y tejidos corporales; forma parte de la yema de huevo así como de otros productos como vísceras, hígado, riñones, mollejas y cerebro. Desempeña funciones muy importantes para el organismo pero, su exceso y acumulación en sangre resulta perjudicial para la salud, provocando enfermedades cardiovasculares.

En primer lugar se va a definir lo que es un lípido. Los lípidos, de forma general, se describen como sustancias relativamente insolubles en agua y que son extraíbles mediante disolventes no polares. Los lípidos complejos del hombre se dividen en dos grandes categorías: lípidos apolares, tales como los triacilglicéridos y los ésteres de colesterol, y los lípidos polares, fosfolípidos y esfingolípidos.

El colesterol es un compuesto acíclico y entre sus propiedades físicas destaca que es un lípido muy poco soluble en agua: a 25°C, el límite de solubilidad es aproximadamente 0,2 mg/100 ml o 4,6 μm . La concentración de colesterol en el plasma de individuos sanos es de 150-200 mg/dl.

La altísima solubilidad de colesterol en la sangre se debe a la presencia de proteínas denominadas lipoproteínas plasmáticas, principalmente LDL y VLDL, que tienen la capacidad de fijar y por tanto de solubilizar grandes cantidades de colesterol.

Solo un 30% aproximadamente del colesterol circulante total se encuentra libre; aproximadamente el 70% del colesterol de las lipoproteínas plasmáticas se encuentra en forma de ésteres de colesterol en los que algún ácido graso de cadena larga, normalmente el ácido linoléico, se halla unido mediante un enlace éster al grupo OH del

carbono 3 del anillo A. La presencia del residuo de ácido graso de cadena larga incrementa la hidrofobicidad del colesterol.

El colesterol puede provenir de la dieta o por síntesis de novo en prácticamente todas las células humanas. Va a jugar varios papeles importantes en el metabolismo de los seres humanos:

- 1) Es el esteroide mayoritario en el hombre y es un componente de todas las superficies celulares y de las membranas intracelulares. Es abundante en las estructuras mielinadas del cerebro y sistema nervioso central, pero está presente en pequeñas cantidades en la membrana interna de la mitocondria. La mayor parte del colesterol de las membranas celulares se encuentra en forma libre no esterificada.
- 2) Es el precursor inmediato de los ácidos biliares que se sintetizan en el hígado y que actúan facilitando la absorción de los triacilglicéridos y vitaminas liposolubles de la dieta.
- 3) Es el precursor de diversas hormonas esteroideas.

Regulación biosíntesis del colesterol.

El pool de colesterol corporal proviene de dos fuentes: adsorción del colesterol de la dieta y biosíntesis de *novo*, principalmente en hígado e intestino.

Cuando se reduce la cantidad de colesterol en la dieta, se incrementa la síntesis de colesterol en el hígado y en el intestino para satisfacer las necesidades de los restantes órganos y tejidos. El colesterol sintetizado de *novo* se transporta desde el hígado e intestino a los tejidos periféricos en forma de lipoproteínas. Estos dos tejidos son los únicos que pueden producir apolipoproteínas B, el componente proteico de las proteínas transportadoras de colesterol LDL y VLDL. La mayor parte de las apolipoproteínas B se secreta a la circulación en forma de VLDL, la cual se convierte en LDL al eliminar los componentes triacilglicéridos y la apoproteína C, probablemente en los tejidos periféricos y en el hígado. Por el contrario, cuando aumenta la cantidad de colesterol de la dieta, se suprime casi totalmente la síntesis de colesterol en el hígado y en el intestino. Así, la velocidad de síntesis de *novo* de colesterol está en relación inversa a la cantidad de colesterol que el cuerpo ingiere por la alimentación.

El punto primario para el control de la biosíntesis de colesterol es la HMG CoA reductasa, enzima que cataliza el paso que da lugar a ácido mevalónico. Es éste el paso regulador y la reacción limitante de la velocidad en la ruta de la biosíntesis del colesterol. El colesterol efectúa una retroinhibición de su propia síntesis inhibiendo la actividad de la HMG CoA reductasa preexistente y también promoviendo la rápida inactivación del enzima.

El colesterol de la dieta, que suprime la actividad HMG CoA reductasa y la síntesis de colesterol, emerge del intestino en forma de quilomicrones.

En un adulto normal sano con una dieta pobre en colesterol se devuelven en el hígado unos 1300mg de colesterol para su eliminación. Este colesterol proviene de:

- Colesterol reabsorbido del intestino mediante la circulación enterohepática.
- HDL que transporta colesterol al hígado desde los tejidos periféricos.

El hígado elimina colesterol de tres maneras:

- Excreción en la bilis en forma de colesterol libre y después conversión a ácidos biliares. (Cada día se pierden 250mg de sales biliares y 550mg de colesterol de la circulación enterohepática).
- Esterificación y almacenamiento en el hígado en forma de ésteres de colesterol.
- Incorporación de lipoproteínas (VLDL y LDL) y secreción en la circulación.

En una dieta pobre en colesterol, el hígado sintetiza unos 800mg de colesterol por día para reemplazar las sales biliares y el colesterol perdidos de la circulación enterohepática por las heces.

El mecanismo de supresión de la síntesis del colesterol por el colesterol ligado a la LDL implica la actuación de receptores específicos de LDL en la superficie de las células humanas. El primer paso del mecanismo regulador implica la fijación de lipoproteína LDL al receptor de LDL extrayéndose así las partículas de LDL de la sangre. La reacción de fijación se caracteriza por su saturabilidad, alta afinidad y alto grado de especificidad. El receptor sólo reconoce LDL y VLDL, las dos lipoproteínas plasmáticas que contienen apolipoproteína B, Una vez que la LDL se fija al receptor de LDL de la superficie celular, la lipoproteína cargada de colesterol sufre la endocitosis en

forma de vesículas denominadas endosomas. Proceso denominado endocitosis mediada por receptor. A continuación se produce la fusión del endosoma con un lisosoma que contiene abundantes enzimas hidrolíticas, como proteasas y colesterolesasa. A la larga, el receptor acaba separándose de la LDL y regresa a la superficie celular. Dentro del lisosoma, el componente éster del colesterol de la LDL es hidrolizado por la colesterolesasa lisosomal produciendo colesterol libre y una molécula de ácido graso de cadena larga. A continuación, el colesterol libre difunde al citoplasma en donde inhibe la actividad de la HMG CoA reductasa microsomal mediante algún mecanismo desconocido y suprime la síntesis del enzima HMG CoA reductasa. Al mismo tiempo, la colesterolesasa (ACAT) microsomal es activada por el colesterol, promoviendo de este modo la formación de ésteres del colesterol. La acumulación de ésteres del colesterol intracelulares inhibe finalmente la reposición de receptores LDL de la superficie celular, fenómeno denominado *down regulation* o regulación por disminución del número de receptores, bloqueando así la captación y acumulación de colesterol por la célula.

En los tejidos especializados como la glándula adrenal y los ovarios, el colesterol proveniente de las LDL actúa como precursor de las hormonas esteroideas, fabricadas por estos órganos, como cortisol y estradiol, respectivamente. En el hígado, el colesterol extraído de las LDL y HDL se convierte en sales biliares que intervienen en la digestión intestinal de las grasas.

El colesterol cuando se encuentra en el plasma está en un estado dinámico, es decir, se introduce en la sangre junto con lipoproteínas que lo mantienen en disolución y lo abandona a medida que los tejidos lo extraen de esas lipoproteínas y las degradan intracelularmente. En las lipoproteínas plasmáticas el colesterol se encuentra de dos formas:

- Colesterol libre.
- Colesterol esterificado por algún ácido graso de cadena larga. Es el caso de entre un 70-75% del colesterol plasmático.

Las HDL y el enzima colesterolesasa (LCAT) desempeñan un papel fundamental en el transporte y eliminación del colesterol del cuerpo. La LCAT, enzima plasmático producido por el hígado y cuyo sustrato real es el colesterol contenido en las

HDL, cataliza la reacción reversible, actúa de vehículo para el transporte de colesterol desde los tejidos periféricos hacia el hígado. El sistema HDL-LCAT protege a las células de los efectos nocivos del colesterol libre en grandes cantidades. Los ésteres de colesterol se generan en la reacción de la LCAT, difunden hacia el núcleo de las partículas de HDL, donde son transportados desde los tejidos y el plasma hacia el hígado, órgano capaz de metabolizar y excretar colesterol (Devlin, T.M. 1991).

2.3 El huevo y la salud

Los huevos son una fuente importante de nutrientes para personas de todas las edades y su inclusión en una dieta variada proporciona indudables ventajas nutricionales y sanitarias (Instituto de estudios del huevo, 2009). Sin embargo, existen buenas razones para que personas con riesgos cardiovasculares no ingieran más de un huevo al día, ya que la ingesta de una yema de huevo excede la cantidad diaria recomendada de colesterol para dichas personas (Spence et al., 2010). Por esta razón, y desde hace unas décadas, se están estudiando nuevas aplicaciones del huevo con las que se consiga mantener sus propiedades nutritivas y a la vez eliminar sus propiedades no beneficiosas para la salud.

2.4 Reología

2.4.1 Conceptos de reología

El término reología fue sugerido en 1929 por Eugene Cook Bingham para definir la rama de la Física que tiene por objeto el estudio de la deformación y flujo de la materia. Sin embargo, el origen de la reología se puede fijar en la segunda mitad del siglo XVII, época en la que Robert Hooke e Isaac Newton dieron a conocer, respectivamente, sus ideas acerca del sólido elástico y del fluido viscoso ideales (Marin et al., 2014).

La reología es la ciencia que estudia los fenómenos de deformación y flujo de los materiales bajo la acción de fuerzas mecánicas. Deformación y flujo son, respectivamente las respuestas dinámicas características de sólidos y fluidos. Concretamente, deformación es el cambio de forma o volumen experimentado por un

cuerpo bajo la acción de un sistema de fuerzas, mientras que flujo se define como la deformación continua en el tiempo (Riera, 2014).

La aplicación de fuerzas externas de intensidad suficiente puede provocar una deformación de la materia, realizándose un trabajo que se acumula como energía interna de deformación. Cuando estas transformaciones son reversibles y las fuerzas externas dejan de actuar, el sistema recupera instantáneamente la forma y dimensiones originales, mientras que la energía acumulada retorna en forma de trabajo. Se habla de comportamiento elástico. En otras ocasiones, la materia también se deforma bajo la acción de las fuerzas aplicadas, pero el trabajo realizado se disipa completamente en forma de calor. Por ello, cuando la acción de dichas fuerzas cesa, el estado de deformación permanece. Se habla entonces de un comportamiento viscoso (Marin et al., 2014).

En función de su comportamiento reológico, los cuerpos se clasifican en:

- Sólidos: Comportamiento elástico. Son idealmente elásticos cuando son sometidos a esfuerzos. En ellos la elasticidad se manifiesta de forma instantánea y la recuperación es inmediata y total, siempre y cuando no se sobrepase el límite de ruptura. Los sólidos elásticos cumplen la ley de Hook, que se expresa:

$$\tau = G * \gamma \cdot$$

Figura 4: Ley de Hook.

Donde τ es el esfuerzo de deformación por cizalla y se expresa por unidad de superficie (F/A), G es el módulo de cizalla y γ es la deformación sufrida por el esfuerzo aplicado (Marin et al., 2014).

- Fluidos: Comportamiento viscoso. Al aplicar un esfuerzo mecánico se produce una deformación, denominada flujo, que permanece cuando cesa el esfuerzo.

Supongamos un líquido contenido entre dos grandes láminas planas y paralelas, separadas entre sí por una distancia pequeña, Figura 6. El sistema está inicialmente en reposo pero en un momento dado, la lámina superior se pone en movimiento a una velocidad constante. Según transcurre el tiempo,

el fluido gana cantidad de movimiento, hasta que alcanza un perfil de velocidades en el estado estacionario. En dicho estado estacionario es necesario aplicar una fuerza constante a la lámina superior para mantener el movimiento y dicha fuerza por unidad de superficie ($F/A=\tau$) está directamente relacionada con la velocidad de la deformación originada en el líquido y con su viscosidad. La viscosidad es una medida de rozamiento interno del fluido, y su valor se obtiene dividiendo el esfuerzo cortante entre la velocidad de deformación, obteniéndose así la Ley de Newton de la Viscosidad: (Marin et al., 2014).

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

Figura 5: Ley de Newton de la viscosidad.

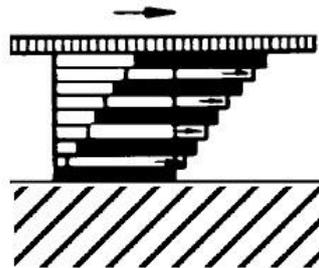


Figura 6: Modelo de flujo entre dos láminas planas y paralelas (adaptado de Schramm, 2000).

- Viscoelástico: Solo unas pocas sustancias acercan su comportamiento a los sólidos o fluidos anteriormente descritos. Sin embargo, la gran mayoría muestran un comportamiento reológico que los clasifica en una región entre los fluidos y los sólidos; poseen una variabilidad que va del comportamiento elástico al viscoso, haciendo que dicho comportamiento se denomine viscoelástico (Schramm, 2000).

La reología es importante en la industria alimentaria ya que permite el desarrollo de nuevos productos, ayuda en las operaciones de procesado (bombeo, extrusión, mezclado homogeneización, recubrimiento, intercambio de calor etc.), control de calidad, así como en la evaluación de las propiedades organolépticas.

2.4.2 Clasificación de los fluidos.

Fluidos newtonianos (N): aquellos fluidos en los que, una vez fijada la temperatura y la composición –si no son fluidos puros- su viscosidad dinámica no cambia aunque lo haga el gradiente de velocidad aplicado, que provoca un esfuerzo cortante en los mismos (Riera, 2014).

Fluidos no newtonianos (NN): aquellos fluidos en los cuales la viscosidad dinámica varía al hacerlo el gradiente de velocidad aplicado o el esfuerzo cortante producido. No cumplen la Ley de Newton de la viscosidad (Riera, 2014). En este caso, la viscosidad que presentan en unas condiciones determinadas se denomina viscosidad aparente y depende, además de su composición, presión y temperatura, del esfuerzo cortante a que es sometido, y /o ha sido sometido en el pasado (Marin et al., 2014).



Figura 7: Clasificación de los fluidos en función de su comportamiento reológico (adaptado Marin et al., 2014).

Los fluidos no newtonianos pueden clasificarse en tres grandes grupos.

- Fluidos NN independientes del tiempo. En ellos se cumple que el esfuerzo cortante producido sólo es función del gradiente de velocidad aplicado. Los hay de varios tipos, Figura 8(Riera, 2014).

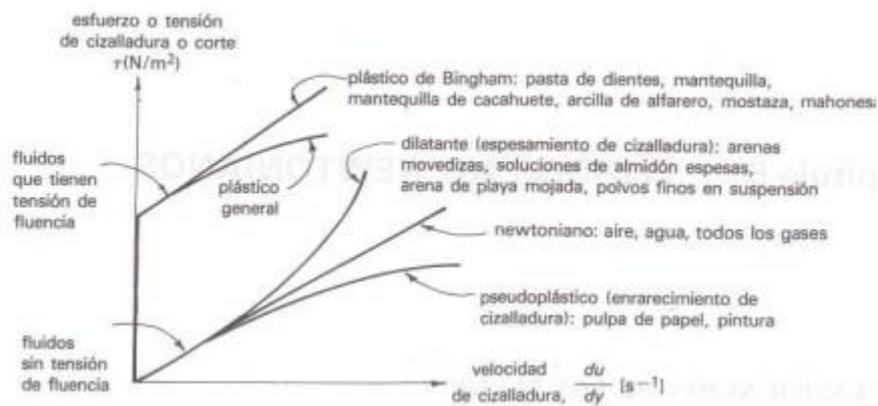


Figura 8: Esfuerzo cortante frente a gradiente de velocidad para fluidos NN independientes del tiempo (adaptado de Riera, 2014).

- Fluidos NN pseudoplásticos. Aquellos en los cuales su viscosidad dinámica aparente disminuye al aumentar el gradiente de velocidad aplicado o el esfuerzo cortante producido.

La ecuación que describe este tipo de fluidos NN es el modelo de Ostwald-de-Waele-Nutting o Ley de la Potencia, que tiene dos parámetros (k) y (n). (Riera, 2014).

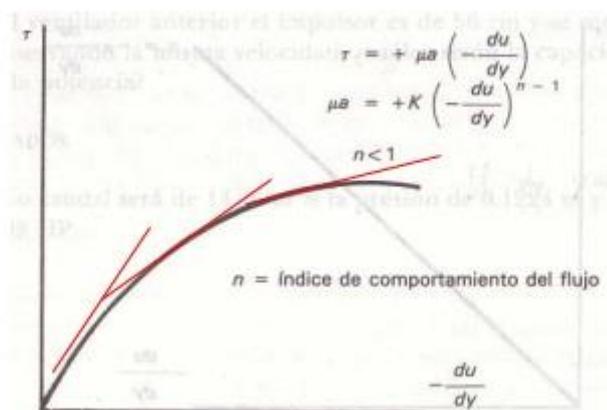


Figura 9: Fluidos NN pseudoplásticos (adaptado de Riera, 2014).

- Fluidos NN dilatantes. Aquellos en los cuales la viscosidad dinámica aparente aumenta cuando aumenta el gradiente de velocidad aplicado o el esfuerzo cortante producido. Cumplen el mismo modelo de Ostwald-de

Waele-Nutting o Ley de la Potencia anterior, pero en ellos ($n > 0,1$) (Riera, 2014).

- Fluidos NN plásticos. Aquellos que necesitan un esfuerzo cortante umbral (τ_0) para empezar a fluir y, cuando lo hacen, porque el esfuerzo cortante aplicado (τ_{rx}) es mayor que (τ_0) el esfuerzo cortante umbral, su perfil de velocidad muestra un núcleo central con velocidad constante (flujo de tapón o de pistón) y una periferia, corona circular alrededor del núcleo central, con velocidad variable en función de la distancia (r). Una vez que reciben ese esfuerzo cortante se comportan, bien como fluidos newtonianos y reciben el nombre de plásticos de Bingham o bien como fluidos pseudoplásticos y reciben el nombre de plásticos reales.

Los fluidos NN plásticos reales presentan, como los plásticos de Bingham, un valor del esfuerzo cortante umbral (τ_0) por debajo del cual no se mueven. Pero se diferencian de los plásticos de Bingham en que, una vez superado este valor umbral del esfuerzo cortante, o sea, cuando $\tau_{rx} \geq \tau_0$, la variación del esfuerzo cortante (τ_{rx}) con el gradiente de velocidad ($-dv_x / dr$) es análoga a la de un fluido NN pseudoplástico.

El modelo reológico más utilizado para describir los fluidos NN plásticos reales es el modelo de Herschel-Bulkley, que es una generalización de los anteriores y, por lo tanto, válido para fluidos N y para todos los fluidos NN independientes del tiempo:

$$\tau_{rx} = \tau_0 + k(-dv_x/dr)^n$$

Figura 10: Modelo de Herschel-Bulkley

Para determinar los parámetros del modelo de Herschel-Bulkley de los fluidos NN plásticos reales (τ_0 , k y n) se representa, en primer lugar (τ_{rx}) vs. ($-dv_x / dr$). Si la representación, para $\tau_{rx} \geq \tau_0$ es una línea recta se tiene un plástico de Bingham y si es curva ese tiene un plástico real (Riera, 2014).

- Fluidos NN dependientes del tiempo: Cuando un fluido NN se somete a un gradiente de velocidad o a un esfuerzo cortante creciente y, luego, decreciente

puede presentar un ciclo de histéresis, es decir, la representación de (τ_{rx}) vs $(-dv_x/dr)$ no coincide al aumentar o disminuir la abscisa $(-dv_x/dr)$ o la ordenada (τ_{rx}) . Los hay de dos tipos:

- Fluidos NN tixotrópicos. Aquellos en los cuales su viscosidad aparente (μ_A) disminuye con el tiempo. Es decir, aquellos en los que las curvas de retorno se encuentran por debajo de las curvas de ida y, por tanto, para un valor de $(-dv_x/dr)$ dado, presentan un menor valor de (τ_{rx}) , ya que su (μ_A) es menor. Pueden ser fluidos NN pseudoplásticos tixotrópicos o dilatantes tixotrópicos.
- Fluidos NN reopéticos. Aquellos en los cuales su viscosidad aparente aumenta con el tiempo. Es decir, aquellos en los que las curvas de retorno se encuentran por encima de las curvas de ida. Estos fluidos, para un valor dado de $(-dv_x/dr)$, presentan un valor de (τ_{rx}) mayor, porque (μ_A) es mayor. Pueden ser pseudoplásticos reopéticos o dilatantes reopéticos. Las figuras 11 y 12 son ejemplos de este tipo de comportamiento.

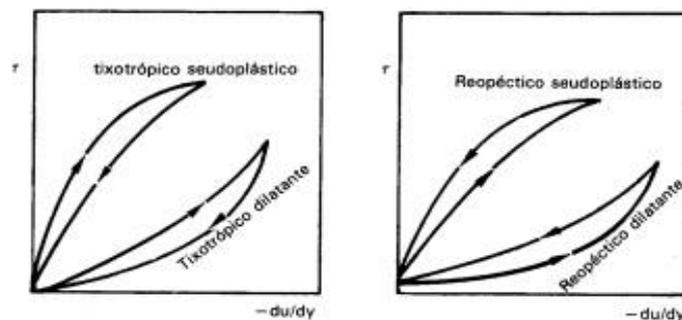


Figura 11: Fluidos NN: Tixotropía y reopexia (adaptado de Riera, 2014).

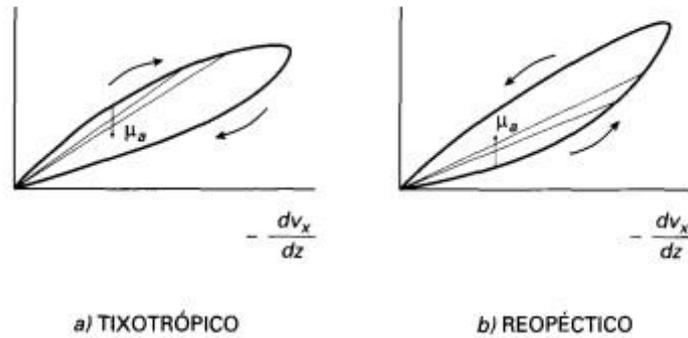


Figura 12: Fluidos NN: Tixotropía y reopexia (adaptado de Riera, 2014).

- Fluidos NN viscoelásticos: En este tipo de fluidos los valores de (τ_{rx}) y de $(-dv_x / dr)$ son independientes del tiempo. Se comportan como si estuviesen formados por dos componentes: Uno de ellos, elástico, absorbe la energía aplicada y la transforma en energía potencial. Cuando cesa la energía externa aplicada se utiliza esta energía potencial para deshacer la deformación y volver al estado inicial. Otro componente, viscoso, absorbe la energía externa aplicada y el fluido fluye, transformando esa energía de forma irreversible en calor.

Si el componente elástico es superior al viscoso se tiene un sólido elástico y, si es al revés, un líquido viscoso. En los fluidos viscoelásticos la energía potencial almacenada por el componente elástico cuando sobre él actúa un esfuerzo cortante se manifiesta como una fuerza normal al plano de cizalladura. Esta fuerza es responsable del efecto Weissenberg que caracteriza el comportamiento de los fluidos viscoelásticos (Riera, 2014).

2.4.3 Determinaciones reométricas

Para hacer determinaciones reométricas que permitan conocer parámetros como la viscosidad se debe someter las muestras a una deformación. La deformación puede tener su origen en esfuerzos por cizalla, por extensión o por compresión, lo que origina distintas técnicas de medida y equipos para realizarlas.

Para las sustancias más complejas se utilizan reómetros rotacionales; aparatos destinados a realizar medidas reproducibles a partir de esfuerzos producidos por desplazamientos rotacionales muy limitados y precisos (Marin et al., 2014).

El sistema de medición de los reómetros rotacionales es de tipo Searle. La placa superior, también llamada rotor, gira un número de revoluciones constante o variable según convenga, mientras que la placa de abajo, también denominada vaso de medición, permanece en reposo. La placa superior al girar hace que la sustancia que se encuentra entre las dos placas comience a fluir. La resistencia del líquido a ser cizallado es proporcional al momento de giro dependiente de la viscosidad, o lo que es lo mismo, la resistencia de la muestra a ser cizalleada permite al rotor solamente girar a una velocidad, denominada velocidad de cizalla, que es inversamente proporcional a la velocidad de la muestra. Entre el motor y el eje de la placa superior está colocado un elemento de medición que registra ese momento de giro –resorte de acero que se torsiona-. La torsión que sufre el resorte es una medida directa de la viscosidad del producto sometido a cizalla (Marin et al., 2014).

Desde el punto de vista del sistema de trabajo, los reómetros rotacionales pueden hacerlo en:

- Modo CR, o modo de velocidad controlada, donde se asigna una velocidad de cizalla y se mide el esfuerzo (par) originado.
- Modo CS, o modo de esfuerzo controlado, donde se mide la velocidad de cizalla a un esfuerzo de cizalla (par deformado) dado.
- Modo CD, o modo de deformación controlada (Marin et al., 2014).

Cuando se realice un ensayo reológico se deben tener en cuenta una serie de aspectos:

- El flujo debe ser laminar, es decir, la velocidad de giro nunca debe ser tan alta como para provocar turbulencias.
- La muestra tiene que ser homogénea para que reaccione de modo uniforme. Debe evitarse la formación de burbujas y sus componentes deben de estar distribuidos homogéneamente para que exista reproducibilidad.
- El esfuerzo aplicado deber ser transmitido desde el plato móvil hacia el interior de la muestra. Cuando la adherencia entre el rotor y la muestra es insuficiente, el rotor gira sin transmitir esfuerzo a la muestra, pudiendo originar resultados

erróneos. Estos fenómenos son conocidos como fenómenos de deslizamiento ('slippage') (Marin et al., 2014).

Los elementos sensores de medida que pueden ser utilizados en este tipo de reómetros son:

- Cilindros coaxiales: Consta de un cilindro externo y otro interno en el que la sustancia se coloca en el espacio libre que dejan. Son utilizados para medir sustancias de baja viscosidad.
- Cono-Placa: Son utilizados para materiales de viscosidad media, fáciles de limpiar y que no tengan partículas en suspensión.
- Placa-Placa: Esta geometría es adecuada para realizar ensayos oscilatorios y para sustancias poco homogéneas (con partículas en suspensión). Una variación de los sensores placa-placa son las placas serradas utilizadas para evitar fenómenos de deslizamiento ('slippage') (Marin et al., 2014).

A continuación se puede observar un esquema, Figura 13, de los diferentes elementos sensores que se pueden utilizar, teniendo en cuenta la viscosidad del producto a analizar. Este esquema va desde un elemento sensor A, utilizado para un producto de baja viscosidad como es el agua, hasta un elemento sensor D, utilizado para un producto de elevada viscosidad, prácticamente rígido como el acero.

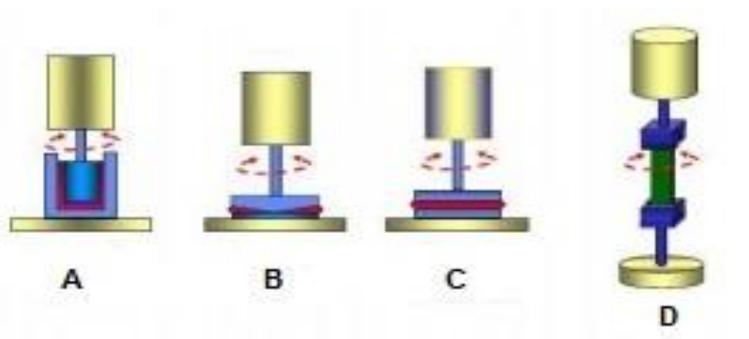


Figura 13: Esquema de los distintos elementos sensores. A. Cilindros coaxiales, B. Cono-placa, C. Placa-placa y D. Torsión rectangular (adaptado de Marin et al., 2014).

2.4.4 Ensayos reométricos

Ensayos estacionarios

Rampa de esfuerzo ($\dot{\tau}$)

- Curva de flujo.

Se denomina curva de flujo a la representación obtenida tras relacionar el esfuerzo de deformación (τ) y la velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$), que determinan el modo de fluir de un líquido.

Para elaborar una curva de flujo se puede trabajar en modo CR o en modo CS.

Si observamos la figura_ podemos ver las diferentes clasificaciones de los comportamientos reológicos que tiene un fluido en base a su curva de flujo (Schramm, 2000).

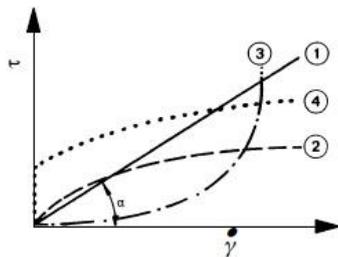


Figura 14: Curva de flujo correspondiente a distintos tipos de fluidos: 1. Fluidos newtonianos, 2. Fluidos pseudoplásticos, 3. Fluidos dilatantes y 4. Fluidos plásticos (adaptado de Schramm, 2000).

- Tixotropía

Describe el comportamiento que sigue una sustancia para pasar de un estado de gel de alta viscosidad a un estado de menor viscosidad como resultado de una fuerza de cizallamiento ejercida sobre dicha sustancia durante un periodo de tiempo. Una característica importante de la tixotropía es que es un proceso reversible, la sustancia vuelve a su estado inicial cuando se deja de ejercer la fuerza (Schramm, 2000).

Ensayos oscilatorios o dinámicos

En estos ensayos se aplica un esfuerzo o una velocidad de deformación de manera oscilatoria sobre a muestra, a una determinada frecuencia. Estos ensayos se utilizan para caracterizar sustancias viscoelásticas. En resumen, los tests oscilatorios aportan información relacionada con la viscosidad y la elasticidad en función de la frecuencia aplicada (Marin et al., 2014).

A continuación se hablará de distintos tipos de ensayos oscilatorios:

- Barrido de esfuerzo.

Aporta la información necesaria para determinar la zona lineal viscoelástica. Por tanto, sería el primer ensayo a realizar para una sustancia cuyo comportamiento reológico es desconocido. En este test, con una frecuencia y una temperatura determinadas, se parte de un esfuerzo inicial que se va incrementando hasta alcanzar un esfuerzo final, ambos valores son prefijados. El rango lineal viscoelástico depende de la frecuencia la que se realice el ensayo.

- Barrido de frecuencias.

Aporta información relacionada con las características estructurales de la sustancia analizada. Este test se realiza a una temperatura determinada aplicando un esfuerzo constante. Se parte de una frecuencia inicial que se va incrementando hasta alcanzar un esfuerzo final, ambos prefijados.

- Rampa de temperatura.

Ensayo muy similar al barrido de tiempo. Se diferencian en que en este caso la temperatura va modificándose de acuerdo a una velocidad predeterminada, siendo la frecuencia y el esfuerzo aplicado constantes (Marin et al., 2014).

2.5 Texturometría

Aunque la reología tenga un papel importante en la aceptabilidad de los alimentos, no cubre todos los aspectos que están incluidos en una definición amplia de textura. Un ejemplo de esto es el proceso de masticación, que no se incluye en reología,

y es durante este proceso donde se perciben las partículas del alimento, la aspereza de la superficie, etc., los cuales son atributos importantes en la sensación de textura. La habilidad del alimento de humedecerse y absorber la saliva, o liberar humedad o grasa son sensaciones importantes, así como los cambios de temperatura que ocurren en la boca y que influyen en la textura de algunos alimentos. Todas estas características no pertenecen al campo de la reología (García Calabuig, 2012).

En este punto es donde entra en juego el campo de la textura que no se encuentra dentro de la reología convencional y que va a definir las propiedades y parámetros texturales.

El estudio de la textura empezó a mediados del siglo XIX y principios del XX donde varios científicos fueron capaces de desarrollar instrumentos simples para ensayar alimentos. Pero no fue hasta 1950 cuando se empezó a considerar la textura como un tema propiamente dicho (Szczesniak, 2002).

La textura es un atributo multivariable, y para poder entenderla es importante definir las propiedades texturales, así como sus magnitudes. Para ello, es necesaria una nomenclatura internacional estándar, que asegure que todas las investigaciones llevadas a cabo en diferentes países se refieren a las mismas propiedades (Bourne, 2002).

Una de las pioneras en el desarrollo de la definición de las propiedades de textura basado en propiedades físicas fue Szczesniak (2002). Szczesniak realizó una definición de los parámetros mecánicos, Tabla 4.

Tabla 4: Definición de los parámetros mecánicos de textura (Szczesniak, 2002).

| | <i>Físicas</i> | <i>Sensoriales</i> |
|--------------------------------|---|--|
| Propiedades Primarias | | |
| Dureza | Fuerza necesaria para alcanzar una deformación dada. | Fuerza requerida para comprimir una sustancia entre los molares (en caso de sólidos) o entre la lengua y el paladar (en caso de semisólidos). |
| Cohesividad | Extensión a la que un material puede ser deformado antes de que rompa. | Grado en que una sustancia es comprimida entre los dientes antes de romper. |
| Viscosidad | Velocidad de flujo por unidad de fuerza | Fuerza requerida para llevar un líquido de la cuchara a la lengua. |
| Elasticidad | Velocidad a la que un material deformado vuelve a su condición inicial después de que la fuerza que causa la deformación es retirada. | Grado en que un producto vuelve a su forma original una vez ha sido comprimido entre los dientes. |
| Adhesividad | Trabajo necesario para superar las fuerzas atractivas entre la superficie del alimento y la superficie de otros materiales con los que el alimento entra en contacto. | Fuerza requerida para eliminar el material que se adhiere a la boca (generalmente al paladar) durante el proceso de comer. |
| Propiedades Secundarias | | |
| Fracturabilidad | Fuerza con la que un material fractura: un producto con una alta dureza y un bajo grado de cohesividad. | Fuerza con la que una muestra se desmigaja, agrieta o se hace pedazos. |
| Masticabilidad | Energía requerida para masticar un alimento sólido hasta el estado adecuado para ser tragado: un producto con dureza, cohesividad y elasticidad. | Periodo de tiempo requerido para masticar el producto, aplicando una fuerza a una velocidad constante, hasta alcanzar una consistencia adecuada para poder tragarlo. |
| Gomosidad | Energía requerida para desintegrar un semisólido a un estado adecuado para ser tragado: producto con un bajo grado de dureza y alto grado de cohesividad. | Consistencia que persiste durante la masticación; energía requerida para desintegrar un semisólido a un estado adecuado para poder tragarlo. |

Uno de los equipos empleados para la caracterización textural de los alimentos es el Analizador de Textura. Este equipo mide tres parámetros: tiempo, fuerza y distancia, pudiendo así evaluarse las distintas propiedades texturales (firmeza, cohesividad, adhesividad, untabilidad, etc.) de un determinado producto en función de la medida de dichos parámetros (Marin et al., 2014).

2.6 Colorimetría

Uno de los métodos colorimétricos de amplio uso en la industria alimentaria para valorar el color de los productos fue el establecido por la *Comisión Internationale de L'Eclairage* (CIE). Este método se basaba en la determinación de valores triestímulo, a partir de los cuales se definía un espacio tridimensional llamado espacio CIE-XY. Los valores se calculaban a partir de la toma y registro de 81 medidas de absorbancia espectrofotométricas de la muestra a analizar, en un espectro de absorción que iba de 380 a 780 nm –incluye todo el rango del espectro visible-, a intervalos de 5 nm, utilizando en los cálculos un observador estandarizado (identificado como CIE 64), de 10 grados de campo visual, y el iluminante D65.

En 1986 la *Comisión Internationale de L'Eclairage* adoptó un nuevo sistema, denominado CIE-LAB, al considerar que este modelo aportaba una medida más objetiva del color ya que define cada color a partir de unas coordenadas denominadas L^* -luminosidad-, a^* y b^* . A su vez, los parámetros C^* -chroma métrico o saturación- y H^* -tonalidad o tono- se calculan a partir de a^* y b^* y, junto con L^* , va a definir las coordenadas de un espacio cilíndrico que contiene los tres atributos psico-físicos básicos del color, que son: luminosidad, saturación y tonalidad. En las Figuras 15y 14se ve como el espacio CIE-LAB queda definido por las coordenadas cromáticas L^* , a^* y b^* , que determinan un espacio tridimensional y uniforme. El eje vertical L^* es una medida de la luminosidad, varía desde completamente opaco (valor 0) a completamente transparente (valor 100). En los círculos de tonalidad, a^* es una medida de la intensidad de color rojo y $-a^*$ es una medida de la intensidad de color verde, b^* mide la intensidad de amarillo y $-b^*$ hace lo propio con el color azul. Muestras con $a^*=b^*=0$ son muestras acromáticas. La tonalidad (H^*) es medida como un ángulo entre 0 y 360°; como 0 y 360° representan el mismo ángulo, si dos muestras llamadas A y B tienen una tonalidad

de 1 y 358 respectivamente, esto significará que la diferencia en el ángulo de la tonalidad es de tan solo 3° , se consideraría por tanto que estas muestras tienen diferencias muy pequeñas en la tonalidad (INTA, 2014).

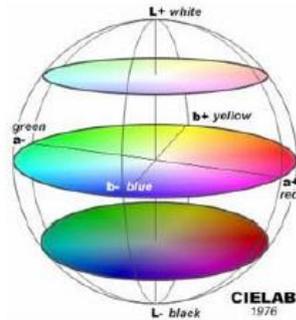


Figura 15: Espacio CIE-LAB (adaptado de INTA, 2014).

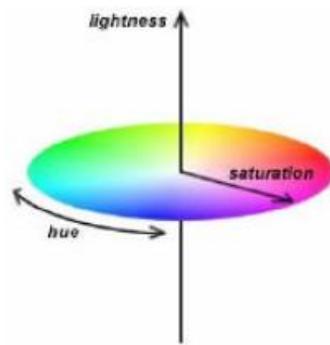


Figura 16: Espacio CIE-LAB (adaptado de INTA, 2014).

Actualmente, el método CIE-LAB resulta el más preciso para la medición del color, y el más útil para caracterizar y diferenciar productos.

Otra ventaja de la utilización del método CIE-LAB es la posibilidad de calcular, a partir de los parámetros L^* , a^* y b^* , la denominada diferencia de color CIE-LAB (ΔE), cuantifica numéricamente la diferencia de percepción de color, para el ojo humano, entre dos muestras de un mismo producto. De acuerdo con la representación tridimensional que posee este sistema, si dos puntos en éste espacio (representados por dos estímulos de color, r y s) son coincidentes, entonces la diferencia cromática entre ambos estímulos es igual a cero. Según se incrementa la distancia entre estos dos puntos es razonable suponer que aumentará la percepción de diferencia cromática entre los estímulos que ambos puntos representan (INTA, 2014).

2.7 Análisis sensorial

El análisis sensorial es definido por la UNE 87-001-94 como el examen de las propiedades organolépticas de un producto realizable con los sentidos. Por su parte, Stone y Sidel, 1993 definen el análisis sensorial como la ciencia utilizada para provocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a determinadas características de los alimentos y materiales, tal y como son percibidos por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído.

Se puede concluir que el análisis sensorial es una disciplina útil para conocer las propiedades organolépticas de los alimentos por medio de los sentidos, permitiendo así el desarrollo de nuevos productos, la realización de estudios de mercado, traduciendo los datos obtenidos en deseos y preferencias de los consumidores, y el control de calidad de materias primas, producto semi-elaborado y producto final.

De forma sencilla se puede explicar que, en un análisis sensorial, el individuo, el cual se denominará panelista, prueba un producto y realiza un juicio, es decir, valora si dicho producto le gusta o no y, a su vez, describe y reconoce sus características: olor, textura, sabor, etc.

Los sentidos en el análisis sensorial

- Vista: permite determinar el aspecto del producto a través de propiedades como el matiz/color, intensidad del color, viveza, claridad, uniformidad/tamaño, forma/consistencia, textura.
- Olfato: evalúa los olores de acuerdo con las moléculas que se volatilizan de la muestra. El sentido del olfato es mucho más sensible que el gusto, aunque cabe decir que la respuesta depende del humor, concentración, salud del panelista.
- Gusto: evalúa los sabores (salado, ácido o agrio, dulce unami y amargo) por medio de las papilas gustativas de la lengua. La respuesta depende de un umbral de concentración y es especialmente sensible al amargor.
- Tacto: evalúa la textura, incluyendo cualidades de frío/calor.
- Oído: evalúan la textura a través del ruido emitido por el alimento al someterlo a esfuerzos.

Caracteres sensoriales de los alimentos

Por medio de los sentidos, anteriormente mencionados, se evalúan los tres caracteres de los alimentos:

- Aspecto.

Su resultado, fundamentalmente el color, tiene gran influencia sobre la evaluación del sabor (*flavour*).

- Textura.

Cualidad compleja que se denomina mediante un gran número de propiedades y términos. Una definición sería el conjunto de propiedades físicas, principalmente mecánicas y geométricas, que se perciben por el tacto (manos y boca), la vista y el oído, este último con un gran peso psicológico en ciertos alimentos.

Existen tres atributos de textura; en primer lugar están los atributos mecánicos, relacionados con el comportamiento del producto ante la deformación, atributos geométricos, relacionados con la forma, el tamaño y la distribución de partículas, y finalmente, atributos de composición, relacionados con la presencia de agua o grasa. En la tabla que aparece a continuación se puede ver un desglose de la clasificación de los atributos de textura, Tabla 5, los cuales se han visto en el apartado de texturometría (apartado 2.5).

Tabla 5: Clasificación de los atributos de textura (adaptado de Díaz, 2014).

| Mecánicos | Geométricos | De Composición |
|-----------------------|---------------|----------------|
| Dureza | Fibrosidad | Humedad |
| Cohesividad | Granulosidad | Grasosidad |
| Elasticidad | Cristalinidad | Sebosidad |
| Adhesividad | Esponjosidad | Aceitosidad |
| Viscosidad | Friabilidad | Resequedad |
| Fragilidad | Hilosidad | Harinosidad |
| Masticabilidad | Tersura | Suculencia |
| Gomosidad | Aspereza | Terrosidad |
| Pegajosidad | | |
| Crujido | | |

En la boca, la textura, se percibe en tres etapas:

- I. Contacto inicial –sin salivar-.
 - II. Corte y masticación.
 - III. Pre-deglución.
- Sabor (*Flavour*)

Se define como la suma del sabor y el olor del alimento, a la vez influenciado por la percepción táctil del olor, calor y frío, percibido a través del gusto, olfato y tacto. Este proceso se lleva a cabo en tres etapas:

- I. Evaluación del olor por la nariz.
- II. Evaluación del sabor (*flavour*) en la boca.
- III. Evaluación del “regusto” tras la deglución.

Según la norma UNE-87-001-94, el grupo de personas seleccionadas para participar en una prueba sensorial se define como jurado o panel. El número mínimo de personas que deben componer el panel varía mucho en función del tipo de prueba que se vaya a realizar. Dentro del jurado o panel podemos definir las siguientes personas:

- Juez; cualquier persona que tome parte de una prueba sensorial.
- Catador; persona seleccionada por su capacidad para llevar a cabo una prueba sensorial, por su persistencia, sensibilidad y gran entrenamiento.
- Experto; persona competente que, por sus conocimientos sobre un producto, es capaz de efectuar individualmente o en grupo, un análisis y valoración sensorial de dicho producto.
- Juez experto; es el catador con un grado elevado de sensibilidad sensorial y experiencia metodológica, capaz de efectuar un juicio fiable de diversos productos por medio del análisis sensorial.
- Juez experto especializado; juez experto que, además tiene experiencia probada como especialista en el producto, en su proceso de fabricación o comercialización (Lawless et al., 1999 y Díaz, 2014).

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Fraccionamiento de yema de huevo

El método de fraccionamiento fue desarrollado por el equipo TBR del Departamento de Ingeniería Química (patente española nº 2310500 B2) de la Universidad de Oviedo.

Se utilizaron huevos de gallina Leghorn, marca “Asturiana de Huevos”. De acuerdo a trabajos anteriores (Laca, 2005) estas gallinas tienen una alimentación a base de pienso (“Gallinas PonExtra” fabricado por Noroeste Ganadero S.A.) y están en régimen de producción intensiva (Sáenz, 2008).

Las yemas de huevo se prepararon a partir de los huevos frescos anteriormente nombrados. La rotura de la cáscara y la separación de la yema de huevo así como la separación de la albúmina se realizaron manualmente. Los residuos de albúmina que permanecen en la yema se eliminaron utilizando papel de filtro, y la retirada de la membrana vitelina se realizó con ayuda de una pinza. A continuación, la yema de huevo se mezcló con agua destilada (1:1.5 v/v) para así diluirla. Seguidamente, se ajustó el pH de la dilución de yema de huevo a 7 mediante la adición de NaOH (1N). Se dejó toda la noche a 4°C. Finalmente, se realizó la centrifugación, centrífuga *modelo 6500 Kubota*, a 4°C y 10.000 x g durante 45 min para separar el plasma (sobrenadante) y la fracción granular (precipitado) (Laca et al., 2010). El proceso se esquematiza en las Figuras 17 y 18.

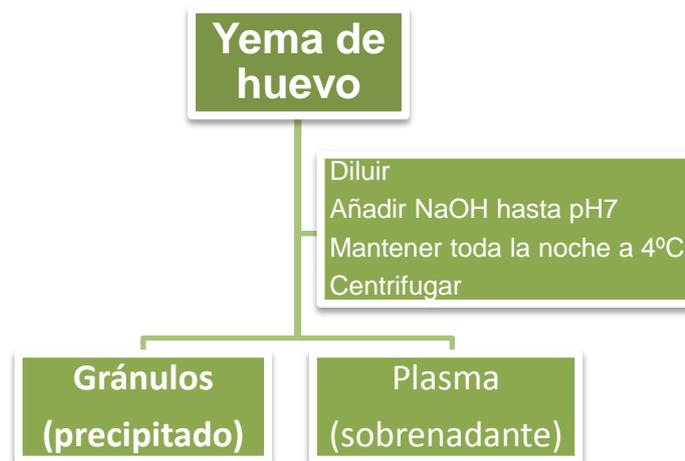


Figura 17: Esquema general del fraccionamiento de yema de huevo.

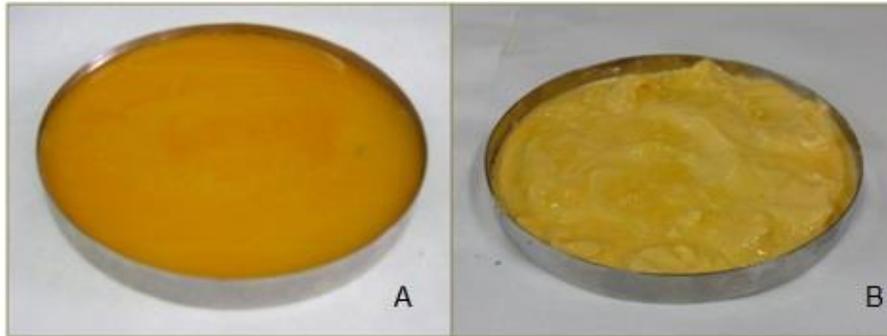


Figura 18: Muestras preparadas para la liofilización. A. Yema de huevo. B. Fracción granular.

3.1.1 Rendimiento del proceso

A partir de una docena de huevos se obtienen 6,5g. de fracción granular liofilizada. Teniendo en cuenta que el peso de una yema de huevo es de aproximadamente 10g., se puede concluir que de cada yema de huevo se obtienen 0,05g. de fracción granular liofilizada. El rendimiento del proceso sería de un 11% (p/p).

A continuación, en la Tabla 6 se muestra la composición de los gránulos comparada con la composición de la yema.

Tabla 6: Composición de la yema natural en comparación con la fracción granular. Se informan los valores medios \pm SD (Laca et al., 2010).

| | <i>Yema</i> | <i>Gránulos</i> |
|---|-------------|-----------------|
| Materia seca (%p/p) | 51 | 41.4 \pm 1.5 |
| Proteínas (%p/p) | 16 | 24.0 \pm 0.9 |
| Lípidos totales (%p/p) | 36 | 16.6 \pm 2.8 |
| Colesterol (mg/100g muestra) | 1260 | 291 \pm 36 |
| pH | 6-6.4 | 6.94 \pm 0.01 |

La fracción granular constituye el 29% (p/p) del extracto inicial seco de yema (Laca et al., 2010). Como se puede ver en la tabla, el dato más relevante corresponde a la cantidad de colesterol, la cual se ve reducida considerablemente, pasando de un

contenido de 1260 mg/100g muestra en la yema a 291 mg/100g muestra en la fracción granular. También se observa que, en la fracción granular, el porcentaje de lípidos se reduce mientras que el porcentaje de proteínas aumenta.

3.2 Liofilización.

Previamente a ser liofilizada, la muestra se congeló a -80°C . Para llevar a cabo este proceso se utilizó un liofilizador *TELSTAR* modelo *Cryodos* (-70°C / 0.1 mBa). Se liofilizaron las muestras correspondientes a la yema de huevo natural y a la fracción granular. Las muestras liofilizadas tienen un extracto seco del 97% (p/p) (Laca et al., 2010). Una vez que se realizó la liofilización, las muestras fueron tamizadas en un tamiz con un tamaño de luz de 2mm y se almacenaron en refrigeración a $\sim 4^{\circ}\text{C}$.

3.3 Formulación del tocinillo de cielo.

En primer lugar se realizó la formulación siguiendo la receta tradicional del tocinillo.

En la Tabla 7 se expone la receta correspondiente al tocinillo de cielo tradicional elaborado con yema de huevo natural liofilizada (TCY).

Tabla 7: Receta tradicional del tocinillo de cielo, realizado con yema de huevo liofilizada.



Para conseguir una receta del tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada (TCGR) se llevaron a cabo diversos ensayos hasta, finalmente, obtener una fórmula que diese lugar a un producto que se asemejase al obtenido al utilizar yema de huevo natural liofilizado.

A continuación, se puede ver una pequeña muestra de los ensayos realizados, Tabla 8. En el Anexo 1 se recoge la lista completa de los diferentes ensayos realizados.

Los diferentes ingredientes y aditivos que se utilizaron para la elaboración de los distintos tocinillos de cielo se pueden observar en la Tabla 9.

Tabla 8: Recetas del tocinillo de cielo con la fracción granular liofilizada.



Recetas-pruebas 1:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 30g.
- Gránulos: 10g.
- T^a-t: 105°C-10'



Recetas-pruebas 3:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 25g.
- Almidón: 5g.
- Gránulos: 10g.
- T^a-t: 105°C-10'



Recetas-pruebas 7:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27,5g.
- Aceite: 3g.
- Almidón: 1g.
- Carragenato: 0,5g.
- Gránulos: 8g.
- T^a-t: 105°C-10'



Receta definitiva:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27,5g.
- Aceite: 2g.
- Almidón: 0,5
- Carragenato: 0,3g.
- Gránulos: 6g.
- T^a-t: 105°C-15'

Modo de elaboración:

Los ingredientes utilizados se fueron añadiendo al mismo tiempo que se iban mezclando. Para realizar dicha mezcla se utilizó un homogeneizador *Silent Crusher M. Heidolph*, Figura 19, a 20.000 rpm durante 5 minutos.

A continuación, se cocinaron en el autoclave, modelo *AES-75* marca *Trade Raypa*, a una temperatura de 105°C durante 15 min. Finalmente, se enfrían en la nevera a 4°C y posteriormente se desmoldean.

Tabla 9: Ingredientes y aditivos utilizados en la elaboración de los tocinillos de cielo.

| Ingredientes/Aditivos | Información nutricional (por 100 g.) |
|--|--|
| Azúcar blanco. ACOR | <ul style="list-style-type: none"> • Valor energético: 400 Kcal. • Proteínas: 0 g. • Hidratos de Carbono: 100 g. • Grasas: 0 g. |
| Aceite refinado de girasol. KOIPESOL | <ul style="list-style-type: none"> • Valor energético: 3700kJ/900Kcal. • Proteínas: 0 g. • Hidratos de Carbono: 0 g., de los cuales: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Azúcares: 0 g. • Grasas: 100 g., de las cuales: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Saturadas: 13 g. ▪ Moniinsaturadas: 27 g. ▪ Poliinsaturadas: 60 g. ▪ Colesterol: 0 mg. • Fibra alimentaria: 0 g. • Sodio: 0 g. • Vitamina E: 72 mg. (92 UI)(720% CDR*) <p>*Cantidad diaria recomendada por la U..E.</p> |
| Fécula de patata. C* Gel 30000 Cargill Texturizing Solutions España S.L | - |
| Grado alimentario Carragenato Carrageenan GPI-200 Lot. No. 1309163 S | - |
| Grado alimentario Carboxymethylcellulose Sodium. Sodium Salt médium viscosity. (RFE, USP, BP, Ph. Eur.) PRS-CODEX. R_nOCH₂COONa. PANREAC QUIMICA S.A | - |
| Grado alimentario Goma Xantana | - |
| Grado alimentario B-Carotenos | - |



Figura 19: Imagen tomada mientras se realizaba la mezcla, con el homogeneizador, de los ingredientes utilizados.

3.4 Caracterización de los tocinillos de cielo.

En la caracterización del tocinillo de cielo se realizaron los siguientes ensayos:

3.4.1 Medidas reológicas.

Como ya se ha indicado anteriormente (apartado 2.7 de Fundamentos Teóricos), para sustancias complejas se utilizan reómetros rotacionales (Marin et al., 2014). En este caso se utilizó el reómetro *HAAKE MARS II*, Figura 20, marca *Thermo scientific* con sistema Peltier de control de temperatura.

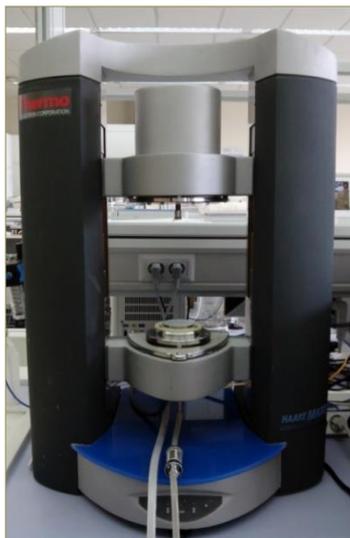


Figura 20: Reómetro HAAKE MARS II

Se realizaron cinco tipos de ensayos diferentes, tanto para el tocinillo de yema de huevo liofilizado como para el tocinillo elaborado con la fracción granular liofilizada. Los resultados se procesaron mediante el *software HAAKE Rheowin 4 Data Manager*.

Las condiciones comunes en todos los ensayos fueron las siguientes:

- Para la realización de todos los ensayos se empleó un sensor placa-placa de titanio, de 60mm de diámetro (PP60).
- Tiempo de reposo en el reómetro de 15 minutos, previo a cualquier ensayo.
- Ranura entre platos de 1mm.
- Temperatura de ensayo de 20°C, (a excepción de la rampa de temperatura).
- Uso de aceite de silicona y campana de vidrio en el ensayo de la rampa de temperatura.

Es importante tener en cuenta que, para obtener resultados reométricos absolutos, es necesario trabajar siempre dentro de la zona lineal de viscoelasticidad para una determinada sustancia. La zona lineal de viscoelasticidad es la zona en la que el esfuerzo aplicado es directamente proporcional a la deformación originada, de modo que, al doblar el valor del esfuerzo aplicado sobre la muestra, como respuesta se doblaría el valor de la deformación. Si no se trabaja dentro de esta zona lineal, los resultados para distintas muestras obtenidas en las mismas condiciones serían comparables entre sí, pero en ningún caso se podrían considerar resultados absolutos (Marin et al., 2014).

Los ensayos que se realizaron fueron los siguientes:

- Ensayos estacionarios
 - Curva de flujo. Se realizó una curva de flujo ascendente en modo CS, aplicando un esfuerzo de 0,01 Pa a 100 Pa en 100 s, se mantuvo 60 s

y, finalmente, se realizó una curva descendente de 100 Pa a 0,01 Pa en 100 s.

- La tixotropía se midió como el área de histéresis de la curva de flujo.
- Ensayos oscilatorios o dinámicos
 - Barrido de deformación. Se realizó una rampa de deformación en modo CD de 0,0001% a 100% a 1 Hz de frecuencia, con una distribución logarítmica. Se midieron los módulos G' y G'' . La toma de datos fue de 50 puntos.
 - Barrido de frecuencia. Se realizó una rampa inversa de frecuencia de 10 a 1 Hz y con una deformación constante de 0,1%, en modo CD. Se midieron los módulos G' y G'' .
 - Rampa de temperatura. Se aplicaron unos parámetros constantes de un 1% de esfuerzo y una frecuencia de 1 Hz y se midieron los módulos G' y G'' . Se realizó una rampa de 20°C a 90°C a 3°C/min, se estabilizó a 90°C durante 5 min, disminuyó de 90°C a 20°C a 3°C/min y finalmente se mantuvo a 5°C durante 5 min.

3.4.2 Medidas colorimétricas

El análisis se realizó a un tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada y a un tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada, en ambos casos se realizó el análisis a la emulsión previamente coagulada y al producto final. Los análisis se realizaron por duplicado.

El equipo empleado fue un espectrofotómetro *UltraScan VIS (HunterLab)*, Figura 21, que se calibró utilizando una teja blanca y una trampa de luz comprobándose su correcta calibración utilizando como referencia una teja verde. En la medición se emplea una cubeta de cuarzo de 10 mm de paso de luz (*USVIS1034*). Los análisis se realizaron en reflectancia con el método de reflexión especular excluida, este método incluye los efectos de brillo y textura, de manera que la evaluación del color es más similar a la percepción del ojo humano (Wei et al., 2012).



Figura 21: Espectrofotómetro UltraScan VIS (HunterLab)

El color de las muestras se determina en el espacio de color CIE-LAB (L^* , a^* , b^*), donde los tres parámetros representan la luminosidad de color (L^* , $L^*=0$ indica negro y $L^*=100$ indica blanco), su posición entre rojo y verde (a^* , valores negativos indican verde, mientras valores positivos indican rojo) y su posición entre amarillo y azul (b^* , valores negativos indican azul y valores positivos indican amarillo) (Wei et al., 2012).

Los cambios de color se expresan como ΔE , o diferencia de color CIE-LAB (Figura 21), teniendo como referencia el color de las fracciones frescas. ΔE hace referencia al cambio de color debido al proceso de liofilización (Laca et al., 2010).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Figura 22: Diferencia de color CIE-LAB.

3.4.3 Perfil textural

El equipo empleado fue un texturómetro *TA.XTplus Texture Analyser (Stable Micro Systems)*, Figura 23. Este analizador está formado por una base y un brazo. Las muestras de los productos que se quieren analizar se colocan, según se requiera, sobre la misma base, en algún accesorio determinado, o bien sujetas entre dos accesorios, los cuales estarán incluidos en los juegos de ensayo. El brazo incorpora la célula de carga,

se mueve hacia abajo y hacia arriba para comprimir, penetrar, cortar, doblar, etc., la muestra y después retornar a la posición inicial indicada (García Calabuig, 2012).

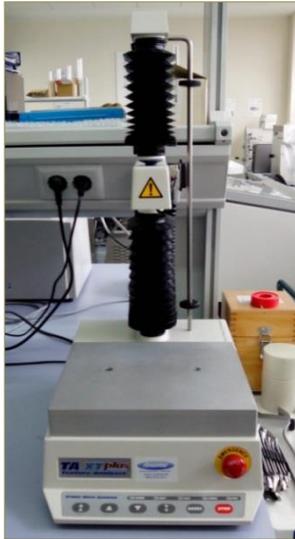


Figura 23: Texturómetro TA.XTplus Texture Analyser (Stable Micro Systems).

Existen multitud de sondas y accesorios, los cuales se eligen en función de las características del producto que se quiere analizar así como de las propiedades o parámetros que sean de interés. En este caso, la sonda que se utilizó para realizar los ensayos fue la sonda P/0.55, Figura 24.



Figura 24: Sonda P/0.55

Se realizó un ensayo de penetración con zona y se midió la fuerza de contacto.

Una vez que se realizaron los análisis en el texturómetro, se obtuvo una gráfica como la que se expone a continuación a modo de ejemplo, donde se pueden determinar los parámetros correspondientes a la firmeza (resistencia a la deformación) y la

pegajosidad (resistencia a la modificación de la estructura), Figura 25 (Marin et al., 2014).

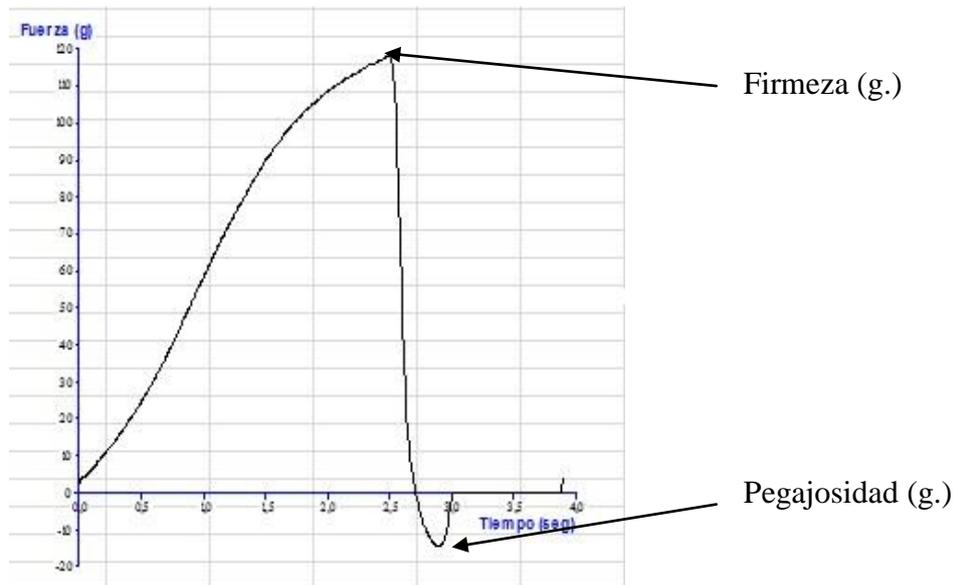


Figura 25: Gráfica obtenida tras el ensayo de penetración realizado con el texturómetro.

3.4.4 Microscopía

Microscopio óptico.

En el microscopio óptico se llevó a cabo la observación de las emulsiones de tocinitos de cielo, elaboradas tanto con yema de huevo natural liofilizada como con la fracción granular liofilizada. Para las fotografías realizadas se utilizó un microscopio óptico automatizado con platina motorizada *Prior*, microscopio *Olympus BX61*.

Microscopio electrónico de barrido (SEM).

En el microscopio electrónico de barrido se llevó a cabo la observación del producto final, tanto del producto elaborado con yema de huevo natural liofilizada como del elaborado con la fracción granular liofilizada. Se realizó mediante el método adaptado de Egelendstal et al., 2001:

1. Preparar las muestras.
 - a. Tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada.

- b. Tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.
2. Fijar en glutaraldehído (3%) en tampón fosfato 0.025M (pH = 7) durante una noche.
3. Cambiar el tampón varias veces (lavar) con una duración de 15 minutos cada lavado. 3 lavados en total.
4. Deshidratar en etanol. Previamente se debe lavar 3 veces con tampón fosfato.
 - Etanol al 20% durante 15 minutos
 - Etanol al 40% durante 15 minutos
 - Etanol al 60% durante 15 minutos
 - Etanol al 80% durante 15 minutos
 - Etanol al 100% durante 15 minutos
 - Etanol al 100% durante 15 minutos
5. Sustituir por acetona.
 - Acetona al 30% en etanol durante 10 minutos
 - Acetona al 50% en etanol durante 10 minutos
 - Acetona al 70% en etanol durante 10 minutos
 - Acetona al 90% en etanol durante 10 minutos
 - Acetona al 100% en etanol durante 10 minutos
 - Acetona al 100% en etanol durante 10 minutos
6. Secar por CO₂ crítico. El punto crítico con CO₂ se obtuvo mediante *BALTEC CPD 030 Critical Point Dryer*.
7. Cortar las muestras y colocar las mismas en las setas.
8. Recubrir de oro.
9. Observar al microscopio electrónico de barrido.

3.4.5 Recuento total.

Se realizó un análisis de presencia/ausencia de patógenos por métodos clásicos. En primer lugar se elaboraron los tocinillos de cielo, tanto de yema de huevo natural liofilizada como de fracción granular liofilizada, un día antes de la realización del análisis, como fueron descritos anteriormente, y conservados a 4°C de temperatura.

El medio de cultivo utilizado se denomina *Nutrient Agar de Biokar Diagnostic*, cuyas características son las siguientes (Biokar-Diagnostics, 2014):

- Composición (para 1 L. de medio):
 - Triptona. 10g.
 - Extracto de carne. 5g.
 - Cloruro de sodio 5g.

- Preparación:
 - Disolver 20 g. de medio deshidratado en 1 L. de agua destilada.
 - Revolver lentamente hasta su total disolución.
 - Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Se partió de 1 gr. de producto final y se homogeneizó con 9 ml de agua destilada, la homogeneización se llevó a cabo en un equipo *Stomacher 80 Seward Laborsystem* y se realizaron diluciones 10^{-2} y 10^{-3} . Posteriormente, las placas se incubaron en la estufa a 30°C durante 48 horas. Tras este periodo de tiempo se llevó a cabo su recuento.

3.4.6 Evaluación organoléptica.

Los tocinillos de cielo se sometieron a una evaluación organoléptica siguiendo la serie de normas UNE correspondientes: 87-001 (vocabulario), 87-004 (salas de cata), 87-008 (guía metodológica), 87-006-92 (prueba triangular), 87-025 (perfil de textura), 87-026 (evaluación del color), etc.

Los objetivos fundamentales de la evaluación organoléptica fueron los siguientes:

- Determinar si el producto con gránulos es distinguible del producto con yema de huevo.
- Cuál de los dos productos es el preferible por el panel.

Con estos dos objetivos, lo indicado fue realizar una prueba discriminatoria seguida de una prueba afectiva (hedónica). Ambas tienen la ventaja de que requieren muy escaso entrenamiento en los miembros del panel, característica importante ya que los miembros del panel se seleccionaron entre los alumnos del máster.

- Prueba de comparación pareada.

Se dieron dos muestras A (TCY) y B (TCGR) y se tuvo que decir cuál era la más dura, más dulce, más coloreada y más pegajosa. Las dos muestras se presentaron simultáneamente al panelista.

En este método la probabilidad de hipótesis nula vale 0,5, esto ocurre cuando la mitad de los panelistas eligen una muestra y la otra mitad la otra. En tal caso $H_0: P_A = P_B = 1/2$.

- Prueba afectiva (hedónica).

En este caso se dieron tres muestras a los panelistas: A (TCY), B (TCGR) y C (TCGR + β -carotenos). Consiste en ver si el catador prefiere un producto u otro, para ello se tuvieron en cuenta los siguientes atributos: aspecto, textura y sabor (*flavour*). Esta es una escala creada por el US ARMY en 1948 (Lawless et al., 1999).

Se realizó el test de aceptación en el cual los panelistas van a puntuar entre 1 y 9 los atributos elegidos y mencionados anteriormente.

El día anterior a la realización de la cata se prepararon un total de 10 tocinillos de cielo. Se conservaron en refrigeración a $\sim 4^\circ\text{C}$ de temperatura.

- 4 TCY
- 4 TCGR
- 2 TCGR + β -carotenos (0,006g. / tocinillo)

El panel estuvo compuesto por un total de 8 sujetos sanos de edades comprendidas entre 20 y 25 años, sin ningún déficit sensorial y ninguno de ellos tomaba medicación alguna. Los sujetos fueron seleccionados entre los alumnos del máster en Biotecnología Alimentaria. El panel fue debidamente instruido sobre la metodología a utilizar en la valoración organoléptica de los atributos, (procedimientos básicos de degustación que incluyen tiempos de muestreo, enjuagues bucales, los intervalos de tiempo entre las muestras, y la presentación de los datos en la hoja de puntuación) y la forma de evitar los factores fisiológicos y ambientales que podrían condicionar los resultados. Así mismo, los panelistas recibieron una ficha (Anexo 2) para la prueba. El test se llevó a cabo en una sala cercana a los laboratorios, con luz artificial y a primera hora de la tarde, con una temperatura en torno a los 20°C y un 80% de humedad (Laca et al., 2010).

Las muestras se presentaron en bandejas numeradas pero sin ningún tipo de marca o etiqueta como se puede observar en la Figura 26.



Figura 26: Bandeja con las muestras ofrecidas a los panelistas.

Los datos que se obtuvieron tras la evaluación organoléptica fueron evaluados mediante la ejecución de un análisis de varianza (ANOVA). Con la realización de este test se va a determinar si existen diferencias significativas entre los distintos productos a un nivel de confianza del test del 95%. Para la realización de estos análisis se utilizó el software *STATGRAPHICS plus para Windows 3.0* © Package (Statistical Graphics, Washington, USA).

4. *RESULTADOS*

4.1 Tocinillo de cielo

Tras las numerosas formulaciones realizadas con la fracción granular liofilizada se consiguió obtener un producto final con unas características semejantes al tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada, la diferencia de color se resuelve añadiendo β -carotenos al tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada. En la Figura 27 podemos observar una imagen que compara ambos productos.

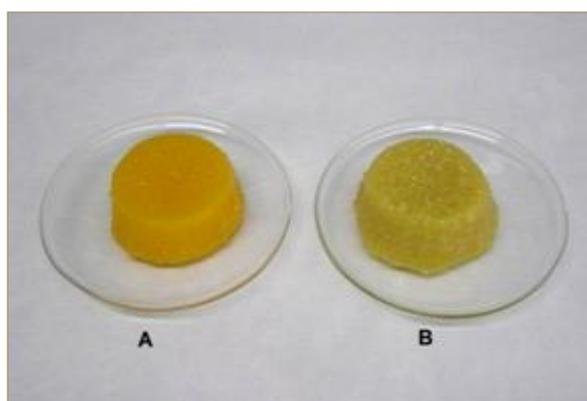


Figura 27: A. Tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada. B. Tocinillo de cielo elaborado con fracción granular liofilizada.

Tabla 10: Valor energético y contenido nutricional del tocinillo del cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada y del tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.

| Composición Nutricional y Valor Energético en 100g. | | |
|--|----------------------|--------------------|
| | TCY | TCGR |
| Proteínas (g.) | 5,6 | 6,5 |
| Carbohidratos (g.) | 52,6 | 53,1 |
| Lípidos (g.) | 12,5 | 8,3 |
| Valor energético (kcal/kJ) | 345,1 kcal/1442,5 kJ | 313,1kcal/1308,8kJ |

En la Tabla 10 se pueden ver los valores energéticos, así como la composición nutricional, tanto del tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada como del tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada. A partir de estos datos se puede determinar que el tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada tiene menos valor energético que el elaborado con la yema natural

lío filizada. Así mismo, el contenido de colesterol también se ve reducido: un tocini llo de cielo elaborado con yema de huevo natural lío filizada tiene, por ración, 0,25g. de colesterol, mientras que un tocini llo de cielo elaborado con la fracción granular lío filizada posee 0,04g. de colesterol por ración, se reduce casi a la sexta parte el colesterol en 100g. y, además, el que se mantiene es considerado como colesterol “bueno” al corresponderse al ligado a las lipoproteínas de alta densidad (Sáenz, 2008).

Si se compara el tocini llo de cielo elaborado con la fracción granular lío filizada con tocini llos de cielo comerciales, Tabla 11, los cuales se pueden encontrar en el supermercado diariamente, se puede ver como el tocini llo de cielo elaborado en este trabajo contiene menos calorías.

Tabla 11: Comparativa entre el TCGR y tocini llos de cielo (TC) comerciales.

| Producto-Marca | Valor energético por ración (Kcal/kJ) |
|-------------------------|--|
| <i>TCGR</i> | 166,8 kcal/697,2kJ |
| <i>TC ANDROS (DHUL)</i> | 266 kcal/1123kJ |
| <i>TC Dulcedegrado</i> | 302 kcal/1262kJ |

4.2 Propiedades físicas y físico-químicas del tocini llo de cielo.

4.2.1 Reología

Los ensayos reológicos realizados aportan información acerca del tipo de fluido que es la masa sin coagular, así como las diferencias entre el producto elaborado con yema de huevo natural lío filizada y el producto elaborado con la fracción granular lío filizada.

Ensayos estacionarios:

- Curva de flujo

En las Figuras 28 y 29, se puede observar que con las mismas condiciones de análisis, el tocini llo de cielo elaborado con la fracción granular lío filizada alcanza mayor velocidad de deformación, superando los 150 s^{-1} , muestra menor resistencia al

flujo. El tocinillo de cielo elaborado con yema natural liofilizada posee valores de viscosidad superiores, prácticamente el doble, que los obtenidos para el tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.

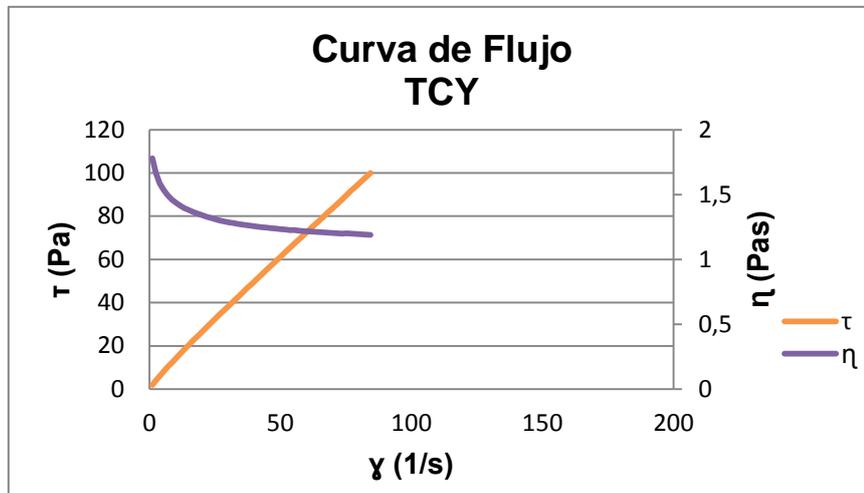


Figura 28: Curva de flujo correspondiente al tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada.

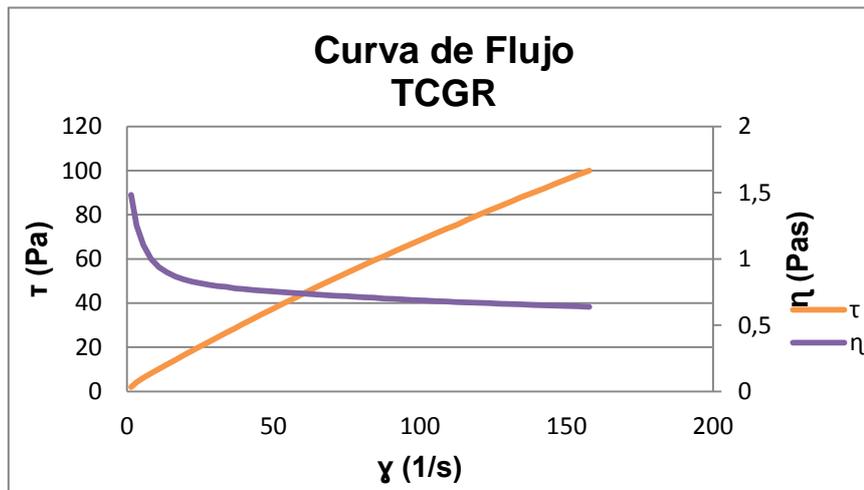


Figura 29: Curva de flujo correspondiente al tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.

- Tabla de ajustes

Modelo Herschel- Bukley: $\tau = \tau_0 + k\gamma^{on}$

Tabla 12: Datos obtenidos tras la realización del modelo de ajuste Herschel-Buckley.

| Modelo Herschel-Buckley | τ_0 | K | n | r^2 |
|--------------------------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| TCY | 0,63±0,34 | 1,59±0,34 | 0,93±0,03 | 1,00±0,00 |
| TCGR | -0,21±0,46 | 1,36±0,02 | 0,85±0,02 | 0,99±0,00 |

Al analizar los datos obtenidos tras realizar el modelo de ajuste matemático de Herschel-Buckley, el cual tiene un ajuste muy bueno ya que r^2 es 1,00 y $\sim 1,00$ para ambos casos, se puede concluir que las dos muestras fluyen fácilmente, aunque los límites de fluidez (τ_0) son más bajos para el tocino de cielo elaborado con la fracción granular, teniendo valores $\tau_0 = -0,21$, esto es debido a la diferente composición de ambos productos, que hace que su estructura sea distinta. La constante de consistencia (k) es ligeramente mayor en el caso del tocino de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada. A partir de estos datos también se puede concluir que el tocino de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada tiene un comportamiento ligeramente pseudoplástico, es más newtoniano, mientras que el tocino de cielo elaborado con la fracción granular tiene un comportamiento pseudoplástico mayor.

○ Tixotropía

La tixotropía es un comportamiento que depende de la naturaleza de las emulsiones, así como de la presencia de texturizantes y de otros aditivos (Sáenz, 2008).

Tabla 13: Valores de tixotropía (Pa/s) para los tocinos de cielo elaborados con yema natural y con la fracción granular.

| Valores de tixotropía (Pa/s) | |
|-------------------------------------|---------|
| TCY | 625±107 |
| TCGR | 900±33 |

Como se puede observar en la Tabla 13, el valor de tixotropía obtenido para el tocino de cielo elaborado con la fracción granular es superior al obtenido en el ensayo realizado al tocino de cielo elaborado con la yema natural. Teniendo en cuenta que el carragenato es un polisacárido con un elevado peso molecular, ~ 800 kDa, este aumento del valor de tixotropía se podría explicar como resultado de la aparición de inclusiones

de proteínas de la fracción granular entre las moléculas de carragenato dando lugar a un aumento de la viscosidad (Lizarraga, M.S et al., 2006).

Ensayos oscilatorios o dinámicos:

- Barrido de deformación

Se realizaron barridos de deformación (o de esfuerzo) a fin de determinar el rango viscoelástico lineal de los productos ensayados, cuyos resultados nos indicaron que los demás ensayos viscoelásticos deberían realizarse dentro del rango 0,001 y 1%.

- Barrido de frecuencia

En las figuras 30 y 31 se observa el predominio del componente viscoso, módulos G'' superiores a los módulos G' , tanto en el tocino de cielo elaborado con yema de huevo natural como en el tocino de cielo elaborado con la fracción granular. Esto resulta lógico porque el producto no está coagulado. En el caso del tocino de cielo elaborado con yema de huevo natural el componente viscoso está cercano a los valores de 100Pa, sin embargo, en el caso del tocino de cielo elaborado con la fracción granular, este valor sobrepasa los 100Pa, tiene un mayor componente de viscosidad, lo que también resulta lógico al tener como ingredientes almidón y carragenato, hidrocoloides que utilizados en la industria alimentaria como agentes estabilizadores y gelificantes (Wang et al., 2015).

Del comportamiento frente a los cambios de frecuencia se puede indicar que, a medida que la frecuencia se incrementa los dos módulos también tienden a incrementarse.

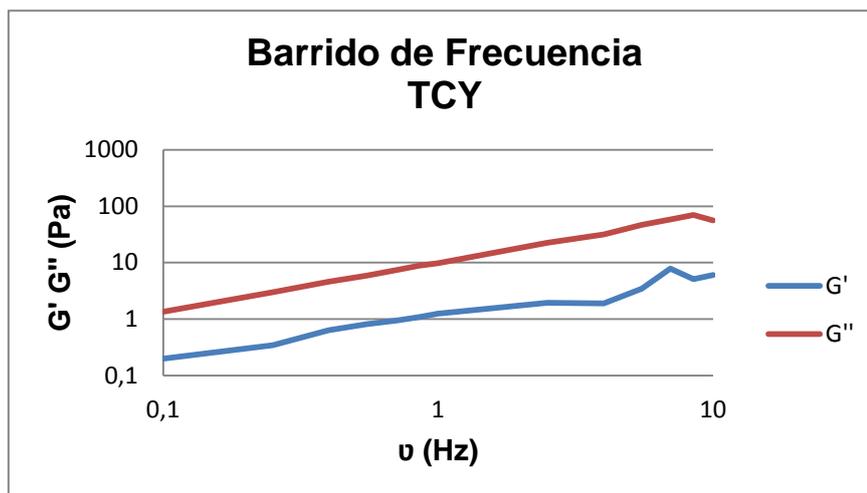


Figura 30: Barrido de frecuencia del tocinillo de cielo elaborado con la yema de huevo natural liofilizada.

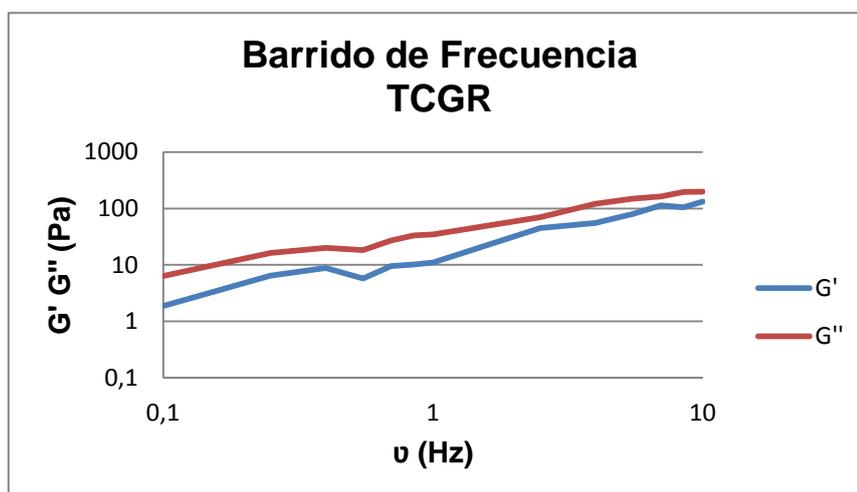


Figura 31: Barrido de frecuencia correspondiente al tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.

- Rampa de temperatura

En las Figuras 32 y 33 se puede observar que la reacción de coagulación de la masa tiene lugar cuando se produce el aumento de la temperatura, que va de 20°C a 90°C; en el caso del tocinillo de cielo elaborado con yema la coagulación tiene lugar a una temperatura de 89,69°C mientras que para el tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular la coagulación tiene lugar mucho antes, cuando se alcanza una temperatura de 38,61°C. Esta diferencia de temperatura para el punto de coagulación se explica porque el almidón tiene su punto de coagulación se encuentra en torno a los 35

°C (Kaur et al., 2007). Así mismo, durante el periodo de calentamiento y los posteriores segundos en los que la temperatura se estabilizó en 90°C, los valores de los módulos G' y G'' son bajos. Sin embargo, una vez que las emulsiones comienzan a enfriarse dichos módulos también comenzarán a aumentar hasta que, una vez que enfrían del todo, a 5°C, se estabilizan en valores cercanos a 10^5 Pa para ambos casos.

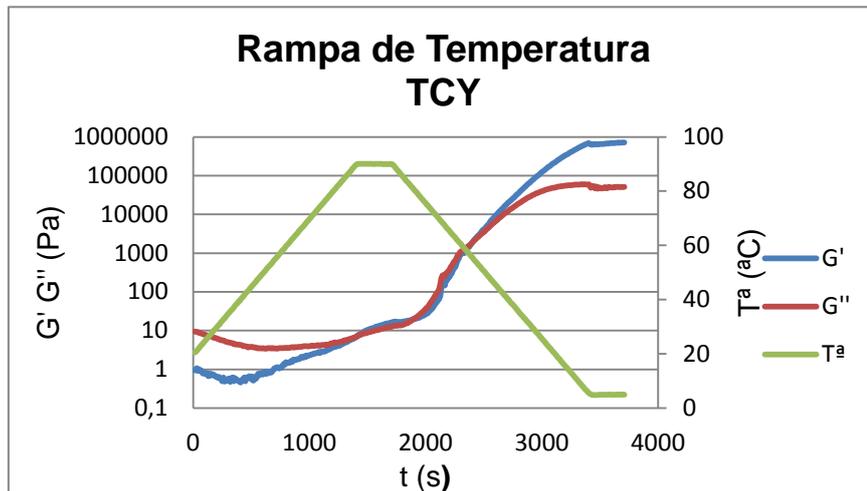


Figura 32: Rampa de temperatura correspondiente al tocinillo de cielo elaborado con yema natural liofilizada.

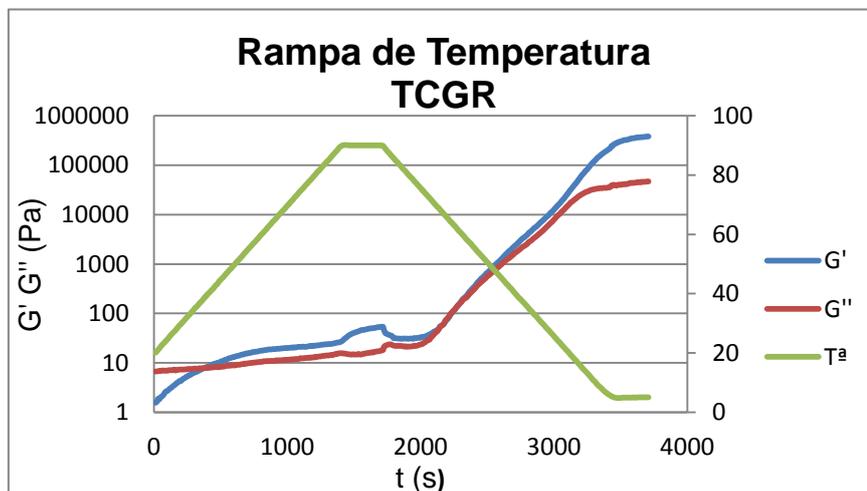


Figura 33: Rampa de temperatura correspondiente al tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.

4.2.2 Colorímetro

Los parámetros de color (L^* , a^* y b^*) del tociniillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada fueron evaluados y comparados con los parámetros correspondientes a los del tociniillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada. Esta evaluación se realizó tanto de la emulsión como del producto final, Tabla 14.

Tabla 14: Resultados obtenidos tras el análisis colorimétrico.

| | | L^* | b^* | a^* |
|-------------|----------------|----------|----------|----------|
| TCY | Emulsión | 70,0±0,8 | 13,4±0,2 | 44,1±1,3 |
| | Producto final | 53,4±1,2 | 14,2±0,9 | 49,5±2,6 |
| | ΔE | 17,5 | | |
| TCGR | Emulsión | 69,6±0,0 | 8,5±0,2 | 37,4±1,0 |
| | Producto final | 63,8±8,2 | 5,7±1,3 | 35,3±3,0 |
| | ΔE | 6,8 | | |

En la Tabla 14 se observan las diferencias de color entre los dos tociniillos, tanto en la emulsión como en el producto final. Las emulsiones de tociniillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada y de tociniillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada presentan un mismo parámetro de L^* , que hace referencia a la luminosidad, mientras que si se comparan los productos finales, L^* es inferior en el tociniillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada que en el tociniillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada. Si se habla del parámetro b^* , el cual hace referencia a la posición del color entre rojo y verde, tanto la emulsión como el producto final del tociniillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada presentan unos valores similares mientras que los valores correspondientes al tociniillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada son diferentes, más bajos que en el caso del tociniillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada y varían de la emulsión al producto final, siendo en este último más bajos. Finalmente, el parámetro b^* , que hace referencia a la posición del color entre el amarillo y el azul, el valor más elevado se encuentra en el producto final del tociniillo de cielo elaborado con

yema de huevo natural liofilizada mientras que el valor más bajo se observa, por el contrario, en el producto final del tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.

El valor de ΔE , el cual hace referencia al cambio de color debido al proceso de cocción, es muy distinto para ambos productos, teniendo un valor de 6,8 para el tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada y siendo superior al doble para el tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada. Lo que indica que el tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada se ve más afectado por el proceso que el tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada.

Estos resultados son debidos a que el color de la yema de huevo se atribuye a los carotenoides, presentes en la grasa soluble (xantofilas; incluyendo luteína, zeaxantina, β -criptoxantina y en menor cantidad β -carotenos), pero estos pigmentos se encuentran en menor cantidad en la fracción granular del huevo (Laca et al., 2010), lo cual hace que los tocinillos de cielo elaborados con la fracción granular tengan valores menores para los parámetros a^* y b^* de color.

Por tanto, la elaboración de tocinillos de cielo con la fracción granular liofilizada con fines comerciales precisará el uso de colorantes, como por ejemplo el utilizado para la evaluación organoléptica (apartado 3.4.6).

4.2.3 Texturómetro

Los datos obtenidos a partir del ensayo fueron los que se observan en la Tabla 15.

Tabla 15: Parámetros mecánicos obtenidos del análisis de textura.

| | <i>Firmeza (g.)</i> | <i>Pegajosidad (g.)</i> |
|-------------|---------------------|-------------------------|
| <i>TCY</i> | 79,9±0,9 | -10,9±7,1 |
| <i>TCGR</i> | 134,0±21,8 | -19,3±6,6 |

En base a los parámetros obtenidos tras la realización del ensayo textural se puede observar que la dureza en el caso del tocinillo de cielo elaborado con fracción granular liofilizada es, aproximadamente, dos veces superior a la obtenida en el caso del tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada, esto es debido a que

los diferentes ingredientes que forman parte del tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada, que establecen una red más compacta. Cuando observamos la pegajosidad se puede ver que no existe una gran variabilidad entre ambos productos, aunque es ligeramente superior en el caso del tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada.

4.2.4 Microscopía

Se exponen a continuación las distintas imágenes obtenidas:

Microscopio óptico



Figura 34: Emulsión de TCY. Aumento a 100x.

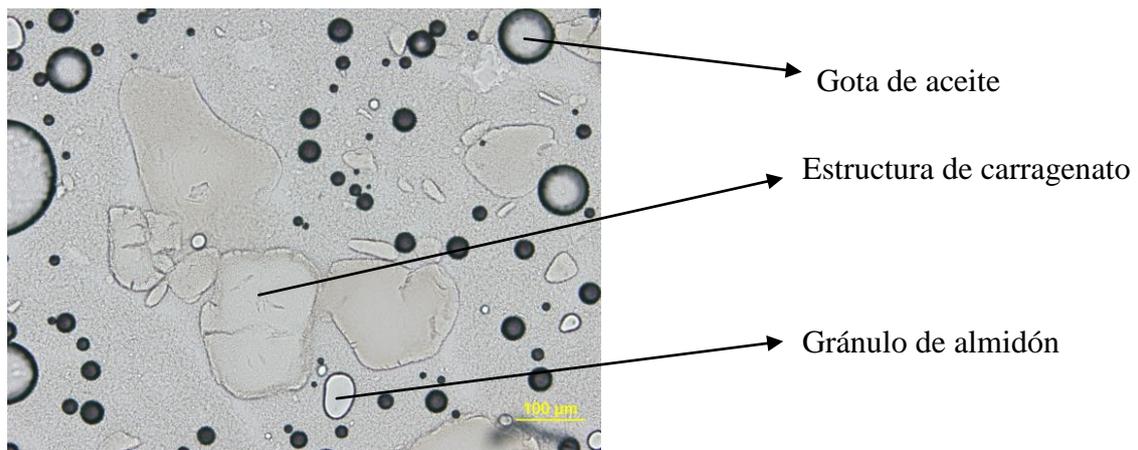


Figura 35: Emulsión de TCGR al microscopio óptico. Aumento a 10x.

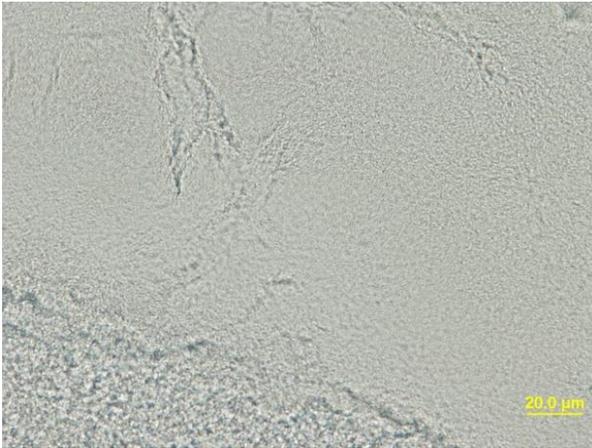


Figura 36: Detalle de la estructura formada por el carragenato en la emulsión de TCGR al microscopio óptico. Aumento a 40x.



Figura 37: Detalle de un gránulo de almidón en la emulsión de TCGR al microscopio óptico. Aumento a 100x.

Microscopio electrónico de barrido

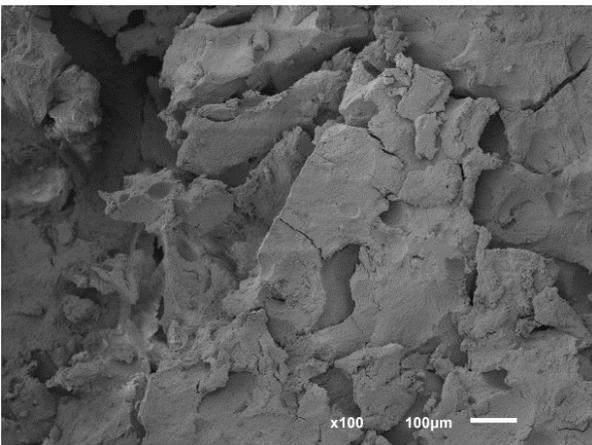


Figura 38: Producto final de TCY al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 100x.

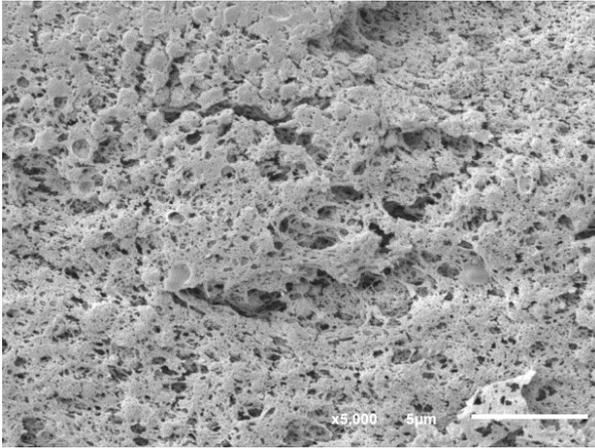


Figura 39: Producto final de TCY al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 5,000x.

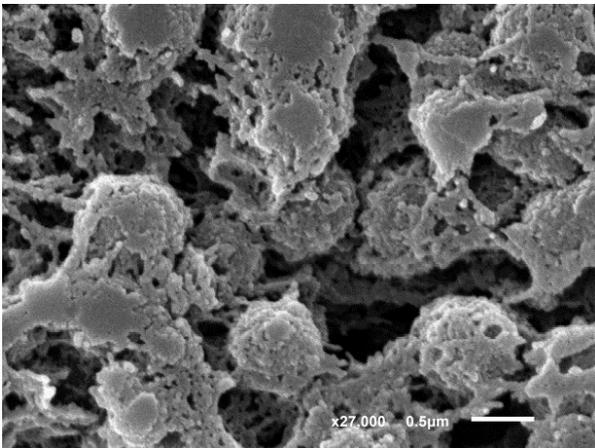


Figura 40: Detalle de la estructura en el producto final de TCY al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 27,000x.

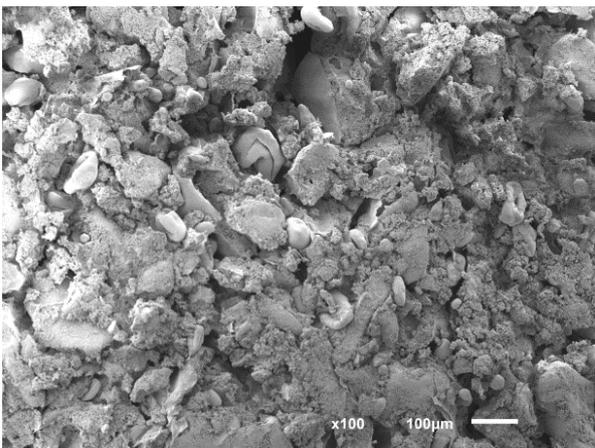


Figura 41: Producto final de TCGR al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 100x.

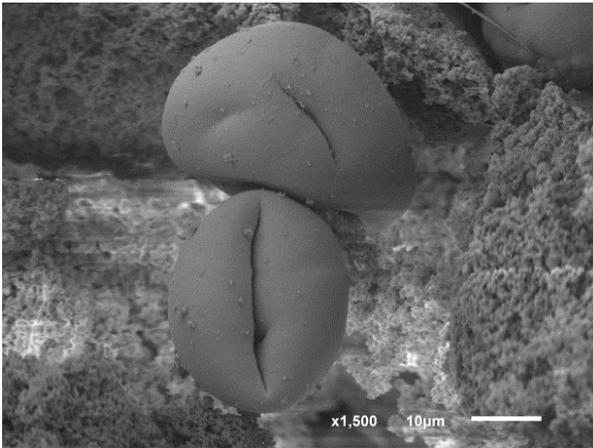


Figura 42: Detalle de un gránulo de almidón en la muestra de producto final de TCGR al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 1,500x.

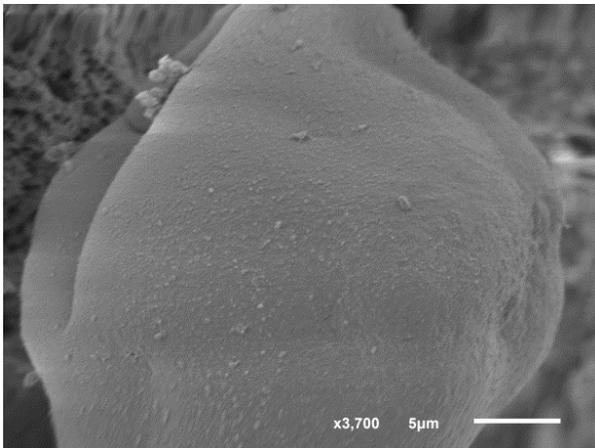


Figura 43: Detalle de un gránulo de almidón en la muestra de producto final de TGCR al microscopio electrónico de barrido. Aumento a 3,700x.

Tras la observación de estas imágenes obtenidas en sendos microscopios se pudo determinar que la estructura de ambos tociniños es completamente diferente. En el caso del tociniño elaborado con yema de huevo natural liofilizada se observa una emulsión y un producto final con una estructura muy homogénea, Figuras 34 y 39, aunque al ver dicha estructura con un aumento aún mayor, 27,000x, y una vez coagulado, sí se puede observar en detalle la red formada por los componentes durante el proceso de calentamiento. En el caso del tociniño de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada se observa un producto final con una estructura heterogénea formada por los distintos ingredientes que componen el producto, Figura 38. Se pueden observar con detalle los gránulos de almidón en la Figura 43.

4.2.5 Microbiología

Tras la realización de los análisis microbiológicos, con el objetivo de determinar si los productos elaborados eran sanitariamente adecuados para el consumo humano se determinó que, tanto la muestras de tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada como la muestras de tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada eran aptas para el consumo al obtener unos resultados, en ambos casos, de <10 UFC/g de muestra.

4.2.6 Evaluación organoléptica

Los datos obtenidos tras la realización de la evaluación organoléptica se pueden observar en la siguiente Tabla 16. Dichos datos fueron tratados mediante un programa estadístico.

Tabla 16: Resultados de la evaluación sensorial.

| | <i>Prueba de comparación pareada</i> | | | | <i>Prueba afectiva/hedónica</i> | | |
|----------------------------|--------------------------------------|---------|---------------|--------------|---------------------------------|------------------------|--------------------------|
| | Firmeza | Dulzura | Más coloreada | Más pegajoso | Aspecto | Textura | Sabor (<i>Flavour</i>) |
| TCY | 6 | 1 | 8 | 2 | 7.25±1.16 ^a | 6.75±1.04 ^a | 5.88±1.81 ^a |
| TCGR | 2 | 7 | 0 | 6 | 4.75±1.28 ^b | 6.00±1.41 ^a | 7.25±1.28 ^a |
| TCGR con β-caroteno | - | - | - | - | 5.88±1.13 ^b | 5.63±1.51 ^a | 7.25±1.16 ^a |

Los valores de las columnas seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (nivel de confianza del 95%).

Tras el análisis estadístico de los resultados obtenidos al realizar la evaluación sensorial se puede determinar, en relación a la prueba de comparación pareada que, los panelistas consideran al tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada más dulce y más pegajoso que el tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada, considerando a este último más coloreado, por unanimidad, y firme. En relación a la prueba afectiva o hedónica se puede determinar que los panelistas consideran que tiene mejor aspecto el tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada y peor el tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada, puntúan de igual manera al tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada y tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada con β-carotenos en relación al sabor (*flavour*), siendo inferior dicha puntuación para el

tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada; finalmente, la textura es puntuada de forma distinta (con respecto al aspecto y sabor (*flavour*)) y aproximada para los tres productos, alcanzando un valor más alto el tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada y un valor más bajo el tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada con β -carotenos. Se puede afirmar que la apariencia y particularmente el color juegan un papel muy importante en la elección de los alimentos, influyendo en las preferencias y aceptabilidad de los productos (Delgado-Vargas et al., 2000).

5. CONCLUSIONES

- Los gránulos de la yema de huevo resultan un ingrediente de interés en la industria de repostería, pudiendo emplearse como sustituto de la yema de huevo y aportando importantes características desde un punto de vista nutricional.
- Tanto la emulsión del tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural como la del tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular, mostraron un comportamiento ligeramente pseudoplástico.
- El producto desarrollado -tocinillo con un contenido bajo en colesterol- presentó diferentes propiedades texturales y viscoelásticas que el producto tradicional. El tocinillo elaborado con la fracción granular resultó más firme que el elaborado con la yema de huevo natural. Debido a su importancia desde un punto de vista tecnológico, es destacable la gran diferencia en el punto de coagulación de ambos productos, siendo de aproximadamente 90 y 37 °C para el tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural y para el tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular, respectivamente.
- Se aprecian notables diferencias de color entre ambos productos. Dado que el color juega un papel muy importante en la elección de los alimentos, estas diferencias se solucionaron fácilmente con la aplicación de colorantes naturales.
- La presencia de texturizantes provoca una microestructura muy diferente, siendo mucho más homogénea en el tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural con respecto a la del tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular.
- La evaluación organoléptica de los tocinillos muestra concordancia con los resultados obtenidos de los ensayos físicos en cuanto a textura y color, siendo destacable la gran semejanza en sabor (*flavour*) detectada por los panelistas.

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

| | |
|------------|--|
| ANOVA | Análisis de la varianza de un factor |
| HDL | Lipoproteínas de alta densidad (<i>Lipoprotein high density</i>). |
| HMG CoA | Hidroxi-metil-glutaril coenzima A |
| LCAT | Aciltransferasa |
| LDL | Lipoproteínas de baja densidad (<i>Lipoprotein low density</i>) |
| p/p | Relación peso/peso |
| pm | Peso molecular |
| TC | Tocinillo de cielo |
| TCGR | Tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada |
| TCY | Tocinillo de cielo elaborado con yema de huevo natural liofilizada |
| VLDL | Lipoproteínas de muy baja densidad (<i>Lipoprotein very low density</i>) |
| ΔE | Variación del color |
| G | Módulo de cizalla (Pa) |
| G' | Componente elástico (Pa) |
| G'' | Componente viscoso (Pa) |
| K | Constante de consistencia |
| n | Índice de comportamiento |
| γ | Velocidad de deformación (s^{-1}) |
| η | Viscosidad (Pa·s) |
| τ | Esfuerzo constante (Pa) |
| τ_0 | Esfuerzo límite o esfuerzo umbral (Pa) |
| τ_x | Variación esfuerzo constante (Pa) |

6. BIBLIOGRAFÍA

- Antón, M., Huopalahti, R., López-Fandiño, R., Schede, R., 2007. Bioactive Eggs Compounds. Ed. Springer Cost. Capítulo 1: 1-6; capítulo 18: 117-137.
- Antón, M., Le Denmat, M., Beaumal, V. 2000. Characterisation of emulsion properties and of interface composition in O/W emulsions prepared with hen egg yolk, plasma and granules. *Food Hydrocolloids*, 14, 539-549.
- Bourne, M.C. 2002. Food Texture and Viscosity. Concept and Measurement. 2nd edition. Ed. Elsevier Science and Technology Books.
- Caso, J.L. 2014. Guión de prácticas de Microbiología. Metodología de Experimentación en Alimentación. Máster en Biotecnología Alimentaria. Universidad de Oviedo.
- Cordobés, F., Partal, P., Guerrero, a. 2004. Rheology and microstructure of heat-induced egg yolk gels. *Rheological Acta*, 43, 184-192.
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A.R, Paredes-López, O. 2000. Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains - Characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 173-289.
- Devlin, T.M. 1991. Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas. Tomo I. 2^a Edición. Ed. Reverté S.A. Capítulo 10: 496-518.
- Díaz, M.E. 2014. Análisis sensorial. Técnicas Instrumentales Aplicadas al Análisis Químico y Sensorial de los Alimentos. Máster en Biotecnología Alimentaria. Universidad de Oviedo.
- Egelandsdal, B., Langsrud, Ø., Nyvold, T., Sontum, P.K., Sørensen, C., Enersen, G., Hølland, S. y Ofstad, R. 2001. Estimating significant causes of variation in emulsions' droplet size distributions obtained by the electrical sensing zone and laser low angle light scattering techniques. *Food Hydrocolloids*, 15(4-6), 521–532.
- García Calabuig, Gemma. 2012. Texturometría Instrumental: Puesta a punto y aplicación de la Tecnología de Alimentos. Máster de Biotecnología Alimentaria. Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Oviedo.

- González, S. 2014. Alimentos funcionales y aditivos. Nutrición Humana: Nuevos alimentos para Nuevos Tiempos. Máster en Biotecnología Alimentaria. Universidad de Oviedo.
- Instituto de Estudios del Huevo, 2009. El gran libro del huevo. Ed Everest, S.A.
- Kaur, L., Singh, J. McCarthy, J.O., Singh, J. 2007. Physico-chemical, rheological and structural properties of fractionated potato starches. *Journal of Food Engineering*, 82, 383-394.
- Laca, A., Paredes, B., Díaz, M., 2010. A method of egg yolk fractionation. Characterization of fractions. *Food Hydrocolloids*, 24, 434-443.
- Laca, A., Sáenz, M.C., Paredes, B., Díaz, M., 2010. Rheological properties, stability and sensory evaluation of low-cholesterol mayonnaises prepared using egg yolk granules as emulsifying agent. *Journal of Food Engineering*, 97, 243-252.
- Lawless, H.T., Heymann, H. 1999. Sensory Evaluation of Food: Principal and Practices. Ed. Aspen Publishers, Inc. Chapter 4: 116-138.
- Marín, P., Laca, A., Paredes, B. 2013-2014. Alimentos de estructura compleja. Metodología de Experimentación en Alimentación. Máster en Biotecnología Alimentaria. Universidad de Oviedo.
- Mendes de Souza, P., Fernández, A. 2013. Rheological properties and protein quality of UV-C processed liquid egg products. *Food Hydrocolloids*, 31, 127-134.
- Mine, Y. 2008. Egg Bioscience and Biotechnology. Ed. John Wiley & Sons, Inc. Capítulo 5: 188-189.
- Nikzade, V., Mazaheri Tehrani, M., Saadatmand-Tarzjan, M. 2012. Optimization of low-cholesterol-low-fat mayonnaise formulation: Effect of using soy milk and some stabilizer by a mixture design approach. *Food Hydrocolloids*, 28, 344-352.
- Rendueles, M. 2014. Industrias cárnicas, de pescado y de huevo. Industrias Alimentarias. Máster en Biotecnología Alimentaria. Universidad de Oviedo.

- Riera, F. 2014. Flujo de fluidos en la Industria Alimentaria. Diseño de Sistemas de Proceso en la Industria Alimentaria. Máster en Biotecnología Alimentaria. Universidad de Oviedo.
- Sáenz, M.C., 2008. Evaluación de los gránulos obtenidos del fraccionamiento de yema de huevo de gallina y su aplicación como agente emulgente en la elaboración de mayonesas. Máster de Biotecnología Alimentaria. Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Oviedo.
- Schramm, G. 2000. A Practical Approach to Rheology and Rheometry. 2nd edition. Gebrueder HAAKE GmbH, Karlsruhe, Federal Republic of Germany.
- Spence, J.D., Davignon, J., Jenkins, d.J.A., 2010. Dietary cholesterol and egg yolks: Not for patients at risk of vascular disease. *Canadian Journal of Cardiology*, 26 (9), 336-339.
- Surgino, H., Nitoda, T., Juneja, L.R. 1997. General Chemical Composition of hen eggs. Ed. CRC Press. Capítulo 2: 13-24.
- Szczesniak, A.S. 2002. Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 13 (4), 215-225.
- Wei, S-T., Ou, L-C., Ronnier Luo, M., Hutchings, B.J.B. 2012. Optimization of food expectations using product colour and appearance. *Food Quality and Preference*, 23, 49-62.

- Biokar-Diagnostics: <http://www.biokar-diagnostics.com/> (junio, 2014).
- Codex Alimentarius: <http://www.codexalimentarius.org/> (junio, 2014)
- Instituto de estudios del huevo: <http://www.institutohuevo.com/> (junio, 2014).
- INTA (Instituto Nacional de Tecnología agropecuaria): inta.gob.ar (julio, 2014).

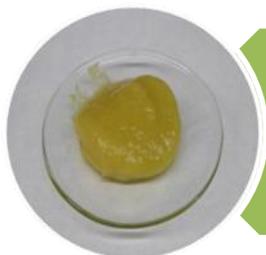
7. ANEXOS

ANEXO 1: Lista con los diferentes ensayos realizados



Receta-prueba 1:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 30g.
- Gránulos: 10g.
- T^a-t: 105°C-10'



Receta-prueba 2:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 30g.
- Aceite: 3g.
- Gránulos: 7g.
- T^a-t: 105°C-10'



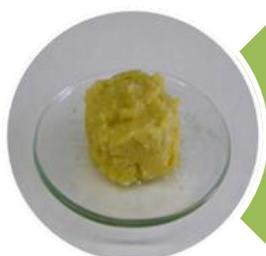
Receta-prueba 3:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 25g.
- Almidón: 5g.
- Gránulos: 10g.
- T^a-t: 105°C-10'



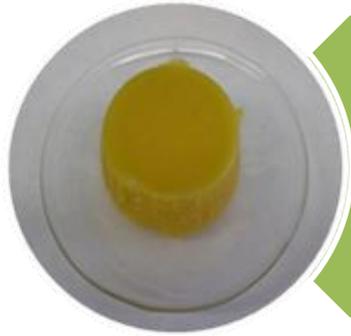
Receta-prueba 4:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 30g.
- Aceite: 2g.
- Almidón: 1g.
- Gránulos: 7g.
- T^a-t: 105°C-10'



Receta-prueba 5:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27g.
- Aceite: 2g.
- Almidón: 3g.
- Gránulos: 8g.
- T^a-t: 105°C-10'



Receta-prueba 6:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27,5g.
- Aceite: 2g.
- Almidón: 2g.
- Carragenato: 1g.
- Gránulos: 8g.
- T^a-t: 105°C-10'



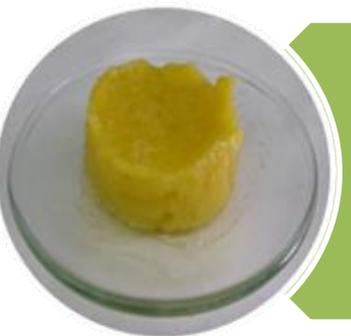
Receta-prueba 7:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27,5g.
- Aceite: 3g.
- Almidón: 1g.
- Carragenato: 0,5g.
- Gránulos: 8g.
- T^a-t: 105°C-10'



Receta-prueba 8:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27,5g.
- Aceite: 2g.
- Almidón: 1,5g.
- Carragenato: 1g.
- CMC: 0,5g.
- Gránulos: 8g.
- T^a-t: 105°C-10'



Receta-prueba 9:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27,5g.
- Aceite: 2g.
- Almidón: 0,36g.
- Carragenato: 0,18g.
- Gránulos: 6g.
- T^o-t: 105°C-10'



Receta-prueba 10:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27,5g.
- Aceite: 2g.
- Almidón: 0,36g.
- Carragenato: 0,25g.
- Gránulos: 6g.
- T°-t: 105°C-10'



Receta-prueba 11:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27,5g.
- Aceite: 2g.
- Almidón: 0,36g.
- Goma Xantana: 0,18g.
- Gránulos: 6g.
- T°-t: 105°C-15'*



Receta-prueba 12:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27,5g.
- Aceite: 2g.
- Almidón: 0,36g.
- Carragenato: 0,28g.
- Gránulos: 6g.
- Caramelo: 4g.
- T°-t: 105°C-15'



Receta-prueba 13:

- Agua: 17g.
- Azúcar: 27,5g.
- Aceite: 2g.
- Almidón: 0,5g.
- Carragenato: 0,3g.
- Gránulos: 6g.
- T°-t: 105°C-15'

ANEXO 2: Evaluación organoléptica

Prueba de discriminación – Prueba de comparación pareada:

Elegir una de las dos muestras marcando con una X.

| | <i>A</i> | <i>B</i> |
|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Más dura | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Más dulce | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Más color | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Más pegajosidad | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Prueba afectiva (Hedónica):

Valorar cada característica en el rango del 1 al 9. Teniendo en cuenta que el **1** significa *me disgusta mucho* y el **9** *me gusta mucho*.

| | <i>A</i> | <i>B</i> | <i>C</i> |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Aspecto | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Textura | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Sabor (<i>Flavour</i>) | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

ANEXO 3: Etiquetado del producto

El *Codex Alimentarius* define etiqueta como el marbete, rótulo, marca, imagen u otra materia descriptiva o gráfica que se haya escrito, impreso, estarcido, marcado, marcado en relieve o en huecograbado o adherido al envase del alimento. Las etiquetas no se deben separar del envase, con caracteres claros, visibles, indelebles y fáciles de leer.

Es importante tener clara la definición de los distintos límites de fines de macado de la fecha en los alimentos pre-envasados, de tal manera que se distinga:

- Fecha de producción: para productos agrícolas, no transformados o elaborados, inmediatamente después de la cosecha.
- Fecha de fabricación: fecha en la que el alimento se convierte en el producto descrito.
- Fecha de envasado: en la que el alimento se coloca en el envase en que finalmente se venderá.
- Fecha límite de venta: última fecha en que un producto se ofrece a la venta al detal, aunque sus caracteres organolépticos y/o sanitarios no se hayan deteriorado. Después de esa fecha queda un plazo razonable de almacenamiento en el hogar.
- Fecha de duración mínima o “consumir preferentemente antes de...”: periodo dentro del cual, en condiciones normales de manipulación y almacenamiento, el producto conserva inalteradas sus características iniciales. Después de esta fecha el alimento puede ser todavía totalmente satisfactorio durante un cierto tiempo. La fecha de duración mínima puede estar compuesta por el día, el mes y el año, o bien expresarse:
 - En productos con duración inferior a 3 meses: día y mes.
 - En productos con duración superior a 3 meses e inferior a 18 meses: mes y año.
 - En productos con duración superior a 18 meses: año.
- Fecha límite de utilización o “fecha de caducidad”: después de esta fecha el alimento no se considerará comercializable y no será apto para la alimentación humana. Normalmente la fecha de caducidad se acompaña de las condiciones de conservación que deben mantenerse para asegurar la duración indicada.

Existen una serie de alimentos los cuales están excluidos de la obligación de indicar la fecha de duración mínima en su etiquetado. Dichos alimentos son los siguientes: frutas y hortalizas frescas, vinos y bebidas con más de 10% de alcohol, productos de panadería y bollería de consumo diario, vinagres, sal de cocina, azúcares sólidos, productos de confitería que contienen casi exclusivamente azúcares, aromas y/o colorantes, gomas de mascar y productos similares de mascar, porciones individuales de helado.

Los elementos obligatorios del etiquetado de alimentos pre-envasados son los siguientes:

- Nombre del alimento: se deberá indicar la verdadera naturaleza del alimento, específico y no genérico, de forma visible. Se indicará el nombre “acuñado”, “de fantasía” o “de fábrica” o una “marca registrada”. Se usarán palabras o frases necesarias para evitar que se induzca a error o engaño respecto a la naturaleza y condición física auténticas del alimento.
- Ingredientes: salvo que se trate de un único componente será necesario enumerar todos los ingredientes por orden decreciente de peso, así como declarar la composición de los ingredientes que sean a su vez producto de dos o más ingredientes. Así mismo, se deberán declarar alimentos e ingredientes que causen hipersensibilidad, los cuales son: cereales que contiene gluten: trigo, centeno; crustáceos y sus productos; huevos y productos de los huevos; pescado y productos pesqueros: cacahuetes, soja y sus productos; leche y productos lácteos (incluida lactosa); nueces y sus productos derivados; sulfito en concentración de 10 mg/kg o más.
- Agua: se deberá indicar el agua añadida. En alimentos deshidratados o condensados destinados a ser reconstituidos, podrán enumerarse los ingredientes en el producto reconstituido. En alimentos obtenidos por medio de la biotecnología se indicará la presencia de cualquier alérgeno.
- Lista de ingredientes: clase de ingredientes con nombres genéricos.
 - Grasa de cerdo, manteca y grasa de bovino: declarar con nombres específicos.
 - Aditivos alimentarios: emplear nombres genéricos junto con el nombre específico o el número de identificación.

- Transgénicos: a partir del 14 de abril de 2004 la UE exige que entre los componentes de cada producto se declare la presencia de OGMs siempre que se supere el 0,9% de su composición. Por debajo de este porcentaje su presencia se considera “accidental” y no habrá que especificarla.
- Contenido y peso escurrido: los sólidos se indicarán en peso, los líquidos se indicarán en volumen y los semi-sólidos o viscosos se podrán indicar tanto en peso como en volumen, siguiendo en todos los casos el sistema internacional de unidades.
- Nombre, dirección, país de origen: se deberá indicar el nombre y dirección del fabricante, envasador, distribuidor, importador, exportador y vendedor del alimento. Se deberá indicar el país de origen cuando su omisión pueda resultar engañosa o equívoca para el consumidor o cuando un alimento se someta en un segundo país a una elaboración que cambie su naturaleza.
- Lote: se deberá indicar el lote, definido como el conjunto de unidades de venta fabricado o envasado en circunstancias casi idénticas. Podrá ir precedida por la palabra “lote” o la letra “L”.
- Instrucciones para el uso: se deberán añadir instrucciones para el uso en el caso de que sean necesarias sobre el modo de empleo, incluida la reconstitución, si es el caso, para asegurar una correcta utilización del alimento.

El etiquetado nutricional se define como toda la información que aparece en la etiqueta de un alimento en relación con su valor energético y con su contenido en nutrientes. No es obligatorio que un producto disponga de etiquetado nutricional a no ser que se incluyan declaraciones de propiedades nutricionales, las cuales se definen como cualquier representación que afirme, sugiera o implique que un producto posee propiedades nutricionales particulares, especialmente, pero no solo, en relación con su valor energético y contenido en proteínas, grasas y carbohidratos, sino también en relación a su contenido en vitaminas y minerales. Por tanto, cuando se aplique la declaración de propiedades nutricionales será obligatorio declarar la siguiente información:

- Valor energético: expresado en kJ o Kcal por 100g. o 100mL, o por ración.

- Cantidades de proteínas, carbohidratos disponibles y grasas. Expresado en g por 100g. o 100 mL, o por ración.
 - Cantidad de cualquier otro nutriente acerca del cual se haga una declaración de propiedades nutricionales.
 - Cantidad de cualquier otro nutriente que se considere importante para mantener un buen estado nutricional, según lo exija la legislación nacional.
- Fibra dietética.
 - Vitaminas y minerales. En unidades del sistema internacional y/o en porcentaje del valor de referencia del nutriente por 100g. o por 100mL, o por ración.

A continuación se pueden ver algunas declaraciones de propiedades nutricionales comúnmente utilizadas:

- No contiene... El producto no contiene, o contiene una cantidad muy pequeña, del componente.
- Bajo en grasa. El alimento contiene 3 g. de grasa o menos por porción.
- Bajo en sodio. El alimento contiene 140 mg. o menos por porción.
- Bajo en colesterol. El alimento contiene 20 mg. o menos por porción. Bajo en calorías. El alimento contiene 40 calorías o menos por porción.
- Buena fuente de... Una porción del alimento contiene de 10 a 19% del valor diario recomendado en comparación con el alimento regular.
- Alto contenido de... Se usa si el alimento contiene 20% o más del valor nutritivo diario perteneciente a tal nutriente o porción.
- Más. Una porción del alimento, cuyo contenido nutricional ha sido alterado o no, y contiene un nutriente que representa por lo menos el 10% o más del valor diario recomendado en comparación con el alimento regular.
- Saludable. El alimento debe de ser bajo en grasa y en grasa saturada y debe contener cantidades limitadas de colesterol y sodio.

(Codex Alimentarius, 2014 y Díaz, 2014)

ANEXO 4: Aditivos alimentarios

El Codex Alimentarius define los aditivos alimentarios como cualquier sustancia que normalmente no se considera alimento, ni es un ingrediente característico del alimento, tenga o no valor nutritivo. Su adición al alimento ha de ser intencionada y con finalidad tecnológica; producirse durante la fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o conservación de este alimento; y debe dar (o puede dar) lugar a que de modo directo o indirecto el aditivo o sus derivados pasen a ser un componente de los alimentos o afecten a sus características (Codex Alimentarius, 2014).

Designación de aditivos.

El código *E* hace referencia a Europa. La cifra de las centenas indica la función fundamental que realiza, de manera que:

E-100=Colorantes

E-200=Conservantes

E-300=Antioxidantes

E-400=Estabilizantes

E-500=Sustancias minerales

E-600=Potenciadores del sabor

E-900=Otros (edulcorantes)

Es importante tener en cuenta que todos los compuestos, incluidos los aditivos alimentarios, a determinadas dosis llegan a ser tóxicos. Por esta razón, comités de expertos de la FAO y la OMS han establecido las IDA (ingestión diaria admisible) (mg/día/kg de peso corporal), se define como la cantidad de un aditivo alimentario que puede tomarse diariamente durante toda la vida sin riesgo. Las IDA se establecen mediante modelos animales. El valor que se toma como IDA es el que resulta de dividir por 100 la dosis más alta que no produce efectos en ninguna especie animal utilizada. Se deben utilizar tres especies animales y su evolución se analiza durante tres generaciones (Sonia Solares, 2014).

En la sociedad actual el uso de aditivos es imprescindible y, a pesar de que ciertos consumidores desconfíen, su uso es completamente seguro ya que están estrictamente regulados.

En la realización del tocinillo de cielo elaborado con la fracción granular liofilizada se han utilizado una serie de aditivos alimentarios:

E-160a: Alfa, beta y gamma caroteno. Colorante. Se permite su uso en confitería, pastas de frutas, frutas confitadas, goma de mascar con un límite de 100mg/kg. En el caso de embutidos picados crudos curados y cocidos se permite hasta 20ppm.

E-407: Carragenatos. Gelificantes, estabilizantes y espesantes. Estas sustancias se obtienen a partir de algas verdes como son *Euchema cottonii* y *Euchema spinosum* y de algas rojas de las familias *Gigartinaceae*, *Solieriaceae*, *Hypneaceae* y *Furcellariaceae*. Los carragenatos son muy utilizados en la elaboración de postres ya que, a partir de una concentración del 0,025% van a estabilizar suspensiones y, a partir del 0,15% van a proporcionar texturas sólidas (Codex Alimentarius, 2014).