

**ROSSO, JORGE RUBEN**

Evolucion de parámetros de calidad epistolar y movimiento de nebulosa ardiente cúbica p

75359

2016 75359



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO  
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

**Tesis para acceder al título de  
Magíster en Inocuidad y Calidad de Alimentos**

**“EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD QUÍMICOS Y  
SENSORIALES DE MANTECA ANHIDRA OBTENIDA POR  
CENTRIFUGACIÓN”**

**Ing. Jorge Rubén Rosso**

**AÑO 2016**

T. 1050
Classif.
M.F.N.

73359

“EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD  
QUÍMICOS Y SENSORIALES DE MANTECA  
ANHIDRA OBTENIDA POR CENTRIFUGACIÓN”

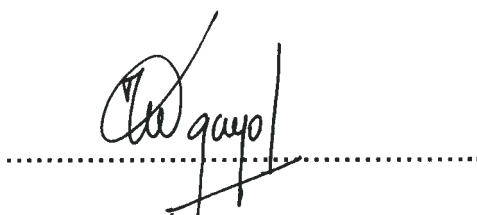
POR

JORGE RUBÉN ROSSO



M SC. ALBERTO WILLNECKER

DIRECTOR



DRA. MARÍA FERNANDA GAYOL

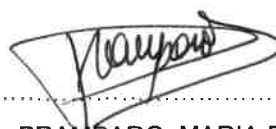
CODIRECTORA

APROBADA POR:



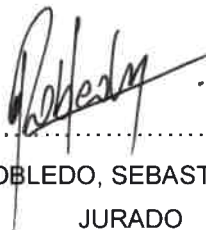
Mgter. NUÑEZ, SONIA CAROLINA

JURADO



Dra. PRAMPARO, MARIA DEL CARMEN

JURADO



Dr. ROBLEDO, SEBASTIÁN NOEL

JURADO

## **AGRADECIMIENTOS**

Deseo expresar mi agradecimiento al director, M Sc. Alberto Willnecker y a la codirectora, Dra. María Fernanda Gayol, por la valiosa colaboración que me brindaron en la realización de este trabajo de tesis.

A la Facultad de Agronomía y Veterinaria y a los responsables de la Maestría en Inocuidad y Calidad de los Alimentos por los cursos de posgrado brindados, que hicieron posible mi formación de posgrado, necesaria para la concreción de este trabajo.

A la Facultad de Ingeniería de la UNRC y en particular al Dpto. de Tecnología Química, por haberme brindado los medios necesarios para la realización de este proyecto de tesis.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	10
----------------------	----

<b>SUMMARY</b> .....	12
----------------------	----

### **CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN**

1.1 Características generales de la grasa láctea bovina.....	14
1.2 Composición de los lípidos de la leche.....	15
1.3 Ácidos grasos de la grasa láctea.....	17
1.3.1 Ácidos grasos saturados.....	17
1.3.2 Ácidos grasos insaturados.....	19
1.3.3 Otros ácidos grasos.....	20
1.3.4 Implicancias de las variaciones de los ácidos grasos.....	21
1.3.5 Síntesis de los ácidos grasos.....	22
1.4 Lípidos no polares. Triglicéridos.....	23
1.5 Lípidos polares.....	26
1.6 Constituyentes minoritarios.....	27
1.7 Principales alteraciones de los lípidos de la leche.....	29
1.7.1 Lipólisis.....	29
1.7.1.1 Medición de los ácidos grasos libres.....	30
1.7.2 Autooxidación.....	31
1.7.2.1 Mediciones de rancidez oxidativa.....	35
1.7.2.2 Índices de oxidación primaria.....	36
1.7.2.3 Índices de oxidación secundaria.....	39
1.8 Análisis sensorial.....	41
1.9 Grasa anhidra de leche. GAL.....	43

### **CAPÍTULO 2: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

2.10 Objetivos.....	50
2.10.1 Objetivos generales.....	50
2.10.2 Objetivos específicos.....	50

### **CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1 Materiales.....	52
3.2 Metodología.....	52
3.2.1 Metodología para el objetivo 1.....	52
3.2.1.1 Composición química y nutricional.....	52
3.2.2 Metodología para el objetivo 2.....	53
3.2.2.1 Obtención de grasa anhidra a partir de crema.....	53
3.2.2.2 Obtención de grasa anhidra a partir de manteca.....	54
3.2.3 Metodología para el objetivo 3.....	54
3.2.4 Metodología para el objetivo 4.....	54
3.2.4.1 Índice de peróxido.....	55
3.2.4.2 Índice de acidez.....	55
3.2.4.3 Índice de p-anisidina.....	55
3.2.4.4 Dienos y trienos conjugados.....	56
3.2.5 Metodología para el objetivo 5.....	56
3.2.6 Análisis sensorial de alimentos.....	57
3.2.6.1.1 Pruebas descriptivas.....	57
3.2.6.1.2 Procedimiento.....	57
3.2.6.1.3 Entrenamiento.....	58
3.2.6.1.4 Evaluación de las muestras.....	61
3.2.6.2 Aceptabilidad de consumidores.....	61
3.2.7 Cambios químicos durante el almacenaje.....	65
3.2.7.1 Cambios químicos.....	65
3.2.8 Análisis estadístico de datos.....	65

### **CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1 Resultados objetivo 1.....	67
4.2 Resultados objetivo 3.....	67
4.3 Resultados objetivo 4.....	69
4.4 Resultados objetivo 5.....	70
4.4.1 Análisis de regresión.....	77
4.5 Análisis sensorial.....	79

4.6 Pruebas de aceptabilidad de los consumidores.....	86
-------------------------------------------------------	----

## **CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES**

5. Conclusiones.....	89
----------------------	----

<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>90</b>
--------------------------	-----------



## RESUMEN

La materia grasa de los productos lácteos es una parte esencial de su calidad nutricional, pero en la leche, crema o manteca su vida útil es corta debido al deterioro provocado por microorganismos, lipólisis y autooxidación. Estos procesos tienen lugar en la fase acuosa, de modo que productos anhidros tienen una vida útil más prolongada. Los objetivos del presente trabajo fueron obtener grasa anhidra de leche a partir de distintas materias primas, tales como crema de leche y manteca, y evaluar la estabilidad química y sensorial de la misma como indicadores de la calidad alimenticia.

Se obtuvieron muestras de alta calidad alimenticia de grasa anhidra de crema y grasa anhidra de manteca mediante procesos de centrifugación y se determinó la composición físico-química de ambos productos, según las normas establecidas por los organismos pertinentes nacionales (Código Alimentario Argentino) e internacionales (CODEX, MERCOSUR).

Luego se estudió la estabilidad química-oxidativa de las muestras, mediante el almacenamiento de las mismas a 22 °C y 60 °C. Se pudo establecer que las muestras de grasa anhidra de manteca presentaron mayor estabilidad oxidativa que las muestras de grasa anhidra de crema. Se encontraron diferencias significativas entre las muestras en las pruebas de % ácidos grasos libres, índice de peróxido e Índice de p-Anisidina. En tanto, no se encontraron diferencias significativas en las pruebas de dienos conjugados y trienos conjugados.

Con respecto al análisis sensorial, las pruebas descriptivas mostraron diferencias significativas en las variables brillo, migajosidad, untabilidad, intensidad del color amarillo, olor a queso, olor a manteca artificial, olor a aceite vegetal, olor a rancio, granulosidad, olor a cocido, gusto dulce y recubrimiento de la boca/regusto. En tanto que, las variables dureza, olor a grasa láctea y tasa de derretimiento no presentaron diferencias significativas. Los ensayos de aceptabilidad presentaron resultados compatibles con los obtenidos en las pruebas descriptivas, salvo en el atributo intensidad del color amarillo, donde no se encontraron diferencias significativas.

Las muestras de grasa anhidra de manteca mostraron a lo largo de todo el estudio valores inferiores para los parámetros de deterioro químico y oxidativo. A su vez, presentaron las mayores intensidades en los atributos brillo, migajosidad, untabilidad, olor a queso, olor a grasa láctea, olor a manteca artificial, tasa de derretimiento, olor a cocido y gusto dulce y en la aceptabilidad de los consumidores.

## SUMMARY

The fat content of dairy products is an essential part of its nutritional quality, but in milk, cream or butter has a short shelf life due to deterioration caused by microorganisms, lipolysis and autoxidation. These processes take place in the aqueous phase, so that anhydrous products have a longer life. The objectives of this study were to obtain anhydrous milkfat and evaluate the chemical and sensory stability as indicators of food quality in anhydrous milk fat from different raw materials, such as cream and butter.

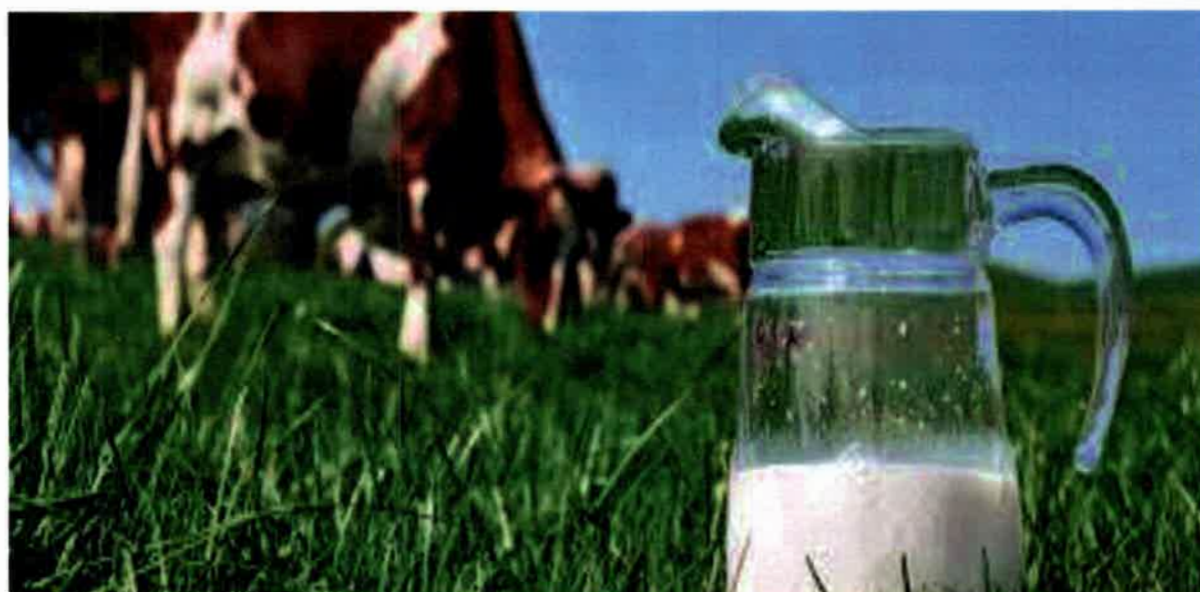
Samples were obtained anhydrous fat of cream and anhydrous fat of butter, high-quality food by centrifugation processes and the physical and chemical composition of both products is determined, according to standards established by relevant national and international agencies (CAA) and (CODEX, Mercosur).

Chemical-oxidative stability of the samples was then studied by storing them at 22 ° C and 60 ° C. It was established that samples of anhydrous butter fat had higher oxidative stability than samples of anhydrous fat cream. Significant differences between samples in test % free fatty acids, peroxide index and p-Anisidine index were found. Meanwhile, no significant differences in tests of conjugated dienes and conjugated trienes were found.

With respect to sensory analysis, descriptive tests showed significant differences in the variable brightness, migajosidad, spreadability, intensity of yellow cheese smell, the smell of artificial butter, the smell of vegetable oil, the smell of stale, graininess, the smell of baked, sweet taste and mouth coating / aftertaste. While the variable hardness, the smell of milk fat and melting rate did not differ significantly. The acceptability tests showed results consistent with those obtained in the descriptive absence of evidence to the intensity of the yellow color attribute, where no significant differences were found.

Samples anhydrous milk fat of butter showed throughout the study lower values for the parameters of chemical and oxidative deterioration. In turn, they had the highest intensities in the attributes shine, spreadability, cheese smell, the smell of artificial butter, cooked and smell sweet taste and consumer acceptability.

# CAPÍTULO 1



## INTRODUCCIÓN

## 1. CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Características generales de la grasa láctea bovina

La leche es el líquido secretado por la hembra de todas las especies de mamíferos, principalmente para satisfacer la demanda de energía y los requisitos nutricionales del recién nacido, tales como aminoácidos esenciales, ácidos grasos, vitaminas, minerales y agua. La leche es una fuente efectiva y equilibrada de lípidos, proteínas (caseínas y proteínas del lactosuero), carbohidratos (principalmente lactosa), minerales (por ejemplo, calcio y fósforo), enzimas, vitaminas y oligoelementos (Huppertz et al., 2009).

La función principal de los lípidos en la leche es proporcionar una fuente de energía para el recién nacido. Desde un punto de vista práctico, los lípidos de la leche implican un alto grado de importancia debido a la incidencia que poseen sobre las propiedades nutricionales, sensoriales y de textura en una amplia variedad de productos lácteos, tal como leche fluida, queso, helado, manteca y yogur (Ordoñez et al., 1998).

La concentración de materia grasa en la leche de los bovinos varía generalmente en el rango de 3,5 a 4,7%. La alimentación de la vaca constituye uno de los principales factores de variación en la composición de la materia grasa de leche, junto con el estado de lactación, la salud y los intervalos entre ordeños (MacGibbon et al., 2006).

La producción de leche en la Argentina se desarrolla básicamente bajo condiciones de pastoreo, hecho que está íntimamente relacionado con la estación del año debido a la disponibilidad de pasturas para el consumo de los animales. Particularmente en la Cuenca Central la pastura utilizada como principal alimento es la alfalfa, y cuando su disponibilidad disminuye se complementa con cereales (Paez et al., 2006).

El estado de lactación es otro de los factores que influyen en la concentración de grasa en la leche. En las primeras semanas luego de la parición, el



contenido de la grasa en la leche disminuye y luego se incrementa progresivamente durante la lactancia (MacGibbon et al., 2006).

Con respecto a la salud del animal, si el mismo presenta mastitis la concentración de grasa en la leche disminuye, debido al deterioro que sufre el tejido mamario con la consiguiente dificultad de síntesis. Este efecto está bien definido en el caso de una mastitis clínica pero menos definido para una subclínica.

La desnutrición también es otro factor importante, en la cual si bien la producción de leche está disminuida, la concentración de grasa usualmente se incrementa en pequeñas cantidades.

Durante el ordeño se incrementa el contenido de grasa, pero si el mismo se realiza de forma incompleta el contenido de grasa puede ser menor y en el siguiente ordeño se puede obtener una mayor concentración de grasa que proviene del anterior. Además los intervalos entre ordeños deben ser regulares para mantener la concentración de la grasa en la leche (Paez et al., 2006).

La grasa de la leche es secretada en forma de glóbulos más o menos esféricos con un diámetro que varía desde 0,2 a 15  $\mu\text{m}$ , rodeados por una membrana lipoproteica conocida como membrana del glóbulo graso (MFGM) de 8 – 9 nm de espesor. Esta membrana es la que mantiene la integridad del glóbulo y estabiliza la grasa en el medio acuoso. La misma contiene principalmente proteínas y lípidos polares y no polares (Christie, 1995).

El núcleo de los glóbulos grasos está constituido principalmente por triglicéridos; los de bajo punto de fusión se localizan en el centro y los de alto punto de fusión se encuentran en la zona más externa del núcleo (Huppertz et al., 2009).

## 1.2 Composición de los lípidos de la leche

Los lípidos de la grasa de leche en su mayoría son triglicéridos, acompañados de pequeñas cantidades de diglicéridos, monoglicéridos, fosfolípidos,



glicolípidos y ácidos grasos libres, todos correspondientes a la fracción saponificable que constituye más del 99% de la fracción grasa.

También en bajos niveles y pertenecientes a la fracción insaponificable se encuentran los esteroides, las vitaminas liposolubles, los carotenos y los compuestos liposolubles que contribuyen al sabor. En la Tabla 1.1 se muestran los principales lípidos de la leche (MacGibbon et al., 2006).

**Tabla 1.1 Principales lípidos de la leche**

<b>Clases de Lípidos</b>	<b>Concentración ( % p/p)</b>
Triglicéridos	98,3
Diglicéridos	0,3
Monoglicéridos	0,03
Ácidos grasos libres	0,1
Fosfolípidos y Glicolípidos	0,8
Esteroides	0,3
Carotenoides	Trazas
Vitaminas liposolubles	Trazas
Compuestos del sabor	Trazas

*Fuente: MacGibbon y Taylor (2006)*

Los triglicéridos representan alrededor del 98% de los lípidos totales de la leche y son los principales responsables de las propiedades de la grasa, por ejemplo, hidrofobicidad, densidad y temperaturas de fusión (Ordoñez et al., 1998).

Si bien los fosfolípidos se encuentran en pequeñas cantidades, el rol que desempeñan es muy importante debido a sus propiedades anfifílicas. Están presentes principalmente en la membrana del glóbulo graso, acompañados por glicolípidos, proteínas, enzimas, triglicéridos y componentes minoritarios. Los principales fosfolípidos son la fosfatidilcolina (lecitina), fosfatidiletanolamina y la esfingomielina (Fox et al., 1998).

Dentro de los componentes minoritarios de la grasa de leche se encuentran otros lípidos polares como ceramidas, glicolípidos (cerebrósidos y gangliósidos) que están presentes en cantidades de trazas, y esteroides de los cuales el principal es el colesterol (aproximadamente el 95% p/p). La mayor

parte del colesterol se encuentra en forma libre. La fracción de colesterol esterificado no supera el 10% p/p (Palmquist, 2006).

La leche contiene vitaminas liposolubles que le confieren un importante valor nutricional. La vitamina A es la que se encuentra en mayor proporción mientras que las vitaminas D, E y K se hallan presentes en concentraciones menores. Las concentraciones varían ampliamente con la raza del animal, la alimentación y el estado de lactación (Gösta, 2003).

### **1.3 Ácidos grasos de la grasa láctea**

La composición de ácidos grasos de los triglicéridos, componente común de los lípidos saponificables, tiene importantes efectos sobre la calidad de la leche y de los productos lácteos, ya que incide en las propiedades físicas (punto de fusión y dureza de mantecas, cristalización), nutricionales y organolépticas. La grasa láctea bovina está considerada como la grasa natural más compleja debido al gran número de ácidos grasos constituyentes. Hasta 1988 se listaron 400 ácidos grasos distintos y la mayoría de ellos se pudieron identificar utilizando técnicas cromatográficas y espectroscópicas complejas (Christie, 1995).

La mayor parte de los ácidos grasos están presentes en pequeñas cantidades (< 0,01% p/p). Sin embargo, aproximadamente 15 ácidos grasos se encuentran en concentraciones superiores al 1,0 % p/p. Estos son considerados como los ácidos grasos mayoritarios. En la Tabla 1.2 se observan los valores de estos ácidos grasos dados por diferentes autores (MacGibbon et al., 2006).

#### **1.3.1 Ácidos grasos saturados**

En la grasa láctea bovina están presentes cantidades considerables de ácidos grasos saturados que representan aproximadamente el 70% p/p del total de ácidos grasos, y sus cadenas de átomos de carbono varían desde 4 a 18, siendo mayoritario el C16:0 seguido por C14:0 y C18:0. Es característica la



**Tabla 1.2 Composición de ácidos grasos de la grasa láctea**

Ácido graso	Nombre común	Porcentaje p/p	
		Jensen (2002)	MacGibbon y Taylor (2006)
C4:0	Butírico	2,0 – 5,0	3,1 – 4,4
C6:0	Caproico	1,0 – 5,0	1,8 – 2,7
C8:0	Caprílico	1,0 – 3,0	1,0 – 1,7
C10:0	Cáprico	2,0 – 4,0	2,2 – 3,8
C10:1	-	0,2 – 0,3	0,15
C12:0	Laúrico	2,0 – 5,0	2,6 – 4,2
C14:0	Mirístico	8,0 – 14,0	9,1 – 11,9
C14:1	Miristoleico	-	0,5 – 1,1
C15:0	-	1,0 – 2,0	0,9 – 1,4
C16:0	Palmitico	22,0 – 35,0	23,6 – 31,4
C16:1	Palmitoleico	1,0 – 3,0	1,4 – 2,0
C18:0	Esteárico	9,0 – 14,0	10,4 – 14,6
C18:1	Oleico	20,0 – 30,02	14,9 – 22,0
C18:2	Linoleico	1,0 – 3,0	1,2 – 1,7
C18:3 $\alpha$	Linolénico	0,5 - 2,0	0,9 – 1,2
C18:2conj	Linoleico conjugado	-	0,8 – 1,5

Fuente: MacGibbon y Taylor (2006)

presencia de ácidos grasos de cadena corta (C4:0 y C6:0), y de cantidades apreciables de ácidos grasos de cadena media (C8:0 – C12:0).

Los ácidos grasos de cadena corta y media contribuyen aportando energía al metabolismo del ternero recién nacido; disminuyen el punto de fusión de los triglicéridos y por lo tanto ayudan a mantener la fluidez a la temperatura corporal de una grasa considerablemente saturada, influyendo de esta manera en su eficiente secreción. Este hecho compensaría la concentración relativamente baja de ácidos grasos insaturados de bajo punto de fusión (Huppertz et al., 2009).

### 1.3.2 Ácidos grasos insaturados

El contenido de ácidos grasos cis - monoinsaturados en la grasa láctea bovina es del 18 al 24% p/p, siendo el ácido oleico (C18:1 9c) el que se encuentra en

mayor proporción. Los ácidos C14:1 y C16:1 están presentes en concentraciones del 1,0% p/p aproximadamente (Ordoñez et al., 1998).

Los ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico y el  $\alpha$ -linolénico están presentes en bajas proporciones debido a las reacciones de biohidrogenación que se llevan a cabo en el rumen. En leches provenientes de vacas alimentadas con pasturas la concentración del ácido  $\alpha$ -linolénico es más alta.

Con respecto a los ácidos grasos trans, el ácido vaccénico (C18:1 11t) es el más importante de los isómeros trans del C18:1. La presencia de estos isómeros en la grasa láctea bovina es el resultado de la biohidrogenación incompleta e isomerización de los lípidos insaturados que son aportados por la dieta.

Las concentraciones más altas de ácido vaccénico fueron obtenidas en leches que provenían de vacas alimentadas con pasturas de verano y las más bajas fueron obtenidas en leches de vacas alimentadas con concentrados y silajes en invierno. La alimentación con pasturas frescas reduce la eficiencia de las reacciones de biohidrogenación en el rumen lo que determina una mayor concentración del isómero (Shahidi y Wanasundara, 2002).

Los ácidos linoleicos conjugados (CLA) son una mezcla de isómeros posicionales y geométricos del C18:2 con dobles enlaces conjugados, siendo el isómero bioactivo C18:2 9c, 11t (ácido ruménico), el que representa aproximadamente el 80% del total de los isómeros. La presencia de CLA en la grasa láctea adquirió relevancia cuando se descubrieron sus efectos benéficos sobre la salud. Se demostró, en animales de laboratorio, que presentan la propiedad de inhibir carcinogénesis (Paez et al., 2006). Además se han comprobado otras propiedades como la de disminuir la arterioesclerosis y la diabetes y de tener efectos anti obesidad (Palmquist, 2006).

Los CLA provienen de las reacciones de biohidrogenación e isomerización en el rumen a partir de los ácidos grasos insaturados de la dieta. Una diferencia estructural importante entre los ácidos grasos cis-insaturados y trans-insaturados es que la configuración cis del doble enlace produce un

“retorcimiento” significativo en la cadena carbonada, mientras que la configuración trans sólo causa una ligera distorsión. Esta diferencia tiene un impacto importante en la forma en que los triglicéridos se organizan en redes cristalinas cuando se solidifican. Los triglicéridos que contienen ácidos grasos insaturados cis tienen una densidad menor que los triglicéridos que contienen ácidos o bien trans-insaturados o saturados, y como resultado tienen puntos de fusión más bajos. Por lo tanto, los niveles relativos de ácidos grasos cis-insaturados y trans-insaturados pueden ejercer una considerable influencia en las características de fusión de la grasa de leche (Huppertz et al., 2009).

### 1.3.3 Otros ácidos grasos

La grasa láctea presenta, como se mencionó anteriormente, cerca de 400 ácidos grasos diferentes dentro de los cuales aproximadamente 40 están presentes en concentraciones mayores a 0,01% p/p y los restantes se encuentran en cantidades de trazas. Dentro de este último grupo se encuentran ácidos grasos con cadena ramificada y con número impar de átomos de carbono desde C3 a C27.

También están presentes alrededor de 200 ácidos grasos mono, di y poliinsaturados minoritarios, con longitud de cadena desde C10 a C24 e isómeros tanto cis como trans, algunos con importancia nutricional como los ácidos C20:5 y C22:6 que están presentes en las rutas metabólicas de los ácidos grasos n-3 y el C20:4 que forma parte de las rutas de los ácidos grasos n-6.

La grasa láctea contiene bajas concentraciones de hidroxiacidos y cetoácidos. Algunos hidroxiacidos son de interés ya que se transforman en sus respectivas lactonas, que son componentes importantes del flavor. Los  $\beta$ -cetoácidos se decarboxilan formando metilcetonas que contribuyen al flavor de la manteca cuando se la somete a temperatura (MacGibbon et al., 2006).

### **1.3.4 Implicancias de las variaciones en la composición de los ácidos grasos**

El estudio de la composición de los ácidos grasos de la grasa láctea, sus diferentes proporciones y las variaciones por el tipo de alimentación y otros factores, resulta de interés por las siguientes razones:

- Permite tener un mejor conocimiento de las materias primas para la industrialización de la grasa láctea.
- La presencia de cantidades considerables de ácidos grasos de cadena corta, en especial del ácido butírico, y de ácidos de cadena larga conjugados, en particular del ácido linoleico conjugado, tiene gran interés nutricional.
- Los cambios sobre la composición de la grasa láctea afectan las propiedades físicas, nutricionales y organolépticas de la leche y de los productos lácteos. Particularmente, en manteca, inciden sobre la dureza, el punto de fusión y la forma de cristalización.

Como ejemplo de estas variaciones se pueden mencionar las modificaciones en el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea causada por cambios en la alimentación de las vacas. En la época de transición de una alimentación basada en pasturas frescas a una alimentación con ensilado compuesto por mezcla de pasturas y maíz, aumenta el contenido promedio de la grasa en la leche y la misma contiene menor cantidad de ácidos grasos insaturados y mayor cantidad de ácidos grasos saturados desde C6 a C16. Este hecho conduce a que las mantecas de invierno con bajos niveles de C4:0 y C18:1 y altos niveles de C16:0 sean más duras que las mantecas de verano. La transición a la alimentación con pasturas resulta en un aumento de las concentraciones de C18:0 y C18:1, especialmente de ácido vaccénico (C18:1 11t) que se debe al alto contenido de ácido linoleico y linolénico en las pasturas (Huppertz et al., 2009).

### 1.3.5 Síntesis de los ácidos grasos de la grasa láctea

Los ácidos grasos de la grasa láctea provienen de dos fuentes: a) de la síntesis de novo en la glándula mamaria y b) de los lípidos absorbidos del plasma sanguíneo circulante.

Los ácidos grasos procedentes de la síntesis de novo son los de cadena corta y media (C4:0 al C14:0) y una parte de C16:0. Estos ácidos se sintetizan en la glándula mamaria utilizando principalmente acetato y  $\beta$ -hidroxibutirato, los que son producidos mediante la fermentación por microorganismos del rumen a partir de la celulosa y de otros polisacáridos que la acompañan. En la glándula mamaria, el principal precursor en la síntesis de los ácidos grasos es la acetil - CoA derivada del acetato o de la oxidación del  $\beta$ -hidroxibutirato. El mecanismo implica esencialmente la carboxilación de la acetil-CoA a malonil-CoA, la que luego es utilizada en los pasos de alargamiento de cadena, resultando ácidos grasos con cadena no ramificada y con número par de átomos de carbono.

Sin embargo, si en la síntesis es utilizado un precursor como el propionato, valerato o isobutirato, se forman ácidos grasos de cadena ramificada y con número impar de átomos de carbono.

Los lípidos presentes en el plasma sanguíneo provienen de la alimentación y de la hidrólisis de los tejidos, especialmente del tejido adiposo. Los lípidos procedentes de la alimentación en su mayoría son triglicéridos, fosfolípidos y glicolípidos con alta proporción de ácidos linoleico (C18:2 9c, 12c) y linolénico (C18:3 9c, 12c, 15c). En el rumen se hidrolizan los lípidos liberando ácidos grasos, los cuales sufren una biohidrogenación ocasionada por microorganismos. Para el ácido linoleico la secuencia de biohidrogenación comienza con un paso de isomerización que produce el ácido linoleico conjugado (C18:2 9c, 11t), seguido por una reducción para dar ácido vaccénico (C18:1 11t) y luego una posterior reducción a C18:0 (MacGibbon et al., 2006).

Las rutas de biohidrogenación del ácido linolénico son similares. La mezcla de ácidos grasos que resultan de la biohidrogenación es esterificada a triglicéridos

los cuales luego circulan en el flujo sanguíneo constituyendo lipoproteínas. Estos triglicéridos son tomados por la glándula mamaria e hidrolizados para dar ácidos grasos. La glándula mamaria contiene un sistema de desaturasas que convierte cantidades importantes de C18:0 a ácido oleico (C18:1 9c). Como consecuencia de estos procesos, en la glándula mamaria se obtienen a partir de los lípidos de la dieta cantidades importantes de C16:0, C18:0 y ácido oleico, pequeñas cantidades de ácido linoleico y linolénico, y cantidades limitadas de C18:1 11t y C18:2 9c, 11t (Palmquist, 2006).

#### **1.4 Lípidos no polares. Triglicéridos**

La grasa de la leche de los bovinos contiene distintos triglicéridos (TG) que varían considerablemente en el peso molecular y en el grado de insaturación, debido a la amplia variabilidad de ácidos grasos que los forman (Ordoñez et al., 1998).

La composición de triglicéridos se define en términos de los tipos y cantidades de ácidos grasos presentes y comúnmente se expresa por el número total de carbonos, es decir, la suma del número de átomos de carbono presentes en los tres ácidos grasos.

Los TG presentan un amplio rango de peso molecular, desde C26 a C56, que es consecuencia de las diferencias en las longitudes de cadena de los ácidos grasos que los constituyen (desde C4 a C18). La composición de los triglicéridos está dominada por triglicéridos con C34 a C52 siendo mayoritarios C36, C38, C40 y C50. Existen variaciones en la composición de los triglicéridos tanto a lo largo de las estaciones como entre las diferentes regiones. En la Tabla 1.3 se observa la composición de los principales TG de la grasa láctea (MacGibbon et al., 2006).

La grasa láctea con sus 400 ácidos grasos detectados podría tener miles de triglicéridos diferentes, pero el número se reduce debido a que la distribución de los ácidos grasos en ellos no es azarosa (Huppertz et al., 2009).



**Tabla 1.3 Composición de triglicéridos de la grasa láctea**

Número de átomos de carbono de los ácidos grasos de los TG	Porcentaje p/p	
	Jensen (2002)	MacGibbon y Taylor (2006)
C26	0,1-1,0	0,2 – 0,3
C28	0,3-1,3	0,4 – 0,8
C30	0,7-1,5	0,8 – 1,9
C32	1,8-4,0	1,8 – 3,2
C34	4,0-8,0	4,4 – 6,9
C36	9,0-14,0	9,1 – 12,4
C38	10,0-15,0	11,8 – 14,6
C40	9,0-13,0	9,5 – 12,1
C42	6,0-7,0	6,2 – 7,9
C44	5,0-7,5	5,4 – 7,8
C46	5,0-7,0	5,6 – 8,3
C48	7,0-11,0	6,9 – 10,7
C50	8,0-12,0	9,7 – 12,8
C52	7,0-11,0	7,2 – 12,6
C54	1,0-5,0	2,7 – 7,8
C56	-	0,4 – 0,6

Fuente: MacGibbon y Taylor (2006)

Los triglicéridos son sintetizados en la glándula mamaria por mecanismos enzimáticos que ejercen alguna selectividad sobre la esterificación de los diferentes ácidos grasos en cada posición de los sn- gliceroles.

Los análisis estereoespecíficos permitieron determinar la ubicación de los ácidos grasos en los triglicéridos. En la tabla 1.4 se muestra la distribución de los ácidos grasos en los triglicéridos de la leche. Los ácidos grasos de cadena corta C4:0 y C6:0 prácticamente en su totalidad se esterifican en la posición sn-3, mientras que C12:0 y C14:0 se esterifican preferentemente en la posición sn-2 (MacGibbon et al., 2006).

**Tabla 1.4: Distribución de los ácidos grasos en triglicérols**

Ácidos grasos	Distribución de ácidos grasos		
	Sn-1	Sn-2	Sn-3
4:0	-	0,4	30,66
6:0	-	0,7	13,8
8:0	0,3	3,5	4,2
10:0	1,4	8,1	7,5
12:0	3,5	9,5	4,5
14:0	13,1	25,6	6,9
16:0	43,8	38,9	9,3
18:0	17,6	4,6	6,0
18:1	19,7	8,4	17,1

*Fuente: MacGibbon y Taylor (2006): Distribución posicional de los ácidos grasos en los triglicéridos de la leche de vaca*

A medida que la cadena del ácido graso se alarga hasta C16:0, las incorporaciones se hacen preferentemente en las posiciones sn-1 y sn-2. El ácido palmítico se esterifica preferentemente en las posiciones sn-1 y sn-2. El ácido esteárico se esterifica principalmente en la posición sn-1 y el ácido oleico muestra preferencia por las posiciones sn-1 y sn-3. El patrón de distribución del esteárico y del oleico varía de acuerdo al peso molecular del triglicérido: cuando son de alto peso molecular, ambos ácidos grasos esterifican preferentemente las posiciones sn-1 y sn-3, y cuando el triglicérido es de peso molecular bajo o medio la posición preferencial es la sn-1 (Christie, 1995).



Las fracciones de alto peso molecular y diferente grado de insaturación, están formadas por TG que contienen una combinación de C14:0, C16:0, C18:0 y C18:1, donde los dos primeros ocupan preferentemente las posiciones sn-1 y sn-2 y los dos últimos las posiciones sn-1 y sn-3, mientras que las fracciones de peso molecular medio y bajo están constituidas principalmente por TG formados con C14:0, C16:0, C18:0 y C18:1 en las posiciones sn-1 y sn-2 y con C4:0 y C6:0 en la posición sn-3.

Con respecto al grado de saturación, los TG saturados y los monoinsaturados son los mayoritarios en la grasa láctea (Shahidi y Chi-Tang, 2005).

### **1.5 Lípidos polares**

La concentración de los lípidos polares saponificables en la grasa láctea varía desde 0,5 a 1,0% p/p del total. Este grupo está formado por fosfolípidos (glicerofosfolípidos y esfingofosfolípidos), glicolípidos (gliceroglicolípidos y esfingoglicolípidos) y ceramidas. Aproximadamente el 65% p/p de los mismos están en la membrana del glóbulo graso y el porcentaje restante se encuentra asociado a fragmentos del material de membrana en la fase acuosa.

Si bien los lípidos polares constituyen una proporción muy pequeña del total de los lípidos de la grasa láctea, poseen un rol muy importante debido a su característica anfifílica, que hace posible la suspensión estable de la grasa láctea en el medio acuoso de la leche. De esta manera coexisten en la misma solución concentraciones relativamente altas de grasa y proteínas.

Los lípidos polares son importantes para mantener la estructura en determinados productos lácteos debido a que son capaces de estabilizar emulsiones y espumas y de formar micelas y membranas (Huppertz et al., 2009).

En la industrialización de la leche entera, los lípidos polares ligados estrechamente a la membrana del glóbulo graso pasan a la crema con los lípidos neutros, mientras que los asociados a los fragmentos del material de

membrana son retenidos en la leche descremada. Por lo tanto la relación de fosfolípidos con respecto a la grasa total es relativamente baja en crema y alta en la leche descremada (Fox et al., 1998).

Algunos lípidos polares como las ceramidas (esfingolípidos) y la esfingomielina (esfingofosfolípidos) presentan una fuerte actividad antitumoral, y los gangliósidos (esfingoglicolípidos que contienen una o más unidades de ácido sialico) presentan un efecto positivo sobre procesos infecciosos.

## 1.6 Constituyentes Minoritarios

1.6.1 Esteroles: Los esteroles son componentes minoritarios de los lípidos de la leche ya que representan el 0,3% p/p del total de la grasa. El principal es el colesterol y aproximadamente un 10% p/p del mismo se encuentra esterificado. Además se identificaron otros esteroles como lanosterol, campesterol, estigmaesterol, dihirolanosterol y  $\beta$ -sitoesterol que se encuentran solo en niveles de trazas (Hettinga, 2005).

1.6.2 Carotenoides: El principal carotenoide de la grasa láctea es el  $\beta$ -caroteno y se encuentra dentro del glóbulo graso, confiriéndole color a la grasa. En la leche la concentración del  $\beta$ -caroteno depende de la alimentación y de la raza. El contenido de  $\beta$ -caroteno en la leche está comprendido en el intervalo de 0,05 a 0,25 mg/g (Hettinga, 2005). Las pasturas frescas contienen niveles de carotenos más altos que los concentrados y el heno. Las vacas de la raza Jerseys tienen en sus leches niveles más elevados de  $\beta$ -caroteno que las vacas de la raza Friesians (MacGibbon et al., 2006).

1.6.3 Vitaminas liposolubles: La grasa láctea está considerada como una fuente significativa de vitamina A, pero como una fuente pobre de vitaminas D, E y K. Desde el punto de vista del valor nutricional, el contenido de vitamina A de la leche es importante. Como la fuente de vitamina A son el  $\beta$ -caroteno y otros pigmentos carotenoides presentes en la alimentación de las vacas, el contenido de esta vitamina varía considerablemente, siendo más alto en el verano, cuando los rebaños lecheros están en los pastos y la más baja en

invierno cuando no hay alimentos verdes en sus raciones. El contenido de vitamina A en la leche se halla en el intervalo que va de 0,15 a 0,3 mg/g (Hettinga, 2005). La vitamina A está involucrada en funciones biológicas importantes como el desarrollo embrionario, el crecimiento y la visión. El contenido de vitamina D de la leche es mucho menos significativo que la de la vitamina A, pero sin embargo es apreciable. Este varía aproximadamente de 0,0025 IU / g a 0,025 IU / g, siendo más alto en el verano y más bajo en el invierno. La vitamina E protege a los ácidos grasos insaturados de la oxidación ocasionada por peróxidos (Huppertz et al., 2009).

1.6.4 Compuestos que inciden en el flavor: Se han identificado aproximadamente 200 compuestos volátiles en la grasa láctea. Los principales compuestos que contribuyen significativamente al flavor son lactonas, ácidos grasos, aldehídos y metilcetonas.

Algunas lactonas, como la  $\delta$ -octalactona, la  $\delta$ -decalactona y la  $\gamma$ -dodecalactona y los ácidos grasos de cadena corta, C4:0 y C6:0 son compuestos deseables del flavor para algunos productos lácteos, siempre que los mismos estén presentes en bajas concentraciones. Los aldehídos alifáticos también son contribuyentes deseables para el flavor cuando están presentes en muy bajas concentraciones, pero pueden ser responsables de efectos indeseables cuando dichas concentraciones se incrementan por reacciones de oxidación. Con el calentamiento de la leche, las pequeñas cantidades de  $\beta$ -cetoácidos presentes en la grasa láctea sufren un proceso de decarboxilación para dar metilcetonas que inciden favorablemente en el flavor. Además de las cuatro clases de compuestos discutidos anteriormente, hay otros compuestos volátiles que contribuyen al aroma y sabor de la grasa de la leche, incluyendo diacetilo y escatol (Palmquist, 2006).

## 1.7 Principales alteraciones que afectan a los lípidos de la leche

Los lípidos de la dieta, que se encuentran de manera natural en los alimentos o son agregados a estos durante el procesamiento, juegan un papel muy importante en el valor nutritivo y en el flavor de los mismos. La descomposición de los lípidos es una de las causas más importante de deterioro de la calidad de alimentos, y ha constituido y constituye un desafío para los científicos y fabricantes de alimentos. Los procesos más importantes que conducen a la pérdida de calidad en alimentos, asociados con la descomposición de los lípidos, son la lipólisis o rancidez hidrolítica y la autooxidación o rancidez oxidativa (Schaich, 2005).

### 1.7.1 Lipólisis

La hidrólisis de los triglicéridos provoca el aumento de la fracción de ácidos grasos libres, confiriendo a los productos lácteos sabores rancios y jabonosos. Los ácidos grasos C-4 a C-12 son los principales responsables de este sabor. Ácidos grasos libres de más de C-12 no causan un deterioro significativo en el sabor o el olor (O'Keefe et al., 2010). La leche posee una lipasa endógena que tiene una temperatura óptima de trabajo de 37 °C y un pH óptimo que se sitúa en 8. La actividad de esta enzima se ve estimulada por la presencia de iones  $\text{Ca}^{++}$ , pero es inestable frente a las altas temperaturas. Esta enzima se inactiva con el calentamiento a 75 °C durante algunos segundos, por lo que en productos pasteurizados no presenta actividad (Taub et al., 1998). Esta lipasa no exhibe especificidad por los ácidos grasos durante la hidrólisis de los triglicéridos mixtos, pero muestra fuerte especificidad posicional. Actúa sobre los enlaces ésteres primarios, con cierta preferencia por la posición sn-1 sobre la posición sn-3 de los triglicéridos y puede hidrolizar 2-monoglicéridos solo después de su conversión a los isómeros sn-1 o sn-3 (Deeth et al., 2006). Además de la lipasa endógena, pueden encontrarse otras de origen microbiano. Generalmente son lipasas extracelulares producidas por bacterias psicrótrofas, entre ellas, pseudomonas y enterobacterias (Ordoñez et al., 1998). Muestran la mayor actividad a pH alcalino y temperaturas entre 40-50 °C y son

muy estables a las temperaturas de pasteurización. En forma similar a la lipasa endógena, actúa sobre los enlaces ésteres primarios, preferentemente en la posición sn-1 sobre la posición sn-3 (Deeth et al., 2006).

#### 1.7.1.1. Medición de los ácidos grasos libres

En general, la metodología más ampliamente utilizada para determinar la acidez, por su sencillez y universalidad, es la acidimetría, que consiste en la valoración volumétrica utilizando soluciones normalizadas de álcali. Son los denominados Índice de Acidez o Grado de Acidez, que se distinguen únicamente en la forma de expresar el resultado:

**Índice de Acidez:** mg KOH necesarios para neutralizar 1 g de materia grasa

**Grado de Acidez:** AG libres expresados en porcentaje de ácido oleico

En algunos casos, según la naturaleza de la materia grasa, existe la posibilidad de expresar el grado de acidez en porcentaje de ácido palmítico, ácido láurico u otro ácido que sea predominante en el material evaluado (Codony et al., 2010).

Existen diferentes procedimientos normalizados, que difieren entre sí únicamente por algunos detalles (AOAC 19<sup>th</sup> ed Official Method 940.28, IUPAC 2.201). La valoración debe realizarse siempre con una solución etanólica de KOH, mientras que la materia grasa a valorar debe disolverse en un solvente adecuado. Existen dos tipos de procedimientos propuestos, los que utilizan el etanol como disolvente y los que utilizan una mezcla de etanol y éter etílico (50:50 v/v). La elección del solvente parece tener pocas repercusiones en el resultado, pero la solubilización depende de la naturaleza de la muestra, así como de una agitación continua y efectiva (Deeth et al., 2006).

Generalmente, predominan los métodos que utilizan el etanol como disolvente único (sistema propuesto por Bishop et al. en 1922, que estableció también los sistemas indicadores más adecuados). Estos métodos tienen la dificultad de que, aunque los ácidos grasos libres son solubles, los triglicéridos no, lo que origina un sistema bifásico que requiere ciertas precauciones para una buena



reproducibilidad y exactitud en la determinación, ya que la visualización del punto final es algo dificultosa. Para la determinación del punto final, algunos investigadores proponen un sistema potenciométrico, ya que la coloración propia de muchas materias grasas puede dar lugar a errores en la utilización de los indicadores visuales de coloración. En el caso de utilizar indicadores, el más recomendado es la fenolftaleína, aunque algunos autores sugieren el uso de timolftaleína y el azul de timol para obtener puntos finales más exactos. En la tabla 1.5 se presenta un resumen de los principales métodos propuestos con sus características (Codony et al., 2010).

**Tabla 1.5: Métodos para la determinación de ácidos grasos libres**

MÉTODO	MATERIAL	PESO	SOLVENTE	INDICADOR
AOCS	Todas las grasas	3,5-56,4	Alcohol Etílico	Fenolftaleína
AOAC	Todas las grasas	7,05-56,4	Alcohol Etílico	Fenolftaleína
BSI	Todas las grasas	2,0-50,0	Alcohol Benceno	Fenolftaleína
IFC	Todas las grasas	5-10	Éter etílico Alcohol	Fenolftaleína
Ames y Licata	Todas las grasas	10	Benceno Isopropanol Agua	Fenolftaleína

Fuente: Codony et al. (2010)

### 1.7.2 Autooxidación

El proceso de autooxidación es una reacción química que afecta a los ácidos grasos insaturados libres o esterificados. Esta reacción se produce en presencia de oxígeno y es catalizada por la luz, el calor y algunos metales, como el Fe y el Cu (Ordoñez et al., 1998). Los productos de esta reacción son hidroperóxidos (compuestos primarios), sustancias que carecen de aroma, pero

son inestables y se degradan formando distintas sustancias (compuestos secundarios), tales como carbonilos insaturados de C-6 a C-11, hidrocarburos, furanos, alcoholes y ácidos, que comunican a la grasa aromas extraños, conocidos comúnmente como *a rancio* (O'Keefe et al., 2010). Algunos aldehídos volátiles formados por auto-oxidación de los ácidos grasos insaturados se enumeran en la Tabla 1.6 (Shaidi y Chi Tang, 2005).

La mayoría de estos compuestos son reconocidos como los responsables del flavor característico en grasas y aceites oxidados. Sin embargo, los compuestos de carbonilo alifáticos, tales como los alcanales, alquenes, alcadienales y cetonas de vinilo tienen los valores más bajos de umbrales para incidir en el flavor, como se muestra en la tabla 1.7.

Los compuestos de mayor incidencia responsables del flavor son: trans, cis-2,4-decadienal, trans, trans-2,4-decadienal, trans, cis-2,4-heptadienal, 1-octen-3-ol, n-butanal, y n-hexanal, calculado en orden de importancia a partir de la concentración decreciente y valor umbral (Min et al., 2002).

Ha sido difícil para los científicos ponerse de acuerdo en la percepción del flavor de los distintos compuestos. Las dificultades de descripción de los atributos sensoriales de un compuesto son en parte debido a los cambios en la percepción del flavor según la concentración y las condiciones de evaluación.

Sin embargo, las percepciones del flavor de algunos compuestos han sido generalmente aceptadas por los científicos en el campo, como se muestra en la Tabla 1.8.

La reacción de oxidación de los lípidos, se produce en general a través de un mecanismo de autopropagación de radicales libres, donde el ataque del oxígeno se produce principalmente en las posiciones adyacentes a los dobles enlaces. La reacción en cadena es precedida por una etapa de iniciación en la que los radicales libres son producidos por algunos medios catalíticos (metales, la exposición a la luz o radiación de alta energía). Aunque los ácidos grasos saturados pueden reaccionar con el oxígeno, la susceptibilidad a la oxidación de los lípidos es significativamente mayor a medida que aumenta el grado de

**Tabla 1.6: Aldehídos más comunes formados a partir de ácidos grasos insaturados presentes en la grasa láctea**

Ácido graso	Monohidroperóxido	Aldehído formado
Ácido oleico	8-COOH	2-undecenal decanal
	9-COOH	2-decenal nonanal
	10-COOH	nonanal
	11-COOH	octanal
Ácido linoleico	9-COOH	2,4-decadienal 3-nonenal
	13-COOH	hexanal
Ácido linolénico	9-COOH	2,4,7-decatrienal 3,6-nonadienal
	12-COOH	2,4-heptadienal 3-hexenal
	13-COOH	3-hexenal
	16-COOH	propanal
Ácido araquidónico	5-COOH	2,4,7,10-hexadecatetraenal 3,6,9-pentadecatrienal
	8-COOH	2,4,7-tridecatrienal 3,6-dodecadienal
	9-COOH	3,6-dodecadienal
	11-COOH	2,4-decadienal 3-nonenal
	12-COOH	3-nonenal
	15-COOH	hexanal



**Tabla 1.6: Aldehídos más comunes formados a partir de ácidos grasos insaturados presentes en la grasa láctea**

Ácido eicosapentaenoico	5-COOH	2,4,7,10,13-hexadecapentaenal 3,6,9,12-pentadecatetraenal
	8-COOH	2,4,7,10-tridecatetraenal 3,6,9-dodecatrienal
	9-COOH	3,6,9-dodecatrienal
	11-COOH	2,4,7-decatrienal 3,6-nonadienal
	12-COOH	3,6-nonadienal
	14-COOH	2,4-heptadienal 3-hexenal
	15-COOH	3-hexenal
	18-COOH	propanal

Fuente: Shahidi y Chi Tang (2005)

**Tabla 1.7: Valores umbrales para las sustancias responsables del flavor a oxidado**

<b>COMPUESTO</b>	<b>UMBRAL (ppm)</b>
Hidrocarburos	90-2150
Furanos sustituidos	2-27
Alcoholes vinílicos	0,5-3
1-Alquenos	0,02-9
2-Alquenales	0,04-2,5
Alcanales	0,04-1
trans,trans-2,4-alcadienales	0,04-0,3
Alcadienales	0,002-0,3
cis-alquenales	0,0003-0,1
trans,cis-alcadienales	0,002-0,006
Vinil-cetonas	0,00002-0,007

Fuente: Min and Boff (2002)

**Tabla 1.8: Percepción del flavor de compuestos volátiles formados durante la oxidación lipídica**

Percepción del flavor	Compuesto responsable
Cartón	Trans, trans-2,6-nonadienal
Aceitoso	Aldehídos
Recién pintado	Pent-2-enal, aldehídos
De pescado	Tran, cis, trans-2,4,7-decatrienol oct-1-en-3-one
De hierbas	Trans-2-hexenal Nona-2,6-dienal
Frito	Trans, trans-2,4-decadienal

Fuente: Min and Boff (2002)

insaturación en las cadenas de los ácidos grasos (Taub et al., 1998). En particular, las tasas relativas de autooxidación del ácido oleico, linoleico y linolénico están en el orden de 1:40-50:100 sobre la base de la captación de oxígeno y 1:12:25 sobre la base de la formación de peróxido. Por lo tanto, las grasas y aceites que contienen proporciones relativamente altas de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) pueden experimentar problemas de estabilidad (MacGibbon et al., 2006). En particular, los ácidos grasos que contienen uno o más sistemas pentadienos no conjugados,  $-CH = CH-CH_2-CH = CH-$ , son especialmente sensibles (Richards, 2006).

#### 1.7.2.1. Mediciones de Rancidez Oxidativa

Existen numerosos métodos disponibles para la medición de la oxidación de lípidos en los alimentos. Los cambios en las propiedades químicas, físicas u organolépticas de los aceites y grasas durante la oxidación pueden ser monitoreadas para evaluar el grado de oxidación de lípidos. Sin embargo, no existe un método uniforme y estándar para detectar todos los cambios

oxidativos en todos los alimentos. Los métodos disponibles para medir y controlar la oxidación de lípidos en los alimentos y en los sistemas biológicos pueden ser divididas en dos grupos: las determinaciones de los índices de oxidación primaria y de los índices de oxidación secundaria (Min et al., 2002).

#### 1.7.2.2. Índices de Oxidación Primaria

**Cambios en Reactivos:** Los métodos que miden los cambios principales de lípidos pueden ser clasificados como aquellos que cuantifican la pérdida de reactivos (ácidos grasos insaturados). Se ha demostrado que este método sirve como una técnica útil para identificar la clase de lípidos y ácidos grasos que están implicados en los cambios oxidativos. Los cambios de composición de ácidos grasos no se pueden utilizar en los aceites y grasas con una alta proporción de ácidos grasos saturados porque este indicador refleja sólo los cambios que se producen en los ácidos grasos insaturados durante la oxidación. Por lo tanto, los cambios oxidativos en aceites marinos y aceites vegetales altamente insaturados pueden ser monitoreadas usando este indicador (Shahidi y Wanasundara, 2002). Los cambios en la composición de ácidos grasos proporcionan una medida indirecta de la extensión de la oxidación de lípidos. En este método, los lípidos son extraídos de los alimentos, si es necesario, y posteriormente se convierten en derivados adecuados para el análisis cromatográfico. Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) son los derivados utilizados con frecuencia para la determinación de la composición de ácidos grasos, por lo general por cromatografía de gases (GC). Del mismo modo, el valor de yodo, que refleja la pérdida de ácidos grasos insaturados, también se puede utilizar como un índice de oxidación de lípidos (Shahidi y Zhong, 2005).

**Los hidroperóxidos:** En la oxidación de grasas y aceites, los primeros productos que se originan son los hidroperóxidos, aun cuando el material no muestra signos de oxidación en el flavor (los hidroperóxidos son inodoros e insípidos). La velocidad inicial de formación de hidroperóxidos excede su velocidad de descomposición, pero esto se invierte en etapas posteriores de la

oxidación lipídica. Por lo tanto, el control de la cantidad de hidroperóxidos como una función del tiempo indica si un lípido está en la porción crecimiento o decaimiento de la curva de concentración de hidroperóxidos. Esta información se puede utilizar como una guía para la consideración de la aceptabilidad de un producto alimenticio con respecto a la extensión de deterioro del producto (Shahidi y Wanasundara, 2002).

**Índice de peróxido:** El método tradicional para la determinación de los peróxidos lipídicos es el Índice de Peróxidos Volumétrico (AOCS Cd 8-53; IUPAC II.D.13; AOAC 19th ed. Official Method 965.33; EEC Regulation 2568/91). Su fundamento es la oxidación del ión yoduro a yodo, en medio ácido, por parte de los peróxidos lipídicos presentes en la materia grasa disuelta en el cloroformo. El yodo formado se valora con una solución normalizada de tiosulfato sódico, utilizando almidón como indicador. Los resultados se expresan en meq de  $O_2$ /kg de materia grasa, debido a que los peróxidos tienen estructuras variadas y no conocidas exactamente (Codony et al., 2010).

Esta determinación, a pesar de su gran aplicación, es un método que presenta algunas dificultades que pueden conducir a resultados poco reproducibles y/o exactos. La primera la constituye la escasa solubilidad del yoduro en cloroformo, lo que hace necesario una continua y enérgica agitación durante toda la valoración para favorecer el contacto entre las fases acuosa y orgánica. El oxígeno en contacto con el yoduro se renueva en forma eficaz por la agitación, lo que puede provocar su oxidación, generando medidas por exceso en la determinación. Otra desventaja es la posible fijación del yodo por los dobles enlaces en grasas muy insaturadas. La reacción de oxidación del yoduro es lenta, lo que puede provocar alguna imprecisión en la observación del punto final (Shahidi y Wanasundara, 2002).

El método yodométrico para la determinación del Índice de Peróxidos es aplicable a todas las grasas y aceites, pero es altamente empírico y cualquier variación en el procedimiento puede afectar los resultados. Por lo tanto, se ha sugerido modificar el procedimiento de valoración yodométrica para medir Índice de Peróxidos, en un intento de aumentar la sensibilidad de la

determinación. La modificación implica la sustitución de la etapa de valoración colorimétrica visual por una técnica electrométrica del punto final.

Varios otros métodos químicos también se han sugerido para el seguimiento del Índice de peróxidos. Los métodos colorimétricos basado en la oxidación de  $Fe^{++}$  a  $Fe^{+++}$  y la posterior valoración del  $Fe^{+++}$  formado con reactivos específicos, como el tiocianato potásico, el 2,6-diclorofenol-indofenol o el naranja de xileno (Codony et al., 2010).

**Dienos conjugados:** Otra alternativa utilizada en la medición de la oxidación primaria es la determinación de los dienos conjugados (AOCS Ti 1°-64; EEC N° 2568/91; ISO3656:2002). Este ensayo se fundamenta en que la formación de un hidroperóxido en la cadena de un ácido graso poliinsaturado implica el desplazamiento de un doble enlace hacia el carbono del grupo metilénico vecino, con la consecuente formación de un dieno conjugado. La medida de la absorbancia al UV a 234 nm – correspondiente a dichos dienos conjugados – es, por lo tanto, un buen parámetro para evaluar el proceso oxidativo inicial de una grasa. El aumento de absorción debido a la formación de dienos conjugados es proporcional a la absorción de oxígeno y la formación de peróxidos durante las primeras etapas de la oxidación (Shahidi y Zhong, 2005). Los dienos conjugados y el índice de peróxidos de aceites y grasas se correlacionan bien durante la etapa inicial de oxidación. La determinación de dienos conjugados puede ser utilizado como un índice de la estabilidad de los lípidos conjuntamente o en reemplazo del índice de peróxidos. (Shahidi y Wanasundara, 2002). El método de los dienos conjugados es más rápido que la determinación del índice de peróxidos, es mucho más simple y reproducible, no depende de reacciones químicas o del desarrollo de color, con escasos requerimientos metodológicos y de habilidad del operador, y requiere un tamaño de muestra más pequeño debido a que tiene mayor precisión. Sin embargo, la presencia en las grasas de compuestos – carotenoides - que absorben en la misma región puede interferir con dichas determinaciones (Codony et al., 2010).

La lectura espectrofotométrica se realiza por disolución de una cantidad determinada de muestra en distintos solventes: metanol, isooctano, hexano o ciclohexano. Los resultados se expresan como % de dienos conjugados.

### 1.7.2.3. Índices de oxidación secundaria

Los productos de oxidación primarios (hidroperóxidos) de grasas y aceites son productos intermedios transitorios que se descomponen en varios productos secundarios. La medición de los productos de oxidación secundaria es importante ya que generalmente inciden en el flavor, mientras que los productos de oxidación primaria no (Shahidi y Wanasundara, 2002).

**Índice del ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS):** es una determinación muy utilizada para evaluar la oxidación secundaria en todo tipo de grasas y aceites. El método (AOCS Method Cd 19-90) se basa en la reacción del malonaldehído con dos moléculas de ácido 2-tiobarbitúrico en medio ácido, para dar un complejo que presenta coloración rosada, con un máximo de absorbancia a 532 nm (Shahidi y Zhong, 2005). El malonaldehído es un producto relativamente menor que se forma a partir de la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados. La reacción no es totalmente específica, ya que otros productos de la oxidación de lípidos, tales como los 2-alquenes y 2,4-alcadienos, también reaccionan con el reactivo TBA. Esto ha llevado a que el índice sea conocido en la actualidad como índice de TBARS, es decir, de sustancias reactivas frente al TBA. Varios intentos se han hecho para establecer una relación entre los valores de TBA y el desarrollo de sabores indeseables en grasas y aceites. Se ha demostrado que los valores de umbral para el flavor se correlacionan bien con los resultados de TBA de aceites vegetales y grasas (Shahidi y Wanasundara, 2002).

**Índice de p-anisidina:** El índice de p-anisidina (AOCS Method Cd 18-90; IUPAC 7th ed Method 2.504; ISO 6885:2006) se define como 100 veces la absorbancia medida a 350 nm en una celda de 1 cm, de una solución al 1% de materia grasa en hexano o iso-octano. El método se fundamenta en la



formación de una base de Schiff, de color amarillo, producto de la reacción entre la p-anisidina y los grupos carbonilos de diversos compuestos - principalmente 2-alquenes y 2,4-alcadienos - que resultan de la descomposición de los hidroperóxidos (Shahidi y Zhong, 2005). La intensidad de la reacción depende de la naturaleza de la grasa, además del grado de oxidación. Así, las grasas oleicas presentan menor respuesta que las ricas en ácido linoleico y éstas menor respuesta que las ricas en ácido linolénico. Se ha establecido una correlación significativa entre el índice de p-anisidina y el flavor de las grasas y aceites (Codony et al., 2010).

**Valor TOTOX:** El índice de p-anisidina (p-ANV) se utiliza en conjunto con el índice de peróxido (IP) para calcular la oxidación total o el valor TOTOX:

$$\text{Valor TOTOX} = 2\text{IP} + \text{p-ANV}$$

Se considera que el valor TOTOX tiene la ventaja de combinar evidencias sobre la historia pasada de una grasa (como se refleja en el p-ANV) con su estado oxidativo actual (como se evidencia en el IP). Por lo tanto, la determinación del valor TOTOX se ha llevado a cabo ampliamente para estimar el deterioro oxidativo de los lípidos de los alimentos. Recientemente, se ha definido el  $\text{TOTOX}_{\text{TBA}}$  como  $2\text{IP} + \text{TBA}$  debido a que la determinación de p-ANV puede no ser siempre factible (Shahidi y Wanasundara, 2002).

**Carbonilos:** Un enfoque alternativo para el control de la extensión de la oxidación de lípidos en grasas y aceites consiste en medir los compuestos de carbonilo volátiles formados a partir de la degradación de hidroperóxidos. Uno de los métodos más fiables para el análisis de carbonilos totales se basa en medir la absorbancia del ión quinoidal, un derivado de aldehídos y cetonas. Este ión se forma a partir de la reacción de 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4DNDH) con un aldehído o cetona, seguido por la reacción de las hidrazonas resultantes con un álcali, que luego se analiza espectroscópicamente a una longitud de onda determinada (Shahidi y Zhong, 2005).

**Trienos conjugados:** de la misma forma que los peróxidos lipídicos son dienos conjugados y la determinación de estos en grasas y aceites es un indicativo de

la oxidación primaria, muchos compuestos secundarios formados por degradación de los peróxidos poseen estructura de trienos conjugados (EEC N° 2568/91). Estos compuestos son preferentemente, dicetonas etilénicas, alcadienales y cetodienes conjugados, cuyo máximo de absorbancia característico se localiza a 268 nm (Codony et al., 2010).

### **1.8 Análisis Sensorial**

La evaluación sensorial es una disciplina científica que se utiliza para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de los alimentos tal como son percibidas por los sentidos de la visión, el olfato, el gusto, el tacto y el oído. En la actualidad la valoración sensorial de los alimentos cobra vital importancia y es un método de gran valor para evaluar la calidad y la estabilidad de las grasas, de los aceites y de los alimentos que contienen grasas. Los métodos instrumentales y químicos miden productos de descomposición que resultan de la oxidación tales como los compuestos volátiles y no volátiles. Ninguno de estos métodos consigue valorar la calidad de un producto de una manera integral, lo que sí se puede obtener de un análisis sensorial.

Por esta razón, la evaluación sensorial constituye un punto vital en cualquier programa de evaluación de la calidad. En tales programas, la evaluación sensorial se puede utilizar para controlar la calidad del producto, determinar los efectos de procesamientos alternativos, establecer las diferencias en distintas formulaciones, evaluar embalajes y determinar la vida útil del producto (Malcolmson, 2005).

Para la industria alimentaria, la detección de sabores y olores rancios por el gusto o el olfato es el principal método para decidir cuándo un alimento que contiene lípidos ya no sirve para consumo.

Como la sensibilidad al flavor anormal varía entre los diferentes individuos, el análisis sensorial descriptivo, incluyendo la detección y la descripción de los



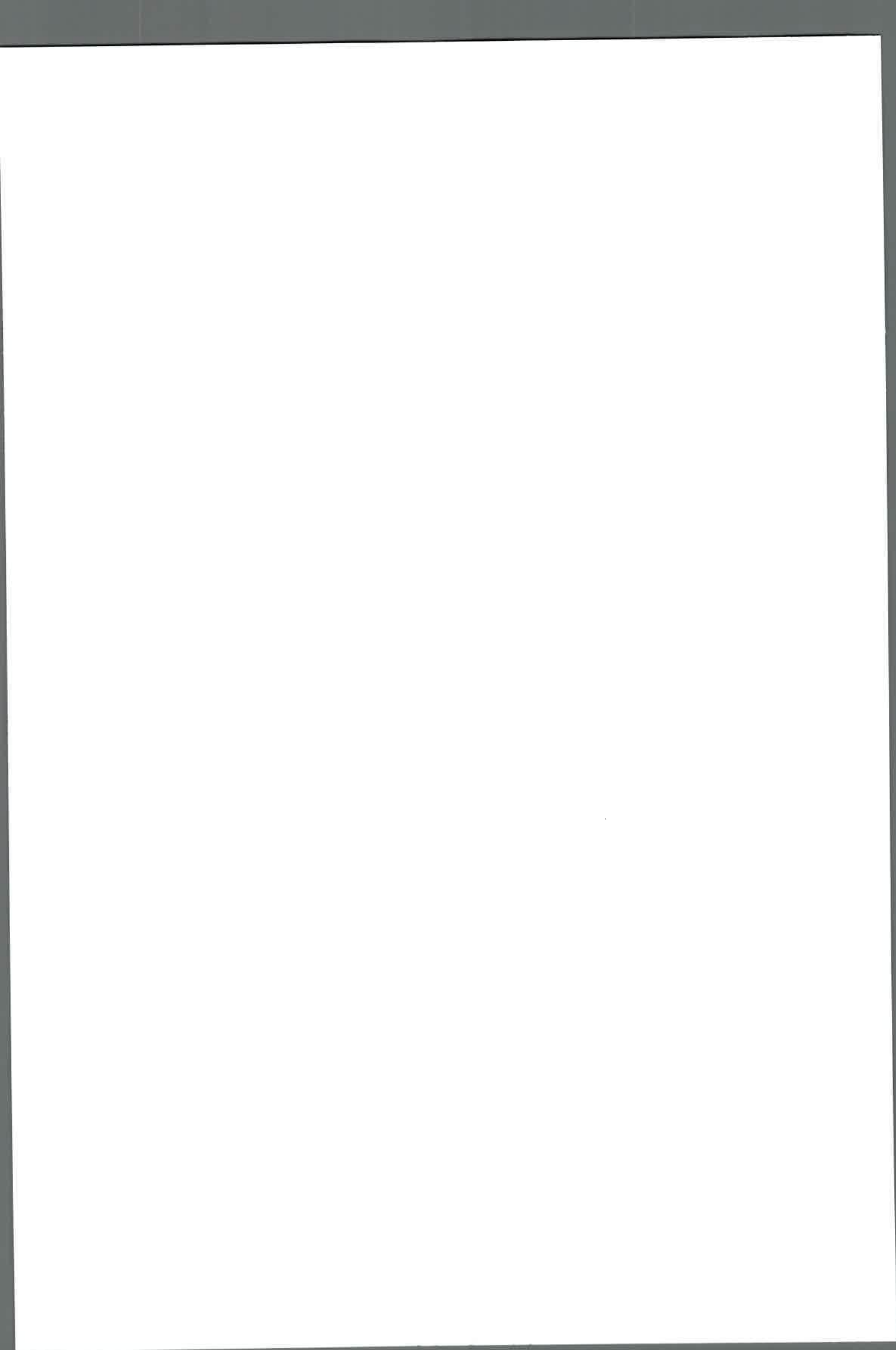
aspectos sensoriales cualitativos y cuantitativos de un producto, se lleva a cabo, generalmente, por un panel entrenado (Malcolmson, 2005).

Las pruebas descriptivas de evaluación sensorial tratan de definir las propiedades del alimento y medirlas de la manera más objetiva posible. Aquí no son importantes las preferencias o aversiones de los jueces, y no es tan importante conocer las diferencias de apreciaciones en cuanto gusta o no un producto, sino cual es la magnitud o intensidad de los atributos del alimento. Las pruebas descriptivas, por lo tanto, proporcionan mucha más información acerca del producto que las otras pruebas sensoriales; sin embargo son más difíciles de realizar. El entrenamiento de los jueces debe ser intenso y monitoreado y la interpretación de los resultados es más laboriosa que en los otros tipos de pruebas (Lawless et al., 1999).

Las pruebas descriptivas involucran la detección (identificación y discriminación) y la descripción cualitativa y cuantitativa de propiedades sensoriales de un producto por medio de la participación de entre 5-15 jueces entrenados. Estos jueces deben ser capaces de describir los atributos sensoriales percibidos en el producto. Estos aspectos cualitativos definen un producto y lo diferencian de otro en cuanto a propiedades de apariencia, olor, sabor y textura. Además, los jueces deben aprender a diferenciar y cuantificar la intensidad de distintos atributos para asignarle un valor numérico que lo represente (Meilgaard et al., 1999).

Estas pruebas se pueden utilizar para obtener una detallada descripción del sabor, olor, apariencia y textura de alimentos, bebidas y otros productos, como los de perfumería. Estos métodos son muy usados para el desarrollo de productos (Lawless et al., 1999), por ejemplo:

- Definir las propiedades sensoriales de un tipo de producto para el desarrollo de uno nuevo.
- Definir las características/especificaciones para el control de calidad de productos.
- Definir y seleccionar atributos de los productos antes de la realización de estudios o análisis afectivos donde se trabaja con jueces consumidores.



- Evaluar los cambios sensoriales de un producto con el propósito de determinar su vida útil.

- Relacionar intensidades de atributos sensoriales con valores obtenidos por determinaciones químicas o físicas realizadas con el uso de instrumentos de laboratorio.

Se han desarrollado prácticas estándar para la realización de ensayos sensoriales, con el fin de minimizar los errores psicológicos y las condiciones físicas de la prueba que pueden influir en el juicio humano. Mediante el control de estos factores se pueden alcanzar resultados confiables. Los aspectos más importantes a tener en cuenta son (Malcolmson, 2005):

**Error de expectativa:** se produce cuando los panelistas poseen información de las muestras antes del ensayo. Esta información puede influir en el juicio, porque los panelistas suelen hallar lo que esperan encontrar. Para evitar este error, los panelistas solo deben manejar la información necesaria que les permita desempeñar la tarea, las muestras se deben codificar para no ser identificadas, los panelistas se deben mantener alejados de la zona de preparación, y la persona que realiza la prueba no puede ser panelista.

**Error de sugerencia:** se produce cuando la reacción de un panelista ante una muestra hace que otros miembros del panel cambien sus juicios. Para evitar este error se utilizan cabinas individuales y no se permiten discusiones durante el ensayo.

**Error de estímulo:** se produce cuando los panelistas son influenciados por diferencias irrelevantes en las muestras como el tamaño, el volumen o el color. Para evitarlo, las muestras se deben preparar en forma idéntica.

## 1.9. Grasa Anhidra de Leche– GAL

Según el Codex y el Código Alimentario Argentino, con el nombre de Grasa Anhidra de Leche, Manteca Anhidra o Butteroil, se entiende el producto graso obtenido a partir de la crema o manteca, por la eliminación casi total del agua y de los sólidos no grasos, por procesos tecnológicamente adecuados.

La Grasa Anhidra de Leche, Manteca Anhidra o Butteroil debe responder a los siguientes requisitos (Código Alimentario Argentino):

**a.- Características Sensoriales**

Aspecto: A 35 – 40 °C líquido algo viscoso, exento de cristales.

Color: Amarillento.

Sabor y aroma: Propio, no rancio, exento de sabores y/u olores extraños o desagradables.

**b.- Características Fisicoquímicas**

En la tabla 1.9 se indican los valores que deben cumplir las características físico-químicas de la manteca anhidra.

**Tabla 1.9: Requisitos físico-químicos para GAL**

REQUISITOS	VALORES	MÉTODO DE ANÁLISIS
Materia grasa (g/100 g muestra)	Min 99,7	FIL 24:1964
Humedad (g/100 g muestra)	Max 0,2	FIL 23A: 1988
Índice de peróxidos (meqO <sub>2</sub> /kg de materia grasa)	Max 0,35	FIL 74A:1991
Acidez grasa (g ác. oleico/100 g de grasa)	Max 0,4	FIL 6B:1989

Fuente: Código Alimentario Argentino

La grasa anhidra de leche es, mayoritariamente, una mezcla heterogénea de triglicéridos, donde se encuentran presentes, minoritariamente, diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos libres, fosfolípidos, glicolípidos, vitaminas A, E, K y D, esteroides como el colesterol que puede encontrarse libre o combinado en ésteres y compuestos aromáticos, especialmente aldehídos y lactonas. (Ordoñez et al., 1998). La grasa de la leche es una fuente importante de lípidos en la dieta y es la responsable del sabor y de la palatabilidad que caracteriza a

los alimentos que la contienen (Dehal et al., 1991). Debido a su significación comercial, el flavor de la manteca y de la grasa anhidra de leche se han estudiado ampliamente. Más de 230 compuestos volátiles han sido identificados en diferentes tipos de manteca y de grasa anhidra de leche. El flavor típico de la manteca fresca es influido por los compuestos carbonilo formados por la oxidación de los ácidos grasos insaturados en la leche. Se ha reportado que algunos compuestos como d-decalactona, d-octalactona, ácido decanoico, ácido dodecanoico, escatol, e indol son contribuyentes importantes en el flavor de grasa anhidra de leche. En la manteca fresca, los niveles de ácido butanoico, ácido caproico, d-decalactona están por encima de su umbral de sabor. Mediante el uso de las técnicas de análisis de dilución de extracto de aroma (AEDA) de las fracciones volátiles de grasa anhidra de leche fresca y almacenada se han determinado diacetilo, ácido butanoico, d-octalactona, escatol, d-decalactona, cis-6-dodeceno-d-decalactona, 1,3-one octen, y 1-hexen-3-ona como potentes contribuyentes al flavor de las mismas. Las concentraciones de 1-octen-3-ona, trans-2-nonenal, y cis-1,5-octadien-3-ona se incrementan durante el almacenamiento de la grasa anhidra de leche a temperatura ambiente (Shahidi y Zhong, 2005). La Tabla 1.10 muestra los compuestos responsables del flavor detectados por AEDA en un destilado de manteca.

Los factores de dilución (FD) más altos que se han encontrado corresponden a d-decalactona, escatol, cis-6-dodeceno-g-lactona, y diacetilo seguido de trans-2-nonenal, cis, cis-3,6-nonadienal, cis 2-nonenal, y 1-octen-3-ona.

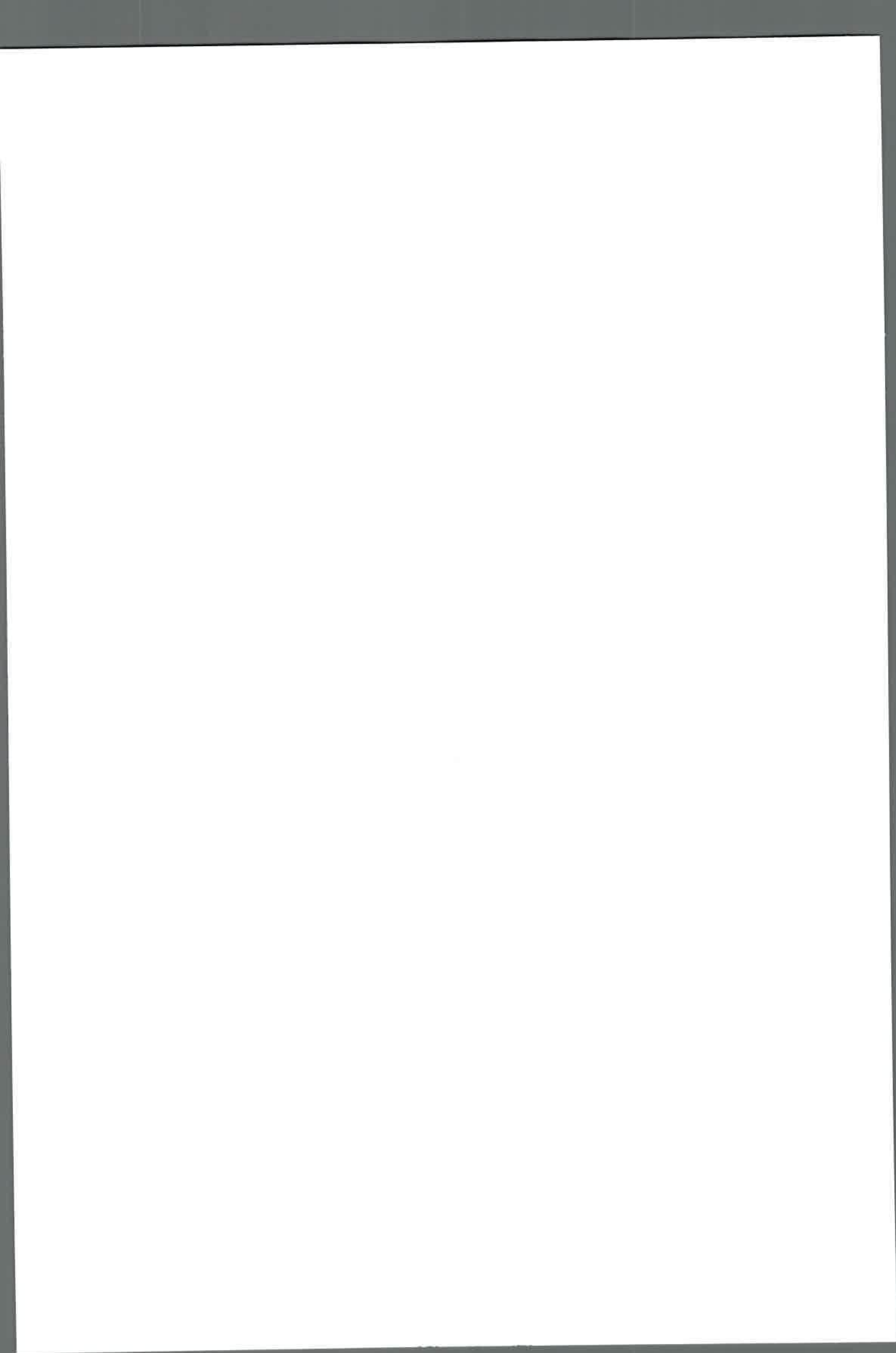
La grasa anhidra de leche es una excelente forma de almacenar y transportar la grasa láctea ya que requiere menor espacio que la manteca, que era la forma tradicional de manipular la grasa de la leche. La manteca se utiliza como un producto fresco, aunque puede almacenarse de 4 a 6 semanas a una temperatura de 4 °C. Cuando es necesario un período de almacenamiento mayor (10 a 12 meses), entonces se recomienda una temperatura de -25 °C (Gösta, 2003).

**Tabla 1.10: Factor de dilución de los compuestos responsables del flavor**

Compuesto	FD (Factor de dilución del flavor)	Flavor
Diacetilo	256	A manteca
1-penten-3-ona	32	A vegetal
Hexanal	8	Verde
1-octen-3-ona	8	A champignon
Cis,cis-3,6-nonadienal	64	Jabonoso
Cis-2-nonenal	64	Grasoso, verde
Trans-2-nonenal	128	Verde, seboso
Trans,trans-2,4-nonadienal	8	A cera, grasoso
Trans,trans-2,4-nonadienal	32	A cera, grasoso
$\gamma$ -octalactona	64	A coco
Trans-4,5-epoxi-trans-2-decenal	32	Metálico
Escatol	512	A naftalina
$\delta$ -decalactona	4096	A coco
Cis-6-dodeceno- $\gamma$ -lactona	512	A durazno
Ácido acético	128	Acre
Ácido butanoico	512	A manteca, dulce
Ácido hexanoico	32	Acre, rancio

Fuente: *Shahidi y Zhong, (2005)*

El deterioro de la calidad de la manteca, al igual que en otros productos grasos, se debe a los procesos de lipólisis y de autooxidación, los que conducen a la aparición de olores y sabores extraños, comúnmente conocidos como flavor a rancio. En la grasa anhidra de leche estos procesos se producen mucho más lentamente, lo que prolonga el tiempo de conservación del producto. La grasa anhidra de leche puede conservarse durante 12 meses sin necesidades de refrigeración, observando que las condiciones de ventilación sean correctas y el producto se mantenga alejado de la luz, en envases herméticos e impermeables al oxígeno; a -12 °C puede conservarse durante 2 años y a -18 °C durante más de 2 años (Boudreau et al., 1985). En los países

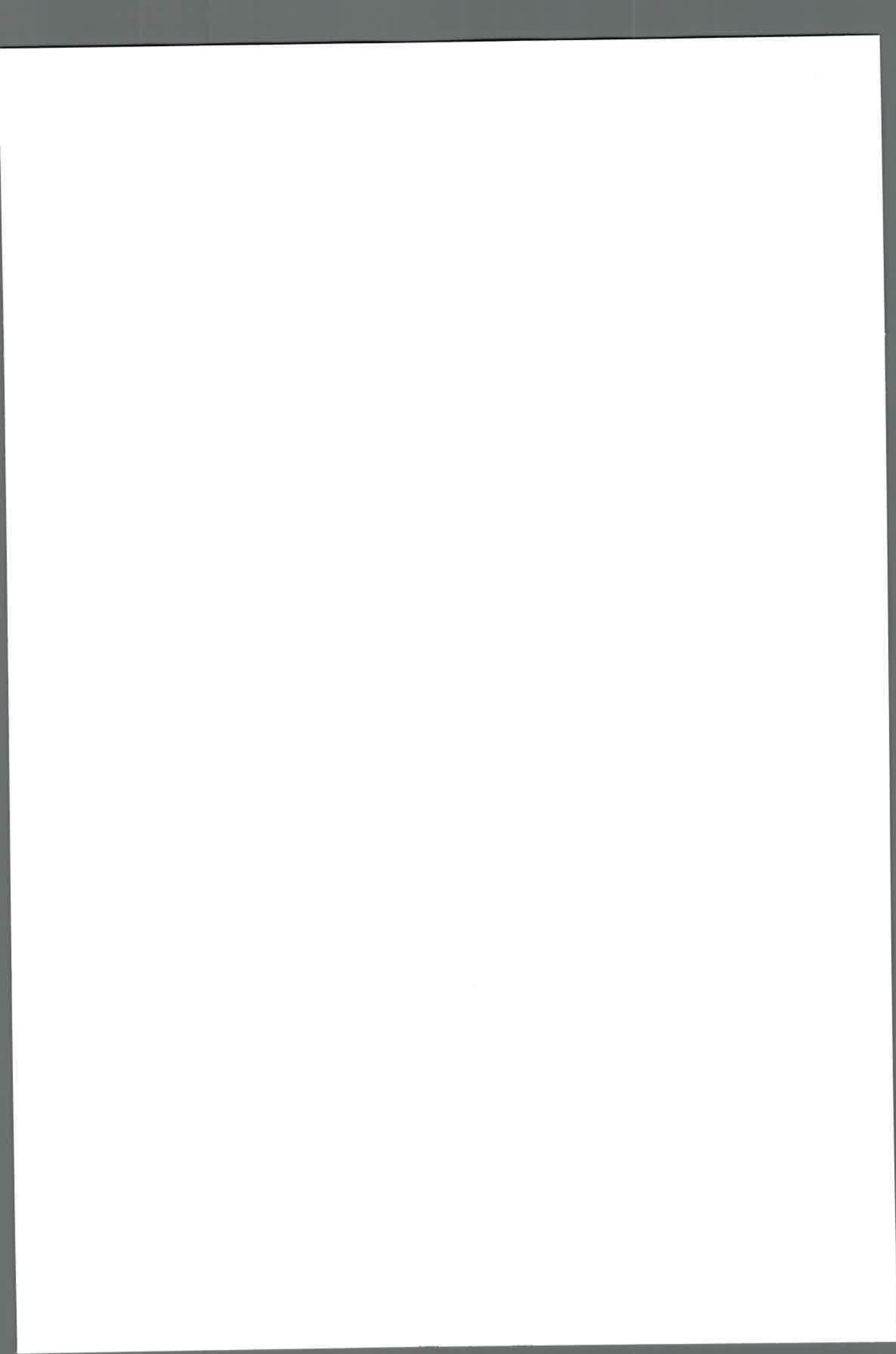




tropicales, donde la temperatura suele superar los 30 °C, el deterioro oxidativo ocurre con mayor rapidez, por lo que existe un mayor riesgo de que en la grasa anhidra de leche almacenada aparezca un flavor a rancio. En estos casos se sugiere refrigerar a 10 °C (Hettinga, 2005). Con respecto a ciertas propiedades organolépticas, como apariencia y textura, la grasa anhidra de leche tiene varias ventajas sobre la manteca tradicional. Ésta está sujeta a las variaciones estacionales, que afectan a sus propiedades físicas. Las ventajas de la grasa anhidra de leche están vinculadas a la posibilidad de estandarizar sus propiedades físicas, por la selección y mezcla de las materias primas utilizadas en la producción.

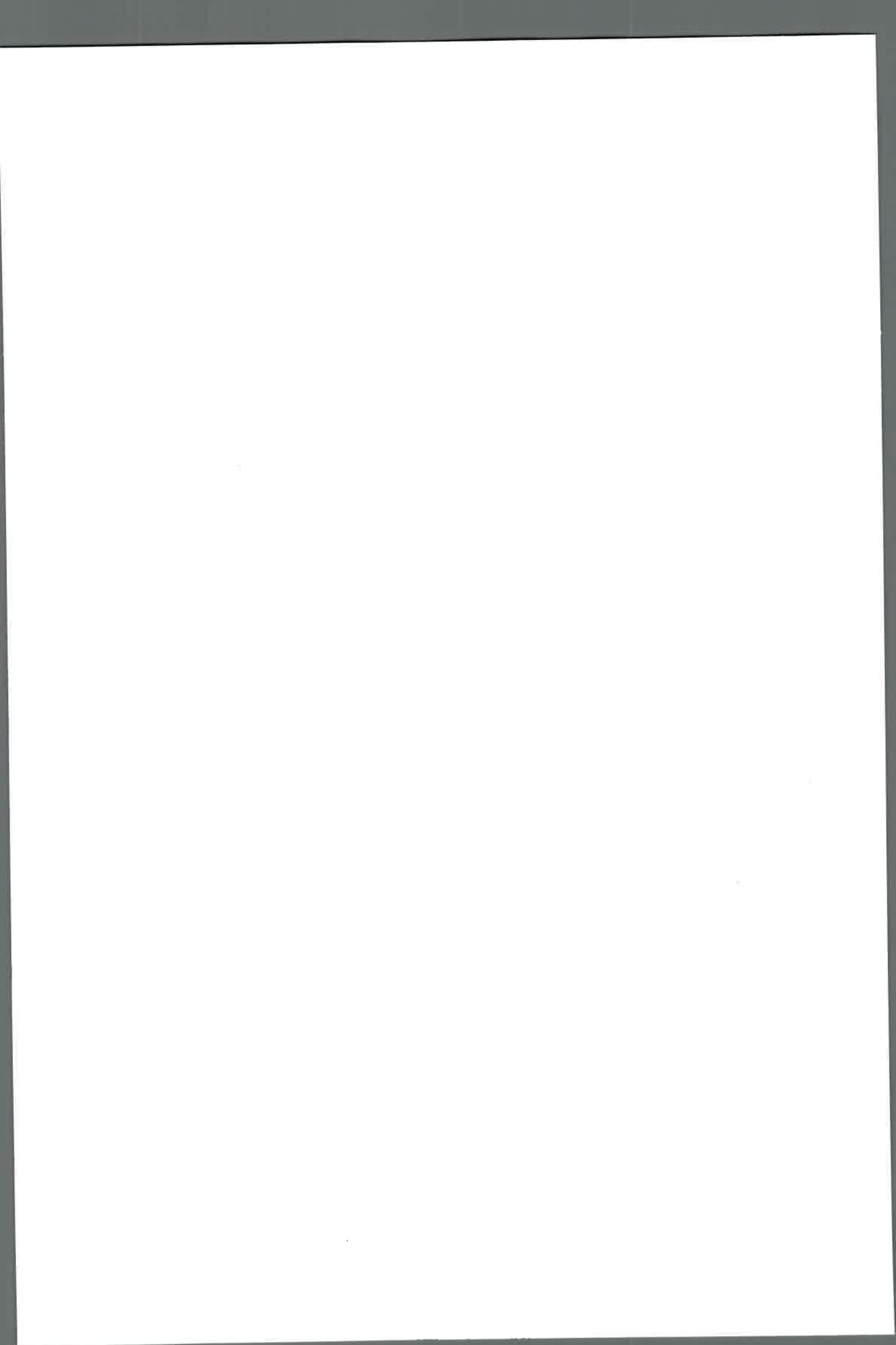
Un precursor de la grasa anhidra de leche lo constituye el ghee, producto muy difundido en la India, Pakistán y Egipto. El ghee se elabora partiendo de crema fresca o de manteca de leche de vaca o de búfalo. La manteca se calienta a temperaturas de 100 – 110 °C durante algunas horas, de manera de evaporar casi la totalidad del agua presente. La desaparición de la espuma en la superficie indica que el contenido acuoso es menor al 1%, con lo que la etapa de concentración por calentamiento ha terminado, y el producto es filtrado para separar los sólidos no grasos que se depositan en el fondo del recipiente. Generalmente adquiere una coloración marrón debido a la reacción de Maillard y un sabor característico, mucho más pronunciado que el de la grasa anhidra de leche (Boudreau et al., 1985).

La producción de grasa anhidra de leche tiene lugar principalmente según dos métodos; en uno se obtiene a partir de crema de leche, y en el otro a partir de manteca. Cuando se parte de crema con un 35 – 40% de grasa, esta se precalienta a 60 °C y se envía a una separadora centrífuga, donde la grasa se concentra hasta el 75%. Luego se hace pasar por un homogeneizador, donde se produce la inversión de fase (ingresa una emulsión de grasa en agua y egresa una emulsión de agua en grasa; aquí, a la salida, la grasa es la fase continua). Luego la emulsión se envía a otra separadora centrífuga, donde la grasa se concentra hasta el 99,5%, para pasar luego a un intercambiador que la calienta hasta 90 – 95 °C. Luego es dirigida hacia una cámara de vacío, donde la humedad se reduce al 0,1%. A continuación se enfría a 35 – 40 °C



para efectuar el envasado (Gösta, 2003). Cuando se parte de manteca, esta se precalienta a 60 °C en un intercambiador y luego se bombea a una separadora centrífuga donde la grasa se concentra hasta el 99,5%. Se procede luego a enviarla a un intercambiador de calor de placas para la calefacción hasta 90 – 95 °C, y desde allí a un recipiente de vacío, donde la humedad se reduce al 0,1%. Finalmente, se enfría a la temperatura de envasado de 35 - 40 °C.

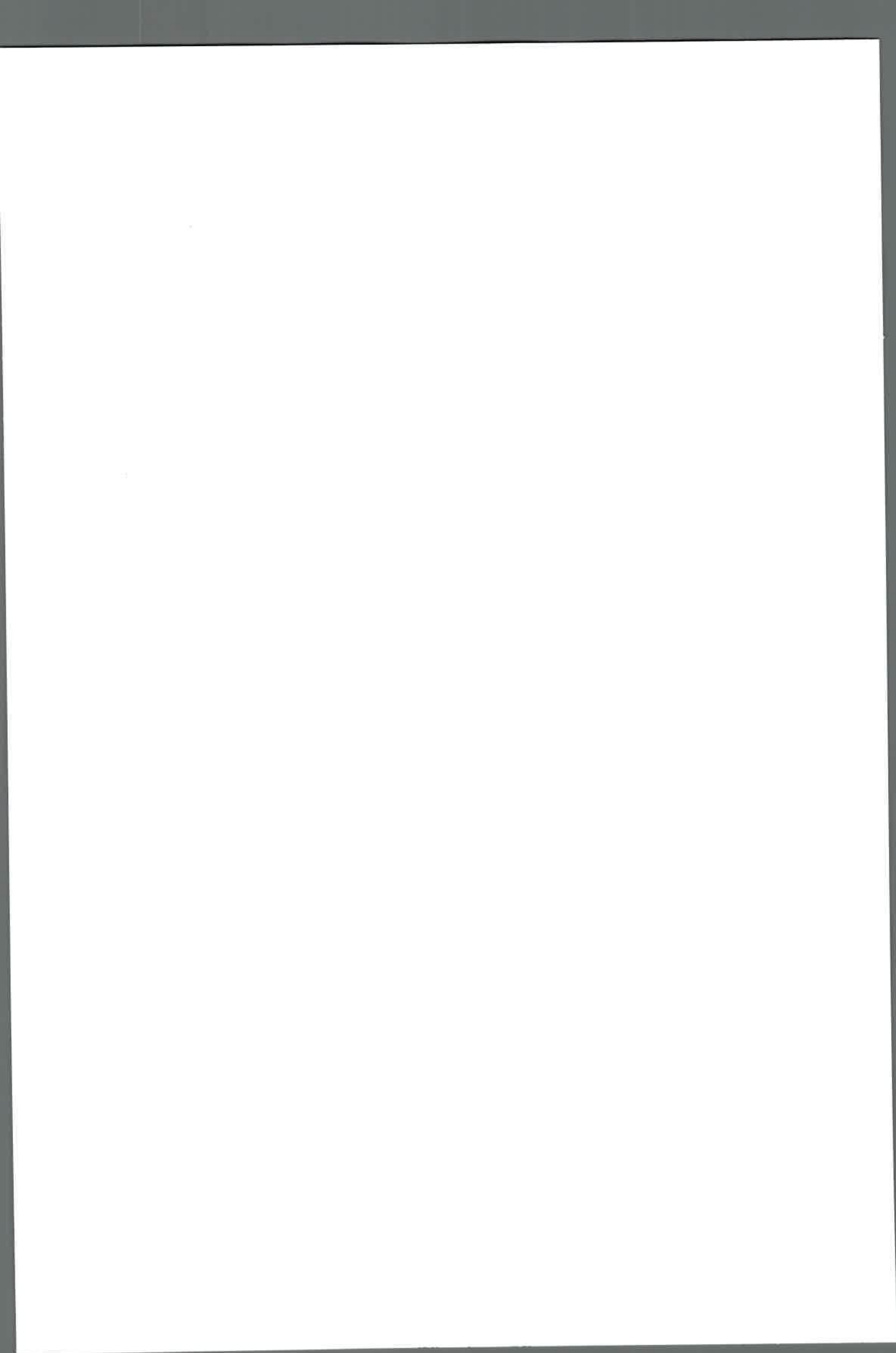
A escala mundial, la demanda de manteca está en disminución, entre otras cosas, porque está aumentando la utilización de grasa anhidra de leche. Uno de los campos de aplicación donde el uso de grasa anhidra de leche se incrementa es en la obtención de leche recombinada (es la leche líquida obtenida mediante la adición de agua a leche desnatada en polvo y la adición de grasa anhidra de leche por separado en una cantidad tal que se consiga el contenido de grasa deseado) y de productos lácteos recombinados (se fabrican mediante la mezcla de grasa anhidra de leche y sólidos no grasos (ESNG), con agua). Esta combinación se debe hacer con el fin de restablecer la grasa especificada a la proporción de sólidos lácteos no grasos y la materia seca (MS) a la proporción de agua (Gösta, 2003). Se utiliza también en mezclas con aceites vegetales; en Suecia, el producto Bregott, contiene 80% de grasa, de los cuales 80% es grasa de leche y el 20% es aceite de soja; el producto, Latt y Lagom, contiene 39 a 41% de grasa, de los cuales 60% es grasa de leche y 40% es aceite de soja. En EEUU, la firma Land O'Lakes produce el Blend, con un contenido graso del 80% de los cuales, el 60% es grasa de leche y el 40% proviene de aceites vegetales (Hettinga, 2005). En Europa, se está fabricando ghee adicionando butirato de etilo a la grasa anhidra de leche. También se utiliza en los productos de panificación y pastelería, para modificar las propiedades reológicas de las masas, en la fabricación de productos nutracéuticos, y en la producción de cremas heladas (Gösta, 2003).



## CAPÍTULO 2



## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



## **2. CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo General**

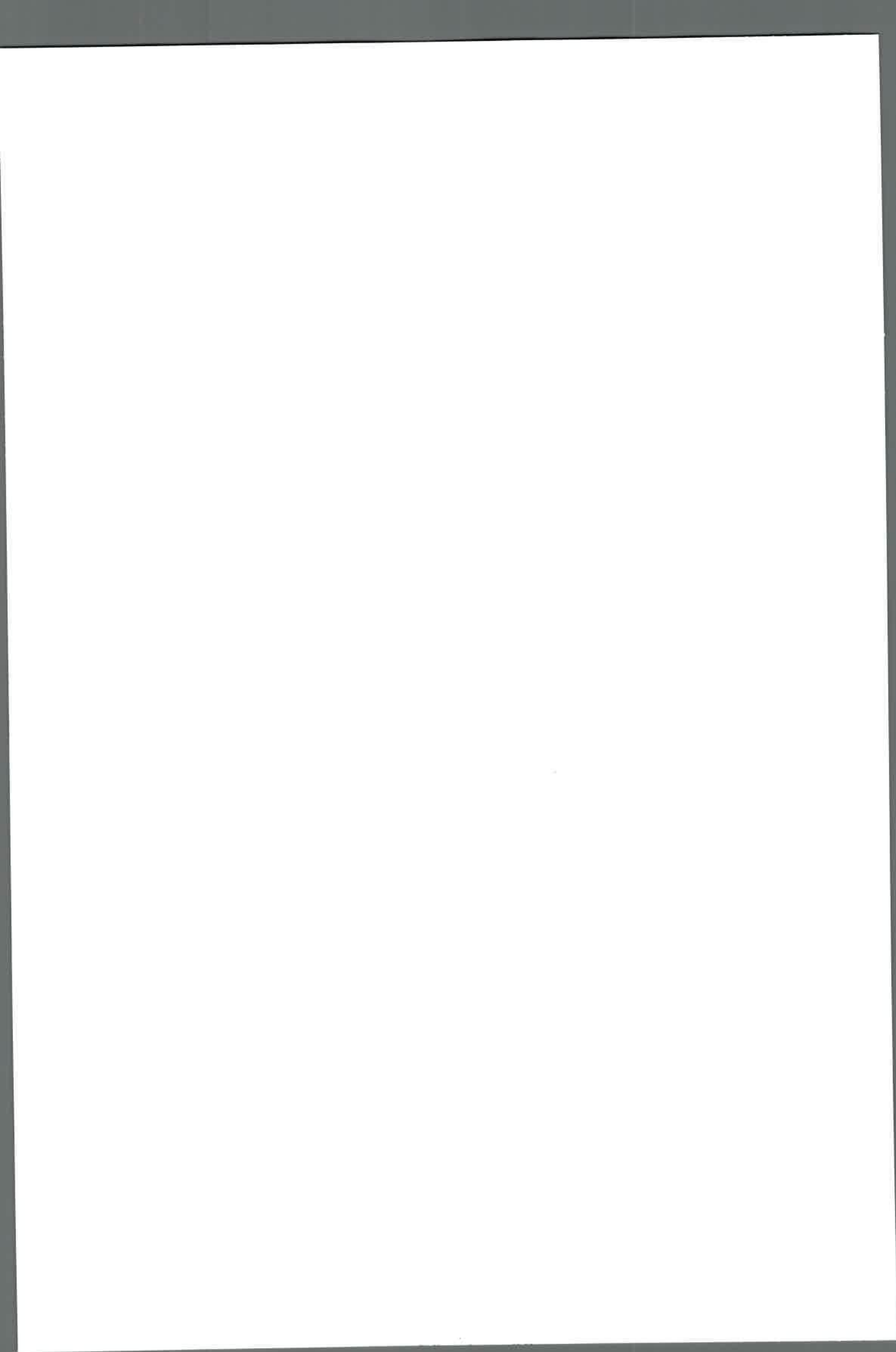
Obtener grasa anhidra de leche a partir de crema de leche y manteca. Evaluar la estabilidad química y sensorial en ambas muestras de grasa anhidra de leche como indicadores de la calidad alimenticia.

### **2.2. Objetivos Específicos**

Para lograr el objetivo general, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- 1.- Analizar la composición química de las materias primas, crema de leche y manteca, a utilizar para la obtención de grasa anhidra de leche.
- 2.- Optimizar las condiciones de los procesos de obtención de grasa anhidra de leche.
- 3.- Determinar la composición química y nutricional de las grasas anhidras de leche.
- 4.- Evaluar la calidad de los lípidos de las grasas anhidras de leche.
5. Evaluar las propiedades sensoriales de las muestras de grasa anhidra de leche elaboradas con ambas materias primas.
- 6.- Estudiar la conservación de la grasa anhidra de leche almacenada a temperatura evaluando los cambios químicos.





## CAPÍTULO 3



## MATERIALES Y MÉTODOS

### 3. CAPÍTULO 3. *MATERIALES Y MÉTODOS*

#### 3.1 Materiales

Se utilizaron como materias primas de los ensayos, manteca marca comercial La Serenísima, elaborada por la firma Mastellone Hnos., crema marca comercial Iloay, elaborada por la firma Sucesores de Alfredo Williney S.A. y grasa de leche anhidra marca Corlasa donada por la empresa CORLASA S.A., Santa Fe, Argentina.

Se utilizaron para la realización de la tesis las instalaciones del laboratorio de investigación SIMAP perteneciente al Departamento de Tecnología Química de la U.N.R.C. Estos laboratorios están provistos del siguiente equipamiento: Centrifuga de laboratorio, espectrofotómetro, estufa de vacío, mufla, extractor Soxhlet, estufa con recirculación de aire y equipamiento básico de laboratorio, como balanza de precisión y utensilios de vidrio.

#### 3.2 Metodología

##### *Determinación de la composición química de las materias primas*

**3.2.1 Metodología para el Objetivo 1:** Análisis de la composición química de las siguientes materias primas: muestras comerciales de crema de leche de vaca y manteca de leche de vaca.

##### **3.2.1.1 Composición química y nutricional**

**Humedad:** se determinó mediante la desecación de las muestras en estufa a 110 °C durante 2 h (AOAC, 1990).

**Cenizas Totales:** Se incineró una muestra en horno mufla a 600 °C durante 6 horas. El porcentaje se determinó por diferencia de peso de la muestra antes y después de la incineración utilizando la siguiente fórmula (AOAC, 1990):

$$\% \text{ de cenizas} = W_{DI} \cdot 100 / W_{AI}$$

Donde:

$W_{DI}$ : peso de la muestra al final de la incineración

$W_{AI}$ : peso de la muestra antes de la incineración

**Lípidos totales:** se determinó según AOAC (1990), extracción en equipo Soxhlet (FIL 80, 1977). Se realizó la extracción de los lípidos de la muestra utilizando equipos Soxhlet con n-hexano, por un período de 12 horas. La materia grasa se calculó por diferencia de peso de la muestra antes y después de la extracción, según la fórmula (Grosso et al., 2002):

$$\% \text{ de aceite} = \text{peso de aceite} \times 100 / \text{peso muestra}$$

### ***Proceso de obtención de grasa anhidra de leche***

**3.2.2 Metodología para el Objetivo 2:** Obtención de grasa anhidra de leche. La elaboración de grasa anhidra de leche se llevó cabo partiendo de muestras comerciales de crema fresca de leche de vaca y de manteca de leche de vaca.

#### **3.2.2.1 Obtención de grasa anhidra de leche a partir de crema (GALC)**

La muestra de crema con un contenido del 35 – 40% de grasa se precalentó a 60 °C (Gösta, 2003) y se sometió a una etapa de centrifugación durante 10 minutos a 4200 rpm. Al finalizar esta etapa, en los tubos de ensayo se visualizaban dos fases bien diferenciadas: una superior – la fase grasa – que ocupaba el 50% del volumen, de color amarillo suave, opaca y una inferior – la fase acuosa – de color blanco. Se recogió de cada tubo, la fase superior con ayuda de una pipeta. Se volvió a calentar a 60 °C y se sometió a una segunda etapa de centrifugación, durante 5 minutos a 4200 rpm. Al finalizar esta etapa, en los tubos de ensayo se visualizaban dos fases bien diferenciadas: una

superior – la fase grasa – de color amarillo suave, transparente, que ocupaba el 95% del volumen, y una inferior – la fase acuosa – de color blanco. Se separó de cada tubo la fase superior que tenía una concentración de 99,5% de materia grasa. Luego se sometió a un secado al vacío (66 cm de Hg) a una temperatura de 90 °C durante 30 minutos en una estufa de vacío.

### **3.2.2.2 Obtención de grasa anhidra de leche a partir de manteca (GALM)**

La muestra de manteca se fundió, se calentó hasta 60 °C (Gösta, 2003) y se sometió a una etapa de centrifugación, durante 5 minutos a 4200 rpm. Al finalizar esta etapa, en los tubos de ensayo se visualizaban dos fases bien diferenciadas: una superior – la fase grasa – de color amarillo suave, transparente, y que ocupaba el 80% del volumen y una inferior – la fase acuosa – de color blanco. Se recogió de cada tubo, la fase superior con ayuda de una pipeta. Luego se sometió a un secado al vacío (66 cm de Hg) a una temperatura de 90 °C durante 30 minutos en una estufa de vacío.

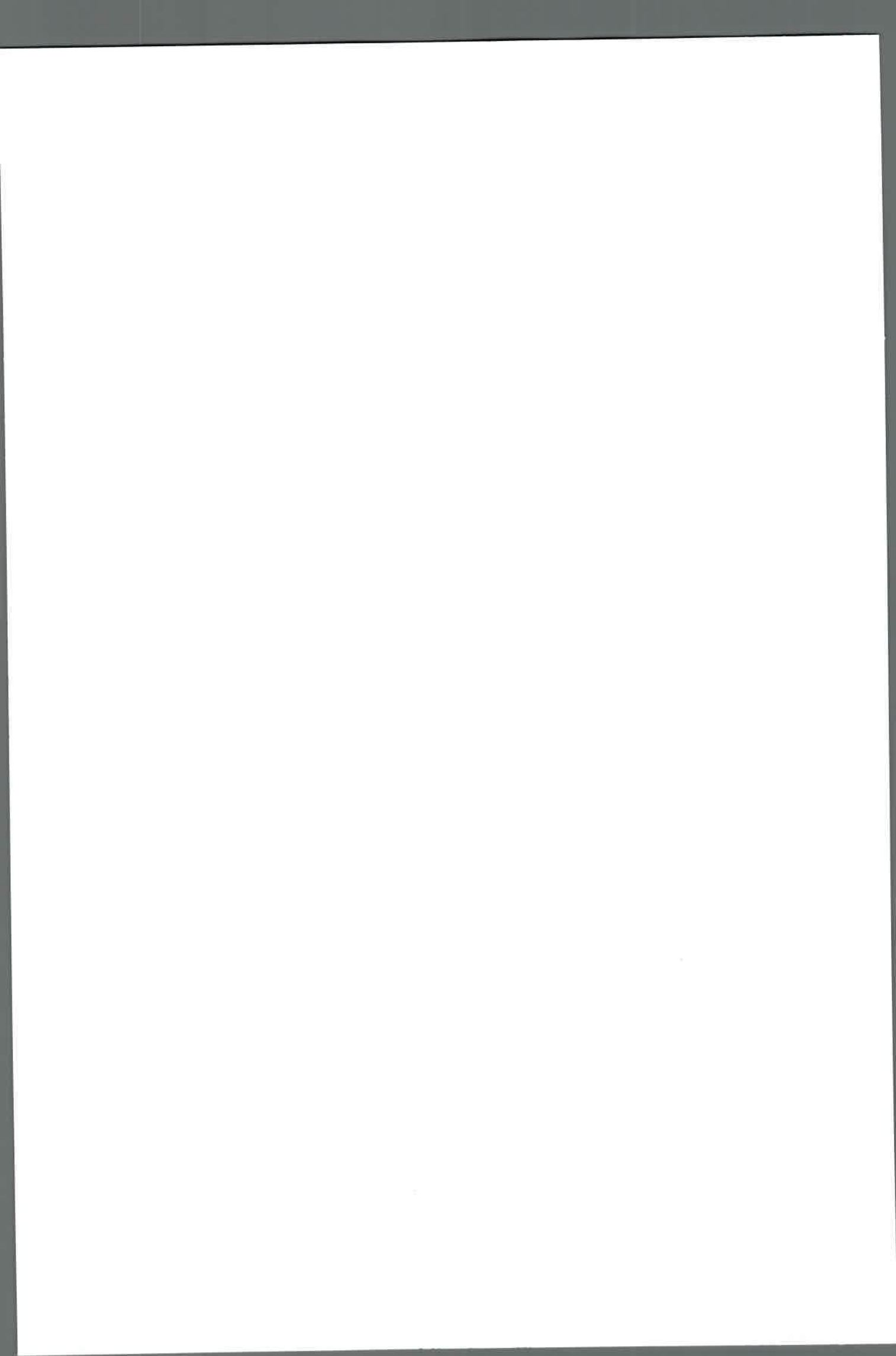
### ***Determinación de la composición química de las muestras de grasa anhidra de leche***

**3.2.3 Metodología para el Objetivo 3:** Análisis de la composición química de las muestras de grasa anhidra de leche obtenidas según los procedimientos descritos en 3.2.2.

La composición química se determinó siguiendo la metodología aplicada en el Objetivo 1.

### ***Análisis de indicadores de oxidación de los lípidos de las muestras de grasa anhidra de leche***

**3.2.4 Metodología para el Objetivo 4:** Evaluación de calidad de los lípidos de las muestras de grasa anhidra de leche.



### 3.2.4.1 Índice de peróxido (AOAC, 1990)

Este indicador fue evaluado de acuerdo al método 28.022 de la AOAC (1990) usando 5 g de grasa anhidra de leche de cada muestra. Este método consiste en la reacción en oscuridad de una mezcla de grasa anhidra de leche y cloroformo/ácido acético 2:3 (v/v) con solución saturada de yoduro de potasio. El yodo formado se tituló con una solución 0,1 N de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . El IP se expresó como miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de grasa anhidra de leche ( $\text{meqO}_2/\text{kg}$ ). El valor final se calculó con la fórmula:

$$\text{IP (meqO}_2/\text{kg)} = (\text{volumen en ml de Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \times (0,1\text{N}) \times (1000)/(\text{g GAL}).$$

### 3.2.4.2 Índice de acidez (AOAC, 1990)

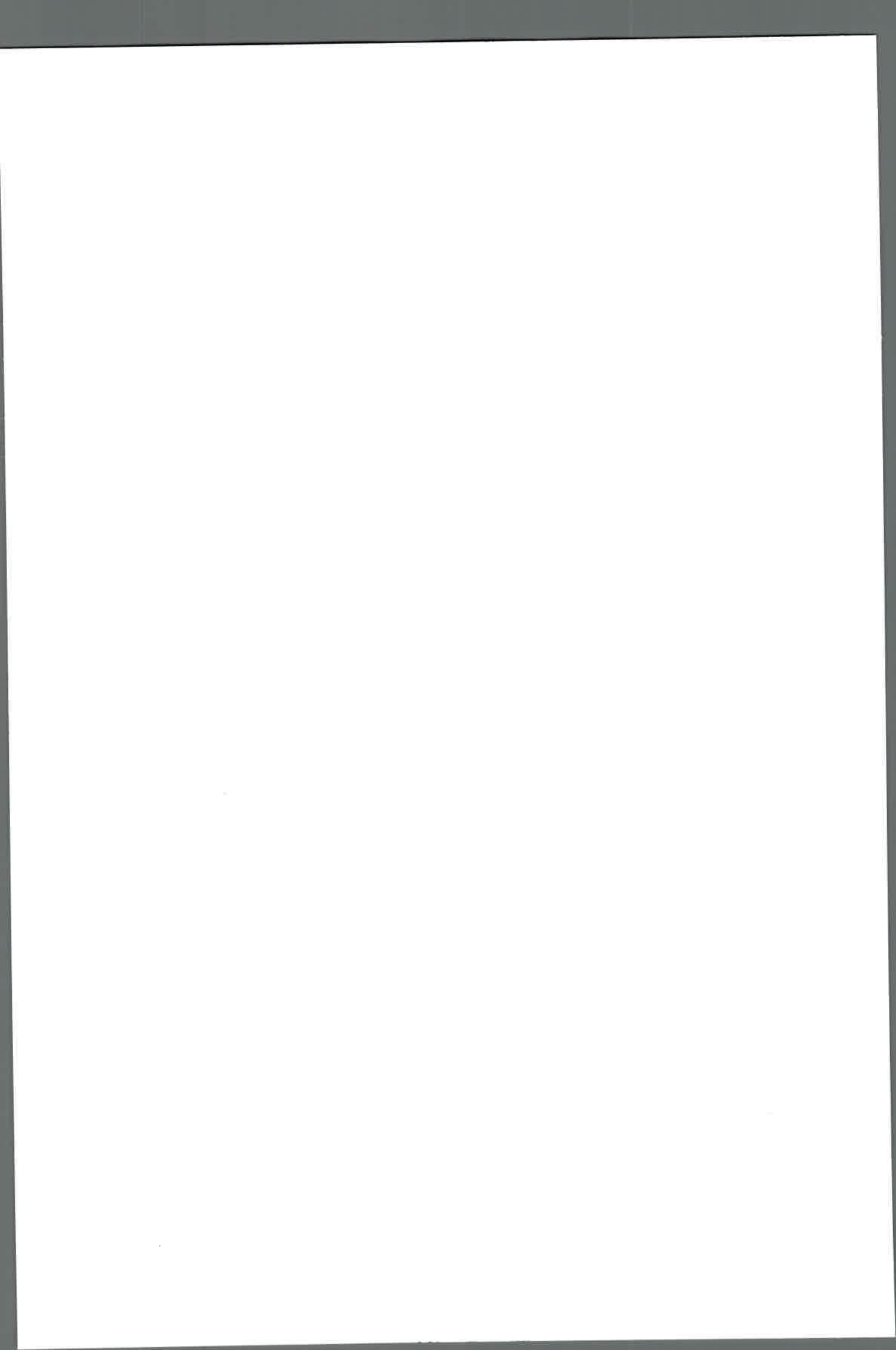
Se evaluó siguiendo el método de la AOAC 14.070 usando 5 g de grasa anhidra de leche de cada muestra a analizar. La grasa anhidra de la leche se disolvió en un disolvente neutro y se valoró la acidez con álcali normalizado. El valor obtenido representa la extensión de la descomposición de los glicéridos de la grasa anhidra de la leche. La muestra de aceite se disolvió en una solución de etanol-metanol (10/1 v/v) y se tituló la acidez con KOH usando fenolftaleína (1% w/v en etanol) como indicador. Los ácidos grasos libres se expresaron como % p/p de ácido oleico en la muestra de grasa anhidra de leche y se calculó con la fórmula (Shahidi y Wanasundara., 2002):

$$\text{IAC} = (\text{volumen en ml de KOH}) \times 282 \times (\text{N de KOH}) / (10 \times \text{g GAL}).$$

### 3.2.4.3 Índice de p-anisidina (IUPAC, 1987)

Este método es comúnmente utilizado para medir productos de oxidación de lípidos que se forman en etapas avanzadas de dicho proceso. Consiste en pesar 0,4-0,5  $\pm$  0,001 g de muestra de grasa anhidra de leche la cual se disuelve en 25 ml de n-hexano en un matraz volumétrico. La absorbancia (Ab) de la solución se mide a 350 nm en un espectrofotómetro (UV-V Espectrofotómetro con arreglo de diodos Hewlett Packard HP 8452 A, USA),





usando n-hexano como blanco. Luego se toma un volumen de 5 ml de la solución oleosa y se mezcla con 1 ml del reactivo p-anisidina. Este último reactivo se prepara con 0,25 g de p-anisidina (Carlo Erba Reagenti, Rodano, Italia) en 100 ml de ácido acético glacial. Se mide la absorbancia de esta solución (As) a 350 nm después de dejar transcurrir exactamente 10 minutos, usando como blanco una mezcla de 5 ml de n-hexano y 1 ml de reactivo p-anisidina. El índice de p-anisidina se calcula por la fórmula:

$$IA = 25 \times (1,2 As - Ab)/m$$

en donde "As" es la absorbancia de la solución oleosa después de la reacción con el reactivo p-anisidina, "Ab" es la absorbancia de la solución oleosa y "m" es la masa en gramos de grasa anhidra de leche.

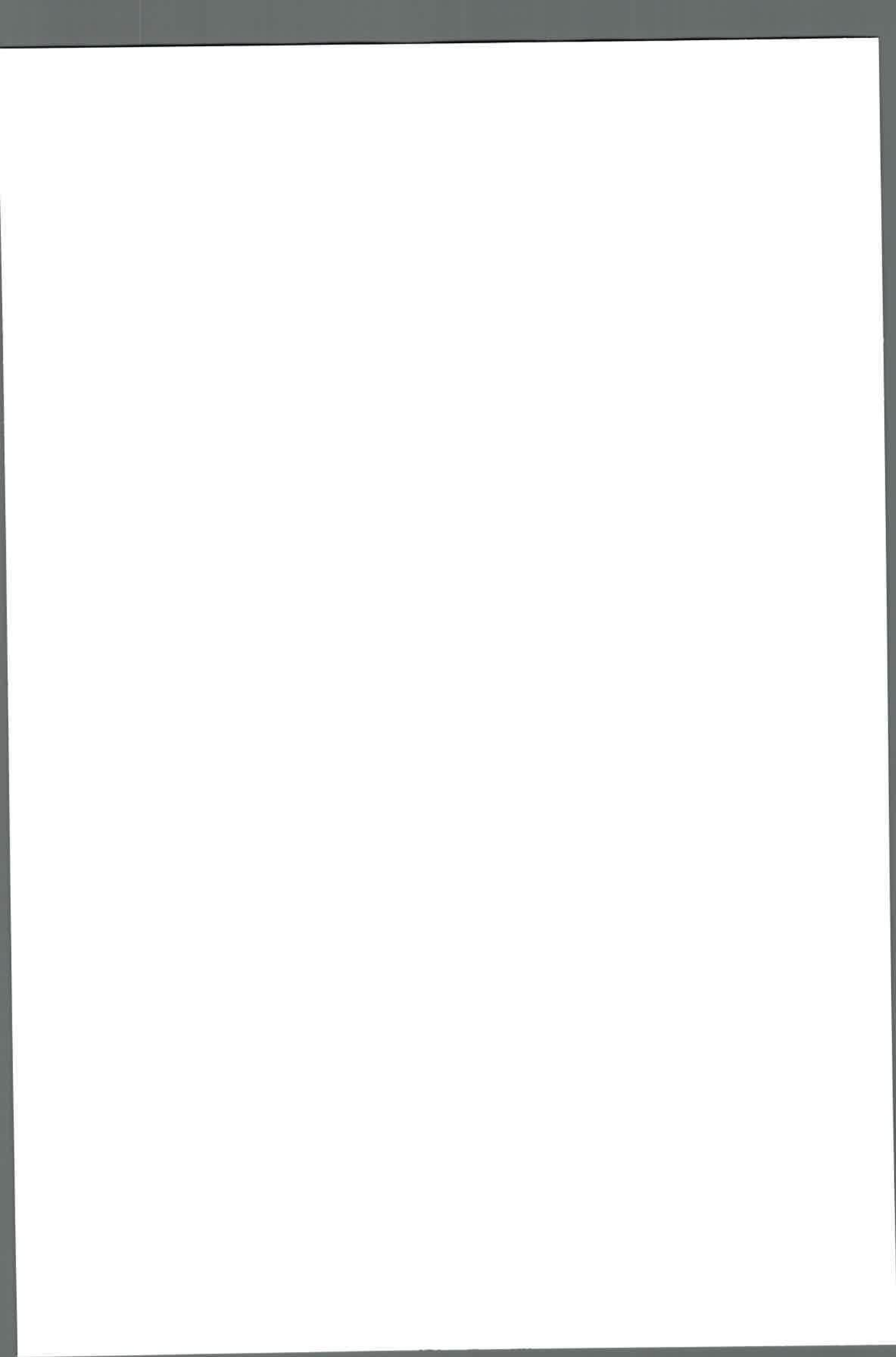
#### **3.2.4.4 Dienes y Trienos conjugados (COI, 2001)**

Se pesaron entre 0,005-0,02 g de las muestras a determinar y se colocaron separadamente en tubos de ensayos. Se completó con 6 ml de n-hexano. Las soluciones resultantes se homogeneizaron y una alícuota de cada una de las mismas se utilizó para medir la absorbancia a 232 nm (k232) y 268 nm (k268), utilizándose n-hexano como blanco (COI, 2001).

#### **Cambios de los indicadores de oxidación de los productos obtenidos durante el almacenamiento**

**3.2.5 Metodología para el Objetivo 5:** Estudio de la conservación de la grasa anhidra de leche.

La grasa anhidra de leche se almacena a temperaturas de 22 °C y de 60 °C, en frascos de vidrio introducidos en bolsas flexibles de polietileno "Ziploc" (20 x 30 cm), con sellado hermético. El período de almacenaje es de tres meses aproximadamente. Durante este lapso de tiempo se realizan 4 extracciones de muestras cada 21 días. Los productos almacenados son sometidos a los



siguientes análisis químicos para evaluar los cambios en los indicadores de oxidación y deterioro: **1)** Índice de peróxido (AOAC, 1980), **2)** Índice de acidez (AOAC, 1980), **3)** Índice de p-anisidina (IUPAC, 1987), **4)** Dienos y trienos conjugados (COI, 2001).

### **3.2.6. Análisis descriptivos de los productos de grasa anhidra de leche elaborados**

**3.2.6.1. Análisis sensorial del alimento:** se realizan pruebas descriptivas y pruebas de aceptabilidad de consumidores.

#### **3.2.6.1.1. Pruebas descriptivas**

Se realizó un análisis descriptivo; para tal fin se utilizó un panel constituido por jueces que fueron previamente entrenados de acuerdo a lo recomendado por Lawless y Heymann (1999) y por la metodología seguida por Grosso y Resurrección (2002) y Nepote et al. (2004). La finalidad de esta parte del estudio fue conocer cuantitativa y cualitativamente los atributos sensoriales de los diferentes productos frescos.

#### **3.2.6.1.2 Procedimiento**

La prueba descriptiva fue realizada por un grupo de 6 jueces entrenados (5 mujeres y 1 hombre).

El reclutamiento, selección, entrenamiento y monitoreo de los jueces está reglamentado en las normas ISO 229351:2012 (IDF, 99), que establece los siguientes requisitos:

- Interesados en participar.
- Disponibles para cada sesión (tanto para el entrenamiento como para la evaluación).

- Que estén capacitados para expresarse verbalmente sobre el producto.
- Consumidores de manteca o sus subproductos al menos una vez al mes.
- Edad entre 18 y 65 años.
- No fumadores.
- Sin alergia alimentaria.
- Con buena dentición.

### 3.2.6.1.3 Entrenamiento

Los jueces fueron entrenados durante 6 días, 3 horas por día. En los primeros días se analizaron exhaustivamente las muestras para determinar cuáles eran los atributos de interés, y se seleccionaron las referencias apropiadas. Luego se realizó la calibración del panel.

Al finalizar el entrenamiento cada juez estuvo capacitado para describir la intensidad de los atributos de los productos, previamente establecidos, utilizando una escala lineal no estructurada en un rango de 0 a 150 mm. Durante el entrenamiento se describieron y definieron los atributos. Posteriormente, los jueces acordaron los puntajes de las intensidades de dichos atributos, los cuales se presentan en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1. Atributos, definición y referencias, según intensidades de los mismos utilizados para la prueba descriptiva.**

Atributo	Definición	Referencia con puntaje (cm)
<b>Brillo</b>	Cantidad de luz reflejada al observar las superficies desde un ángulo de 45°	Papel madera (0) Plástico cristal (11)
<b>Dureza</b>	Fuerza necesaria para introducir una cuchara en la manteca con un ángulo de 90° hasta llegar al centro de la muestra	Queso Fontina fundido (1) Manteca (6) Margarina (5)
<b>Migajosidad</b>	Desgranamiento de la muestra al cortarla con un cuchillo serrucho en un ángulo de 90°	Margarina (0) Manteca (5) Mantecol (9)
<b>Untabilidad</b>	Facilidad para untar una lámina de 0,3 cm x 1 cm sobre una tostada	Margarina (11) Manteca (9) Queso Fontina fundido (14)
<b>Color Amarillo</b>	Escala de amarillo	Dilución de colorante amarillo de quinoleina (E104) en leche entera en tres concentraciones C1 (5), C2 (8,5), C3 (13)
<b>Olor a queso</b>	Olor a queso amarillo, maduro.	Queso Parmesano rallado (11) Manteca (1)
<b>Olor a manteca artificial</b>	Olor de popcorn de manteca, aceite vegetal saborizado a manteca	Fritolín de manteca (4) Popcorn de manteca (7)
<b>Olor a aceite vegetal</b>	Aromáticos asociados con aceite vegetal	Aceite de girasol "Natura" (2) Aceite de oliva extra virgen "Cocinero" (7)
<b>Olor a grasa láctea/lactona</b>	Característica aromática de la grasa láctea, láctonas y coco	Crema de leche a temperatura ambiente (5)

**Tabla 3.1. Atributos, definición y referencias, según intensidades de los mismos utilizados para la prueba descriptiva.**

<b>Olor a rancio</b>	Olor característico de grasas animales rancias	Manteca fresca (0) Manteca rancia (10,5)
<b>Granulosidad</b>	Tamaño y definición de los gránulos (cristales de grasa sólida) perceptibles al presionar la muestra entre la lengua y el paladar	Queso Parmesano rallado (15) Azúcar común tipo A (9) Edulcorante en polvo (0,5)
<b>Tasa de derretimiento</b>	Velocidad del fundido de una muestra dentro de la boca al presionar la lengua contra el paladar	Cubo de 1x1x0,3 cm <sup>3</sup> de manteca (3) Chocolate con leche Cofler (1 cuadrado) (13)
<b>Olor a cocinado</b>	Aroma asociado con leche cocinada y maíz enlatado	Leche con 3% de grasa calentada en microondas durante 3 minutos (6)
<b>Gusto dulce</b>	Sabor estimulado por la lactosa	Diluciones de lactosa (0,05; 0,10 y 0,15 gr/ml) (2; 6; 8)
<b>Recubrimiento de la boca</b>	Grado en el que el film graso recubre la muestra luego de la deglución	Aceite de girasol "Natura" (5) Aceite de oliva extra virgen "Cocinero" (8)



#### 3.2.6.1.4 Evaluación de las muestras

Todas las muestras fueron presentadas en cubos de 2,15 x 3,25 x 2,4 cm<sup>3</sup> (Figura 3.1). Las temperaturas de la muestra (14±2 °C) y de la sala de degustación (20 °C) fueron las dictaminadas por las normas ISO 22935-1 (2012). Las muestras fueron evaluadas en la sala de degustación con luz fluorescente.



Figura 3.1

Muestra de GAL manteca

La prueba descriptiva se realizó con el panel de jueces entrenados. A cada juez se le entregaron los cubos de cada muestra, distribuidos en hieleras de plástico, codificadas con números de tres dígitos al azar. Los jueces evaluaron el producto por triplicado. El análisis se realizó en un solo día evaluando las 9 muestras. En la evaluación, se les entregó además la planilla de intensidades de referencia. Los datos fueron registrados en planillas con escala lineal no estructurada en un rango de 0- 150 mm.

#### 3.2.6.2 Aceptabilidad de consumidores

El análisis de aceptabilidad de consumidores se efectuó de acuerdo a lo recomendado por Resurrección (1998), Lawless y Heymann (1999) y Carpenter et al. (2002). La prueba de aceptabilidad fue realizada por un panel de al menos 100 consumidores de la ciudad de Río Cuarto (Argentina) según los siguientes criterios: entre 18 y 65 años de edad, no fumadores, sin alergias a

comidas, consumidores de manteca o de productos elaborados con manteca, más de dos veces por semana. Para la evaluación de las muestras se untaron en galletas de agua sin sal las distintas mantecas, se colocaron en platos plásticos rotuladas con un número elegido al azar de 3 cifras (GAL crema: 289, GAL manteca: 456 y GAL industrial: 123). Para la realización del análisis se sirvió al jurado el producto, 3 réplicas de cada uno de los productos en un orden aleatorio, con un vaso de agua y una planilla. Los miembros del jurado fueron instruidos para que consumieran la muestra y para que se enjuagaran la boca con el agua entre muestra y muestra para reducir al mínimo cualquier efecto residual. El análisis se realizó sobre una escala hedónica que se extendía desde 1: "me disgusta muchísimo" hasta 9: "me gusta muchísimo" para evaluar la aceptabilidad de GAL crema, GAL manteca y GAL industrial (Peyram et al., 1957). En la Figura 3.2 se muestra la planilla que se entregó a cada juez consumidor para la evaluación de aceptabilidad.

**Figura 3.2. Planilla aceptabilidad de GAL**

<b>GRASA LÁCTEA ANHIDRA</b>			
<b>PRUEBA DE ACEPTABILIDAD</b>			
Nombre.....		Fecha.....	
<p>Se presentan las siguientes muestras. Por favor, pruébelas y señale con una x (en la columna que corresponda) su grado de aceptabilidad respecto al color, sabor y textura. Si tiene alguna pregunta, realícela ahora.</p>			
<b>COLOR</b>			
	123	289	456
1. Me desagrada muchísimo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Me desagrada mucho	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Me desagrada bastante	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Me desagrada un poco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. No me agrada ni me desagrada	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Me gusta un poco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Me gusta bastante	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Me gusta mucho	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Me gusta muchísimo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Figura 3.2. Planilla aceptabilidad de GAL**

<b>SABOR</b>			
	123	289	456
1. Me desagrada muchísimo			
2. Me desagrada mucho			
3. Me desagrada bastante			
4. Me desagrada un poco			
5. No me agrada ni me desagrada			
6. Me gusta un poco			
7. Me gusta bastante			
8. Me gusta mucho			
9. Me gusta muchísimo			

<b>TEXTURA</b>			
	123	289	456
1. Me desagrada muchísimo			
2. Me desagrada mucho			
3. Me desagrada bastante			
4. Me desagrada un poco			
5. No me agrada ni me desagrada			
6. Me gusta un poco			
7. Me gusta bastante			
8. Me gusta mucho			
9. Me gusta muchísimo			

Muchas gracias por su colaboración

### **3.2.7 Cambios químicos durante almacenaje**

Luego de preparada la grasa anhidra de leche, se almacena en estufas a 22 °C y a 60 °C. Las muestras son empaquetadas en bolsas de polietileno de alta barrera, herméticamente cerradas. El muestreo se realiza cada 21 días y por un período 3 meses. Las muestras son analizadas químicamente.

#### **3.2.7.1 Cambios químicos**

Para determinar los cambios químicos en muestras provenientes del almacenaje se sigue la misma metodología utilizada en el Objetivo 4.

### **3.2.8 Análisis estadístico de datos**

Todos los experimentos se realizan en tres repeticiones. Sobre los resultados se efectúan los siguientes cálculos estadísticos utilizando el programa Infostat (desarrollado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina, 2002): i) Promedios y desvíos estándar, ii) Análisis de varianza y test de LSD Fisher para establecer diferencias significativas entre tratamientos y iii) Estudios de regresión para elaborar modelos de predicción de los efectos de tiempo sobre las variables dependientes provenientes del análisis químico.

## CAPÍTULO 4



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4. CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En función de los objetivos planteados, se hace la presentación de los resultados obtenidos en la presente investigación.

##### 4.1 Resultados Objetivo 1

En la tabla 4.1 se muestra la composición química de los productos analizados, correspondientes a muestras comerciales de crema de leche y manteca:

**Tabla 4.1: Composición química de las muestras comerciales**

Determinación	Crema		Manteca	
	Media	DE	Media	DE
Humedad (%)	55,27	1,57	16,54	0,50
Sólidos no grasos (%)	3,97	0,19	1,52	0,05
Cenizas totales (%)	0,28	0,02	0,41	0,04
Materia grasa (%)	40,76	1,76	81,94	0,55

##### 4.2 Resultados Objetivo 3

En la tabla 4.2 se muestra la composición química de los productos analizados, correspondientes a muestras de grasa anhidra de leche, obtenidas a partir de crema de leche y manteca de calidad comercial:



**Tabla 4.2: Composición química de las muestras de GAL**

Determinación	GAL de crema		GAL de manteca	
	Media	DE	Media	DE
Humedad (%)	0,10	0,03	0,12	0,05
Sólidos no grasos (%)	0,17	0,05	0,16	0,04
Cenizas totales (%)	0,059	0,011	0,050	0,009
Materia grasa (%)	99,73	0,08	99,72	0,09

Ambas muestras presentan valores de humedad inferiores a los reportados por Ambrosio et al. (2001) para productos comerciales de mantequilla clarificada. También son inferiores a los valores reportados por Pereira et al. (1986) para muestras y productos comerciales de mantequilla clarificada, a los reportados por Ganguli et al. (1973) para productos comerciales de ghee y a los máximos permitidos por el C.A.A. (Art. 603) para GAL.

Con respecto al contenido de sólidos no grasos, ambas muestras presentan valores superiores a los reportados por Ambrosio et al. (2001) para productos comerciales de mantequilla clarificada.

En cuanto al contenido de materia grasa, ambas muestras presentan valores similares a los reportados por Ambrosio et al. (2001) para productos comerciales de mantequilla clarificada, superiores a los reportados por Pereira et al. (1986) para muestras y productos comerciales de mantequilla clarificada y por Ganguli et al. (1973) para productos comerciales de ghee y están por encima del valor mínimo exigido por C.A.A. (Art. 603) para GAL.

#### 4.3 Resultados Objetivo 4

En la tabla 4.3 se muestran los valores obtenidos en la determinación de ácidos grasos libres, índice de peróxido, índice de p-anisidina y coeficientes de extinción para dienos y trienos conjugados, en las muestras analizadas.

**Tabla 4.3: Indicadores del deterioro oxidativo de las muestras de GAL**

Determinación	GAL de crema		GAL de manteca	
	Media	DE	Media	DE
Ácidos grasos libres (%)	0,339	0,037	0,317	0,031
Índice de peróxidos (meqO <sub>2</sub> /kg)	0,213	0,035	0,203	0,032
Índice de p-anisidina	0,784	0,074	0,545	0,045
E(1%, 1 cm) dienos	4,978	0,368	4,109	0,354
E(1%, 1 cm) trienos	0,261	0,021	0,193	0,018

Ambas muestras presentan valores de % de ácidos grasos libres (oleico) inferiores a los reportados por Ambrosio et al. (2001) para productos comerciales de mantequilla clarificada, a los reportados por Pereira et al. (1986) para muestras y productos comerciales de mantequilla clarificada y al valor máximo permitido por el C.A.A. (Art. 603) para GAL.

Con respecto al valor de peróxido, ambas muestras presentan valores inferiores a los reportados por Ambrosio et al. (2001) para productos comerciales de mantequilla clarificada, a los reportados por Pereira et al. (1986) para muestras y productos comerciales de mantequilla clarificada, a los reportados por Rojano et al. (2008) para muestras de mantequilla clarificada y al valor máximo permitido por el C.A.A. (Art. 603) para GAL.

En cuanto al índice de p-anisidina, las muestras presentan valores inferiores a los reportados por Grompone (1991) para productos comerciales de grasa vacuna desodorizada con y sin antioxidantes.

Con respecto al coeficiente de extinción para dienos conjugados, las muestras presentan valores superiores a los reportados por Martín et al. (2014) para muestras de aceite de maní prensado en frío.

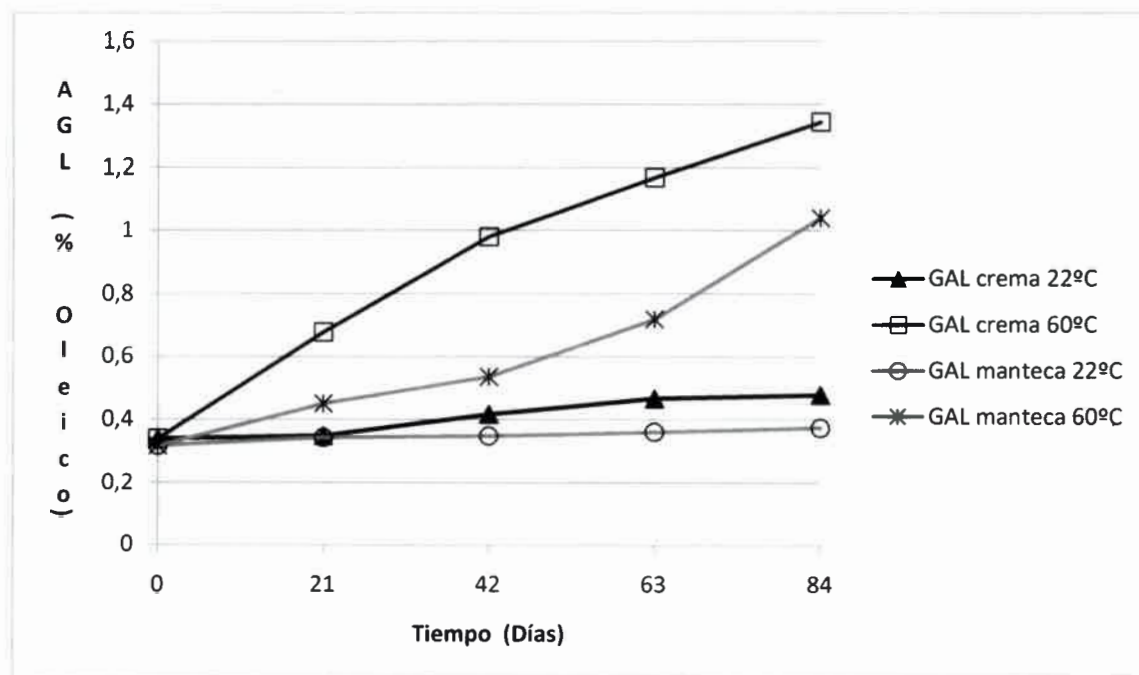
En cuanto al coeficiente de extinción para trienos conjugados, las muestras presentan valores superiores a los reportados por Martín et al. (2012) para el aceite de maní prensado en frío.

Las tablas 4.2 y 4.3 conforman la información de las características físico químicas de los productos obtenidos, GAL manteca y GAL crema.

#### 4.4 Resultados objetivo 5

En las figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 y 4.5 se presentan los gráficos que muestran la evolución del porcentaje de ácidos grasos libres, índice de peróxido, índice de p-anisidina, y coeficientes de extinción para dienos y trienos conjugados respectivamente, analizados durante el almacenamiento a 22 °C y a 60 °C de las muestras de GAL manteca y de GAL crema:

**Figura 4.1 Evolución del porcentaje de ácidos grasos libres durante el almacenaje de muestras de GAL manteca y GAL crema a 22 °C y 60 °C**

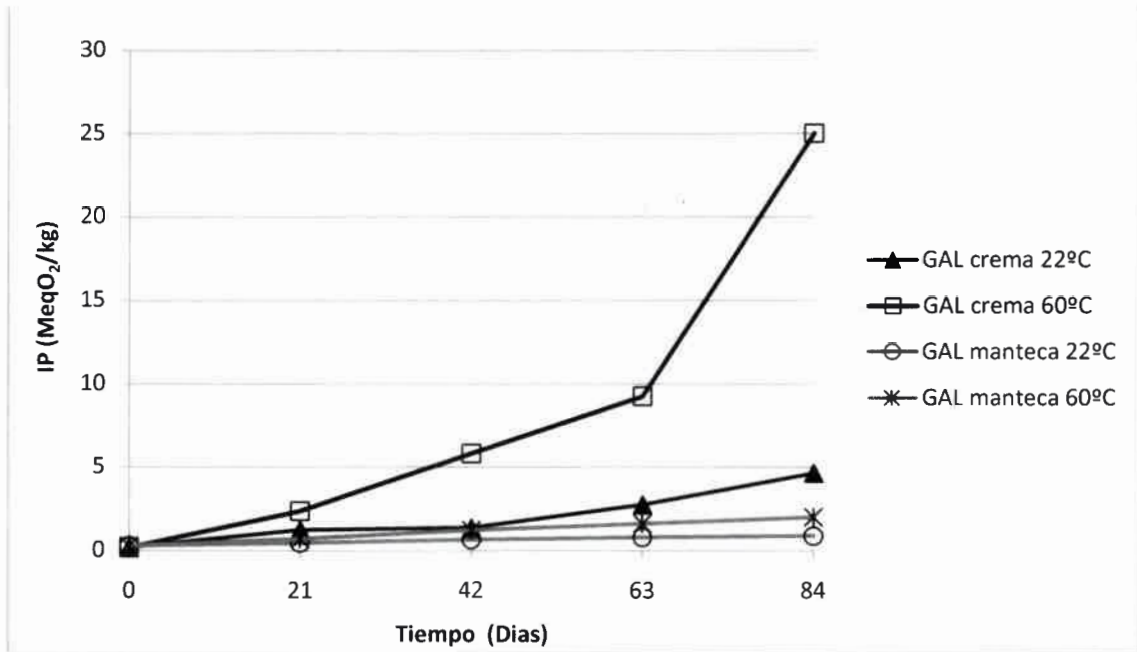


Del análisis de la figura 4.1 se deduce que los valores de % AGL (Oleico) obtenidos a 22 °C fueron prácticamente constantes a lo largo de todo el período de almacenamiento. A partir del día 84 las muestras presentaron diferencias significativas. Las muestras de GAL manteca presentaron a lo largo del tiempo los menores valores de % AGL (Oleico).

El almacenamiento a 60 °C presenta una tendencia creciente en función del tiempo en todas las muestras analizadas, es decir, todas ellas sufrieron algún grado de deterioro durante el período de almacenamiento. Esta tendencia presentó diferencias significativas entre las muestras a los 21 y 42 días de almacenamiento, mientras que GAL manteca mostró los menores valores de % AGL (Oleico) durante todo el período de almacenamiento. Las muestras GAL manteca y GAL crema alcanzaron al final del almacenamiento (84 días) valores de % AGL (Oleico) de 0,374 y 0,479 en el almacenamiento a 22 °C y de 1,040 y 1,344 en el almacenamiento a 60 °C, respectivamente. Es decir, la muestra GAL manteca triplicó el valor inicial hacia el final del almacenamiento a 60 °C, mientras que la muestra GAL crema lo cuadruplicó.

Al final del estudio, las muestras almacenadas a 22 °C y la muestra GAL manteca almacenada a 60 °C, mostraron valores de % ácidos grasos (oleico) inferiores a los reportados por Ambrosio et al. (2003) para productos comerciales de mantequilla clarificada (1,30 % AGL).

**Figura 4.2 Evolución del índice de peróxidos durante el almacenaje de muestras de GAL manteca y GAL crema a 22 °C y 60 °C**



El análisis de la figura 4.2 indica que en todas las muestras estudiadas, los valores de IP comenzaron a aumentar desde el inicio del almacenamiento. Los valores de IP obtenidos, tanto a 22 °C como a 60 °C presentaron una tendencia creciente en función del tiempo en todas las muestras analizadas, es decir, todas ellas sufrieron algún grado de peroxidación durante el periodo de almacenamiento. Para ambos tratamientos, a partir del día 21 todas las muestras presentaron diferencias significativas. Las muestras de GAL manteca mostraron los menores valores de IP durante todo el periodo de almacenamiento.

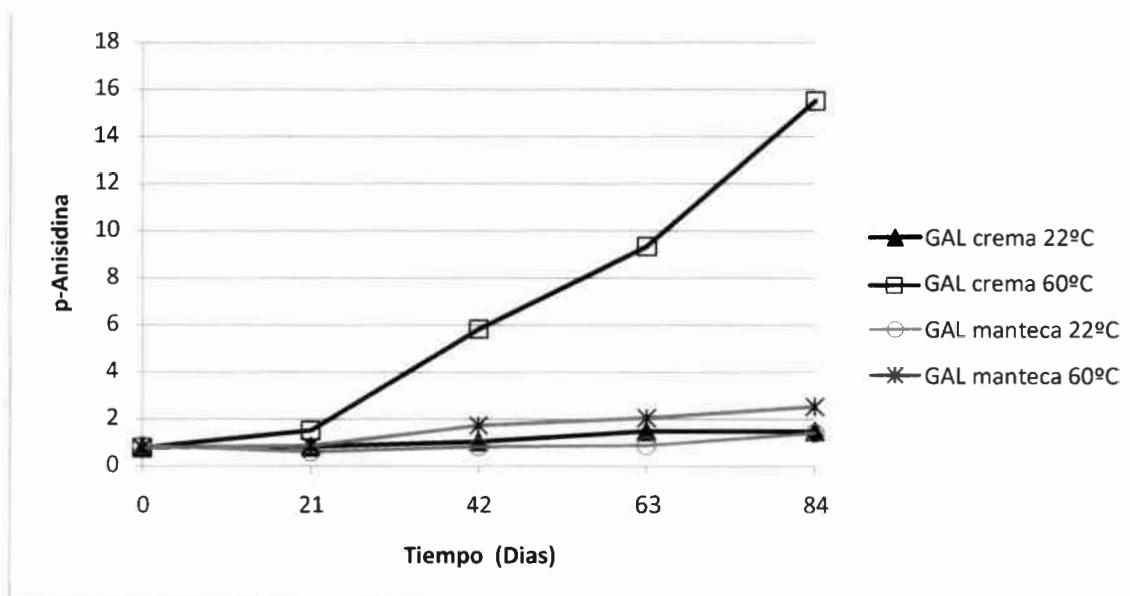
El valor de peróxido presenta una evolución lineal con el tiempo en las muestras de GAL de manteca para ambos tipos de almacenamiento, con una pendiente mayor para las muestras almacenadas a 60 °C. Las muestras de GAL de crema presentaron un incremento a tasa creciente para ambos tipos de almacenamientos, con valores superiores para el caso de las muestras almacenadas a 60 °C. La diferencia entre los valores registrados desde el inicio



hasta el final de la experiencia, indican una mayor tasa de propagación de las reacciones de oxidación en el producto GAL de crema. Es probable que este efecto se explique por la adición de vitamina E que se realiza sobre la manteca que es la materia prima para la obtención de GAL manteca (manteca rotulada La Serenísima fuente de vitamina A y E). Al final del estudio, todas las muestras mostraron niveles de IP inferiores que los reportados por Rojano et al. (2008) para muestras de mantequilla clarificada (9 mEqO<sub>2</sub>/kg a los 12 días de almacenamiento a 60 °C). Las muestras almacenadas a 22 °C y la muestra GAL manteca almacenada a 60 °C, mostraron niveles de IP inferiores que los reportados por Ambrosio et al. (2003) para productos comerciales de mantequilla clarificada (6 mEqO<sub>2</sub>/kg).

Las muestras GAL manteca y GAL crema alcanzaron al final del almacenamiento (84 días) valores de IP de 0,890 y 4,643 mEqO<sub>2</sub>/kg en el almacenamiento a 22 °C y de 2,013 y 25,03 mEqO<sub>2</sub>/kg en el almacenamiento a 60 °C, respectivamente. Es decir, el valor de IP a 60 °C aumentó 125 veces para la muestra GAL crema y 10 veces para la muestra GAL manteca. Estos resultados reflejan diferencias en cuanto a la estabilidad frente a los procesos de peroxidación, resultando las muestras de GAL manteca más estables que las muestras de GAL crema.

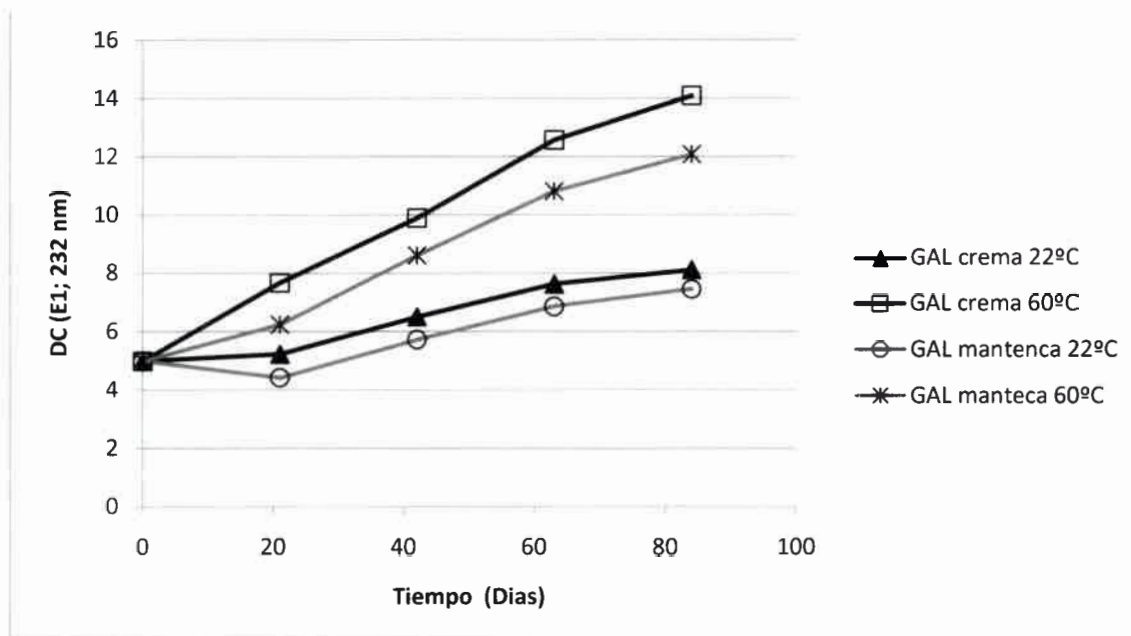
**Figura 4.3 Evolución del índice de p-anisidina durante el almacenaje de muestras de GAL manteca y GAL crema a 22 °C y 60 °C**



El análisis de la figura 4.3 muestra que el índice de p-anisidina alcanzó valores similares al final del almacenamiento a 22 °C para ambos productos. Las muestras almacenadas a 60 °C muestran diferencias significativas durante toda la experiencia. Las muestras GAL manteca y GAL crema alcanzaron al final del almacenamiento (84 días) valores de p-anisidina de 1,409 y 1,489 en el almacenamiento a 22 °C y de 2,530 y 15,520 en el almacenamiento a 60 °C, respectivamente. Es decir, el valor de p-anisidina a 60 °C aumentó 20 veces para la muestra GAL crema y 4 veces para la muestra GAL manteca. Estos resultados indican que la estabilidad oxidativa de las muestras de GAL de manteca es superior a la de las muestras de GAL de crema. Al final del estudio todas las muestras presentaron valores de índice de anisidina inferiores a los reportados por Grompone (1991) para grasa vacuna desodorizada con y sin antioxidantes (14,6 y 7,9 a 22 días de almacenaje a 22 °C respectivamente).

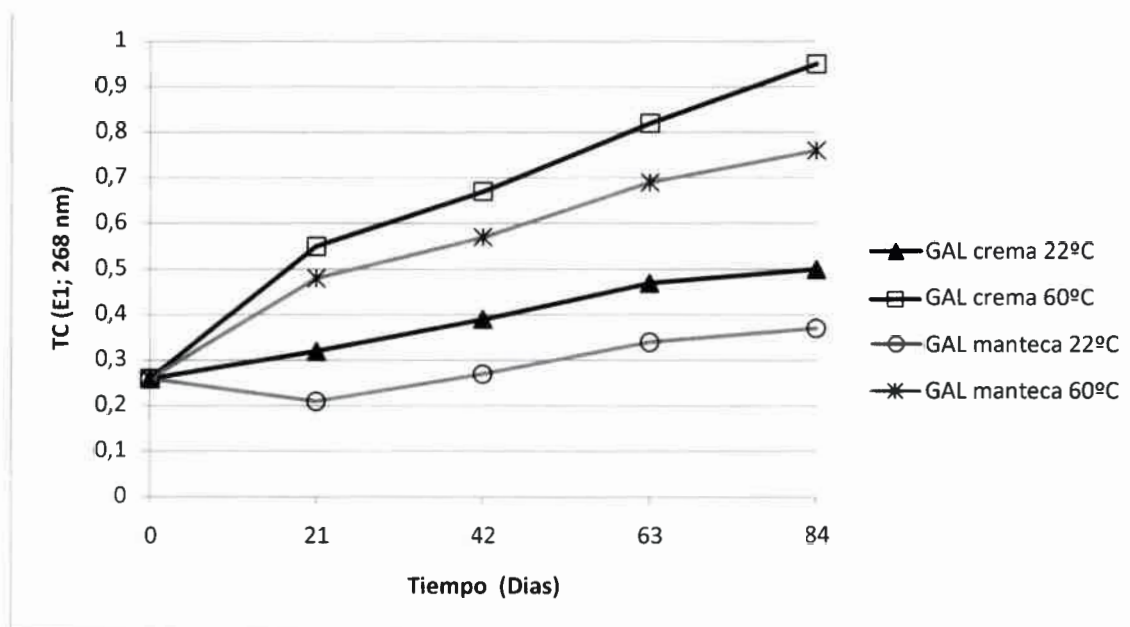


**Fig. 4.4 Dienes conjugados durante el almacenaje de muestras de GAL manteca y GAL crema a 22 °C y 60 °C**



El análisis de la figura 4.4 muestra que el coeficiente de extinción para dienos conjugados presentó la misma tendencia en ambos productos para el caso del almacenamiento a 22 °C y también para el almacenamiento a 60 °C, no presentando diferencias significativas. En ambos casos, las muestras de GAL crema presentaron valores superiores al de las muestras de GAL manteca. Estos resultados indican que la estabilidad oxidativa de las muestras de GAL manteca es superior a la de las muestras de GAL crema. Las muestras GAL manteca y GAL crema alcanzaron al final del almacenamiento (84 días) valores de DC de 7,445 y 8,108 en el almacenamiento a 22 °C y de 12,073 y 14,090 en el almacenamiento a 60 °C, respectivamente. Es decir, el valor de DC a 60 °C se triplicó para la muestra GAL crema y también para la muestra GAL manteca. Al final del estudio todas las muestras presentaron valores superiores a los reportados por Martín et al. (2014) para muestras de aceite de maní prensado en frío (1,4 luego de un almacenamiento de 60 días a 40 °C).

**Figura 4.5 Trienos conjugados durante el almacenaje de muestras de GAL manteca y GAL crema a 22 °C y 60 °C**



El análisis de la figura 4.5 muestra que el coeficiente de extinción para trienos conjugados presentó la misma tendencia en ambos productos para el caso del almacenamiento a 22 °C y también para el almacenamiento a 60 °C.

Las muestras de TC a 22 °C presentaron diferencias significativas a partir del día 21 de almacenamiento, observando el mayor valor de TC las muestras de GAL crema. En tanto que, las muestras almacenadas a 60 °C no presentaron diferencias significativas a lo largo del período de almacenamiento. Las muestras de GAL manteca y GAL crema alcanzaron al final del almacenamiento (84 días) valores de TC de 0,368 y 0,501 en el almacenamiento a 22 °C y de 0,709 y 0,954 en el almacenamiento a 60 °C, respectivamente. Es decir, el valor de TC a 60 °C se cuadruplicó para la muestra GAL crema y también para la muestra GAL manteca.

Tanto a 22 °C como a 60 °C, las muestras de GAL crema presentaron valores superiores al de las muestras de GAL manteca. Estos resultados indican que la estabilidad oxidativa de las muestras de GAL de manteca es superior a la de

las muestras de GAL de crema. Al final del estudio todas las muestras mostraron valores superiores a los reportados por Martín et al. (2014) para muestras de aceite de maní prensado en frío (0,15 luego de un almacenamiento de 60 días a 40 °C).

Es preciso mencionar que la temperatura cumplió un papel importante en relación a la estabilidad frente a la oxidación lipídica de las muestras sometidas a distintos tratamientos (GAL de crema y GAL de manteca).

Tanto a 22 como a 60 °C las muestras GAL de manteca resultaron más efectivas frente a los procesos de peroxidación.

#### **4.4.1 Análisis para determinar la influencia del tiempo y la temperatura sobre los índices de oxidación**

Con los resultados obtenidos de IP, DC, TC, p-Anisidina y % AGL en función del tiempo se realizó un análisis de regresión utilizando un modelo lineal simple, considerando como variables dependientes las variables químicas IP, DC, TC, p-Anisidina y % AGL en función de la variable independiente tiempo de almacenaje a 22 y 60°C. Los coeficientes de regresión se muestran en la Tabla 4.4. En general, se observaron valores elevados de coeficientes de determinación ( $R^2 > 0,60$ ) en las muestras estudiadas. Esto indica que estas ecuaciones pueden ser utilizadas para predecir el comportamiento de las variables estudiadas en función del tiempo de almacenaje.

**Tabla 4.4. Coeficientes de regresión lineal simple para las variables dependientes químicas IP, DC, TC, p-Anisidina y % AGL en función del tiempo (variable independiente), para las muestra GAL de crema y GAL de manteca, almacenadas a 22 y 60 ° C.**

VARIABLE DEPENDIENTE	MUESTRA	TEMPERATURA °C	COEFICIENTES REGRESION *		
			B <sub>0</sub>	B <sub>1</sub>	R <sup>2</sup>
% AGL	GAL	22	0,3306	0,0019	0,6789
	CREMA	60	0,4018	0,0119	0,9161
	GAL	22	0,3222	0,0006	0,5173
	MANTECA	60	0,2698	0,0082	0,8898
P-ANISIDINA	GAL	22	0,7114	0,0098	0,8894
	CREMA	60	-0,8624	0,1776	0,9420
	GAL	22	0,6344	0,0060	0,5110
	MANTECA	60	0,6522	0,0223	0,9386
DIENOS CONJUGADOS	GAL	22	4,7522	0,0413	0,8856
	CREMA	60	5,2118	0,1102	0,9761
	GAL	22	4,4072	0,0351	0,7618
	MANTECA	60	4,7880	0,0894	0,9480
TRIENOS CONJUGADOS	GAL	22	0,2614	0,0030	0,8926
	CREMA	60	0,3210	0,0078	0,9544
	GAL	22	0,2200	0,0017	0,7300
	MANTECA	60	0,3110	0,0057	0,9358
IP	GAL	22	-0,0222	0,0493	0,9166
	CREMA	60	-2,7630	0,2692	0,8228
	GAL	22	0,3304	0,0071	0,8595
	MANTECA	60	0,3190	0,0205	0,7843

\* Coeficientes de regresión para la ecuación general de regresión:  $Y = \beta_0 + \beta_1 X$ , en donde Y = es la variable dependiente y X = tiempo de almacenaje (en días).

En el Código de Alimentos de Argentina, se establecen como niveles máximos permitidos, valores de IP = 1 mEqO<sub>2</sub>/kg y % AGL = 3 para manteca de leche de vaca (Código Alimentario Argentino).

Los valores de peróxido de 1 mEqO<sub>2</sub>/kg y de 3% de AGL pueden ser útiles como criterio de valoración de la calidad de las muestras de productos de GAL crema y de GAL manteca sometidos a almacenamientos de 22 °C y 60 °C. Por lo tanto, la vida útil se estimó como el tiempo necesario para alcanzar un valor de peróxido de 1 mEqO<sub>2</sub>/kg y de 3 % de AGL de las curvas de regresión lineal del IP vs. tiempo y del % AGL vs. tiempo (Nepote et al., 2004). Utilizando las ecuaciones de predicción, los tiempos (en días) necesarios para alcanzar valores de índice de peróxido superiores a 1 meqO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> e índice de acidez superiores a 3% de ácido oleico/100 g, se muestran en la tabla 4.5:

**Tabla 4.5 Tiempo en días necesario para alcanzar valores de IP superiores a 1 mEqO<sub>2</sub>/kg y de % AGL superiores a 3% ácido oleico/100 g.**

MUESTRA	TEMP.	% AGL(84)	IP(84)	TIEMPO % AGL=3	TIEMPO IP=1
GAL	22	0,490	4,119	1405	21
CREMA	60	1,401	19,85	218	14
GAL	22	0,373	0,927	4463	94
MANTECA	60	0,9586	2,041	333	33

Se observa que la muestra de GAL manteca alcanza un período de almacenamiento a 22 °C de más de tres meses (94 días), siendo el IP el factor limitante.

#### **4.5. Análisis sensorial de grasa láctea anhidra obtenida de crema y manteca y su contraste con una muestra industrial.**

En la Tabla 4.6 se presentan las características sensoriales de las diferentes muestras.



**Tabla 4.6. Características sensoriales iniciales de los productos de grasa anhidra de leche elaboradas con diferentes materias primas**

ATRIBUTO	GAL industrial	GAL crema	GAL manteca
Brillo	3,167 ± 0,753 a	4,25 ± 0,418 b	5,333 ± 1,033 c
Dureza	7,583 ± 0,665 a	8,583 ± 0,917 a	7,917 ± 0,917 a
Migajosidad	4,250 ± 0,418 a	6,667 ± 0,606 b	6,917 ± 0,801 b
Untabilidad	7,000 ± 0,837 a	7,417 ± 1,563 a	9,583 ± 1,855 b
Amarillo	12,000 ± 0,894 b	8,500 ± 1,414 a	9,667 ± 2,27 a
Olor a queso	0,500 ± 0,548 a	1,417 ± 1,068 b	3,000 ± 0,548 c
Olor a manteca artificial	7,667 ± 1,211 a	7,333 ± 1,033 a	8,751 ± 1,084 b
Olor a aceite vegetal	1,330 ± 0,605 b	0,375 ± 0,209 a	0,333 ± 0,376 a
Olor a grasa láctea	3,25 ± 0,987 a	2,750 ± 0,758 a	3,583 ± 0,492 a
Olor a rancio	0,833 ± 0,258 b	0,208 ± 0,102 a	0,417 ± 0,129 a
Granulosidad	2,333 ± 0,516 b	2,333 ± 0,813 b	1,583 ± 0,548 a
Tasa de derretimiento	12,750 ± 1,891 a	12,833 ± 0,983 a	14,083 ± 0,801 a
Olor a cocido	1,583 ± 0,492 b	0,833 ± 0,258 a	2,417 ± 0,492 c
Gusto dulce	1,333 ± 0,408 a	1,333 ± 0,258 a	2,333 ± 0,516 b
Recubrimiento de la boca y Regusto	9,167 ± 1,472 b	6,417 ± 1,201 a	5,333 ± 1,366 a

\*Letras diferentes en las filas indican diferencias significativas en la comparación de medias entre productos (Anova y test LSD  $\alpha = 0,05$ ).

Se encontraron diferencias significativas en las variables brillo, migajosidad, untabilidad, intensidad del color amarillo, olor a queso, olor a aceite vegetal, olor a rancio, olor a cocido, gusto dulce y recubrimiento de la boca/regusto. En tanto que, las variables dureza, olor a manteca artificial, olor a grasa láctea, granulosis y tasa de derretimiento no presentaron diferencias significativas.

La muestra de GAL manteca presenta las mayores intensidades en los atributos brillo, untabilidad, olor a queso, olor a manteca artificial, olor a cocido y gusto dulce.

En tanto que la muestra GAL industrial presenta los mínimos valores de los atributos migajosidad y olor a queso y los máximos valores en los atributos recubrimiento de la boca/regusto, olor a aceite vegetal e intensidad de color amarillo.

La muestra de GAL crema en general tuvo un comportamiento intermedio a bajo en cuanto a la intensidad de los atributos en general.

Los atributos no presentaron diferencias significativas entre los distintos jueces.

En la Figura 4.6 se presenta el análisis descriptivo de las distintas muestras de GAL. Se observa que algunos atributos presentan valoraciones muy diferentes entre las distintas muestras analizadas mientras que para otros atributos las valoraciones de las muestras fueron similares. Los atributos que presentaron mayores diferencias fueron: color amarillo, brillo, olor a queso, migajosidad, untabilidad y recubrimiento de la boca y regusto.

Las muestras de GAL manteca mostraron los valores más elevados en la valoración del olor a manteca artificial, untabilidad, olor a queso y tasa de derretimiento. Las muestras de GAL industrial presentaron los valores más altos en la evaluación de los siguientes atributos: tasa de recubrimiento e intensidad del color amarillo y los menos pronunciados en los atributos: brillo, migajosidad y olor a queso.

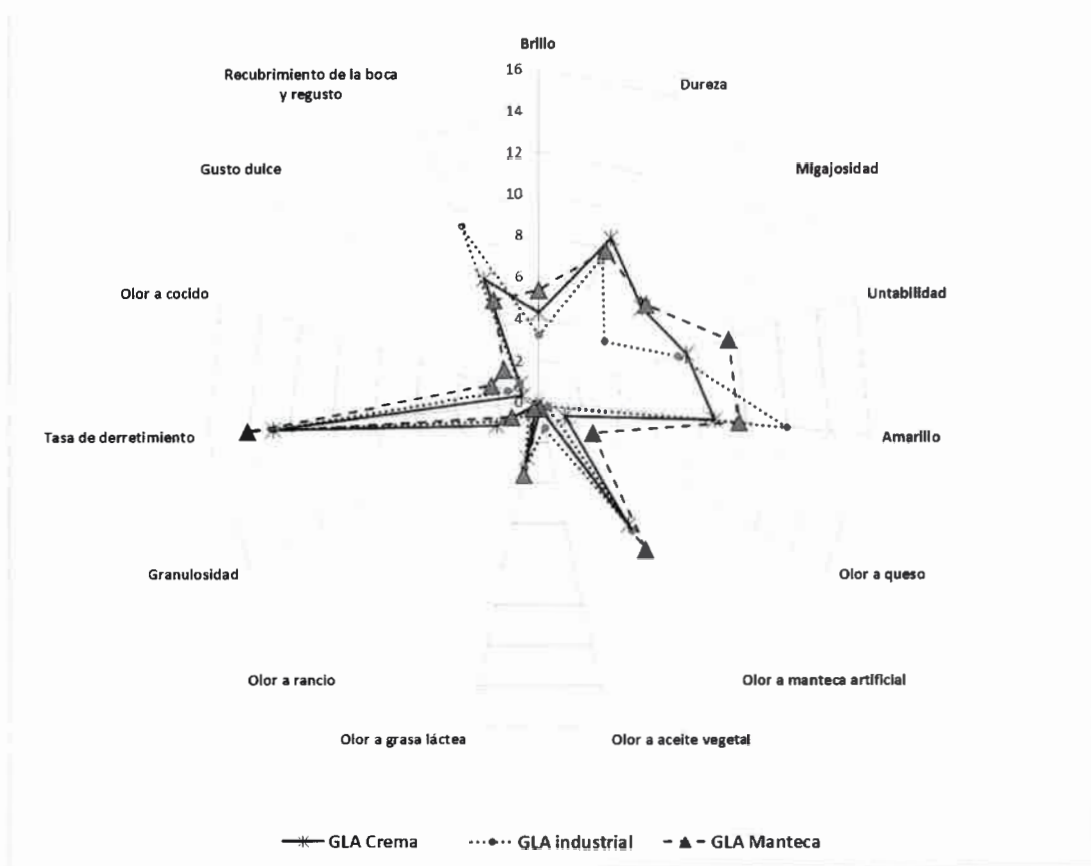
En relación a las muestras de GAL crema sus atributos se encontraron dentro



de los valores más bajos e intermedios de las muestras anteriores.

Este análisis permite observar con claridad que los atributos que presentaron mayor intensidad fueron: olor a manteca artificial, tasa de derretimiento, intensidad de color amarillo, untabilidad, dureza y recubrimiento de la boca/regusto.

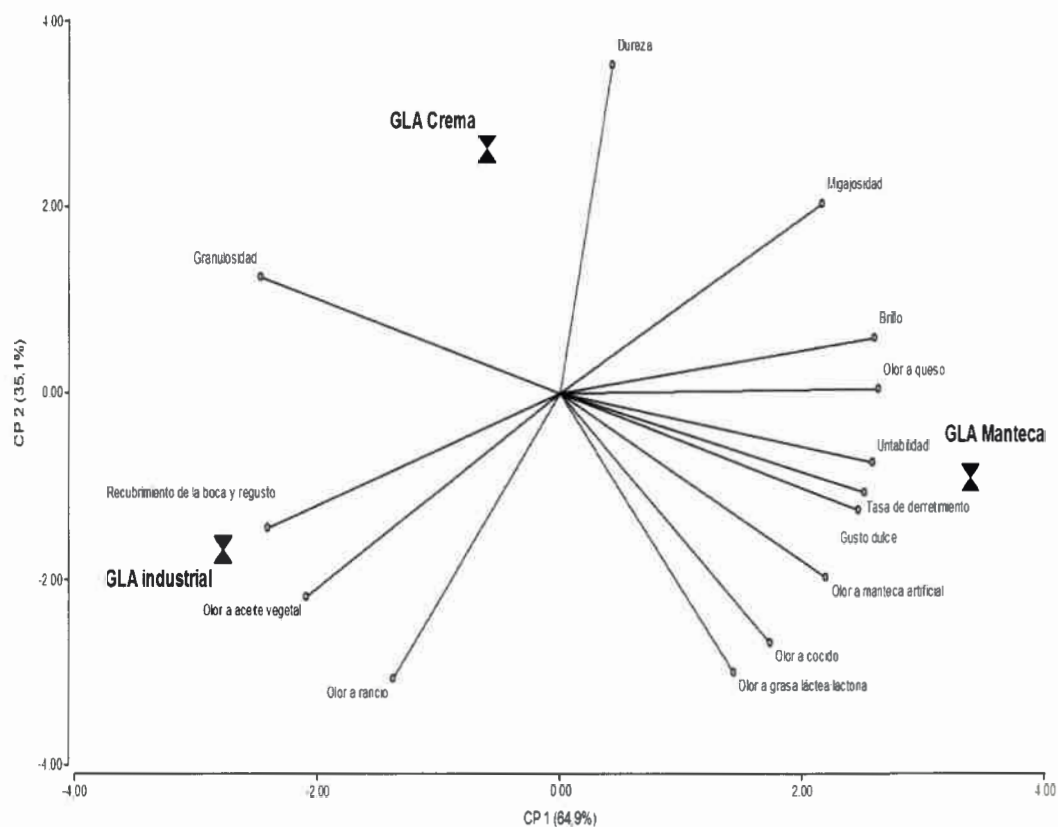
**Figura 4.6. Clasificación de intensidades de los distintos atributos (escala de 0 a 16 cm) del análisis descriptivo de GAL crema, GAL manteca y GAL industrial**



En la Figura 4.7 se muestra el gráfico biplot que resulta del análisis de componentes principales. Los vectores representan los atributos analizados y los símbolos con forma de relojes de arena las diferentes muestras. Entre las 2

componentes se explicó, aproximadamente, el 100% de la variabilidad de los datos.

**Figura 4.7. Biplot del análisis de componentes principales de las muestras de Grasa Anhidra de Leche**



La muestra de GAL manteca fue representada por los atributos gusto dulce, tasa de derretimiento y untabilidad. En tanto que, la muestra de GAL industrial fue representada por los atributos olor a aceite vegetal y recubrimiento de la boca y regusto. Por último, la muestra de GAL crema fue mejor descrita por el atributo granulosidad y dureza.

Se puede observar del análisis de componentes principales, Figura 4.6, del Biplot, Figura 4.7 y del análisis de correlación de Pearson, Tabla 4.7, las

siguientes asociaciones positivas significativas ( $\alpha \leq 0,05$ ) entre las variables: brillo-migajosidad, brillo-olor a queso, brillo-gusto dulce, migajosidad-olor a queso, recubrimiento en la boca/regusto-olor a queso, olor a queso-gusto dulce, olor a rancio-olor a aceite vegetal y gusto dulce-olor a cocido.

**Tabla 4.7. Coeficientes de correlación entre los atributos sensoriales iniciales de las muestras GAL crema, GAL industrial y GAL manteca**

<b>Atributos Relacionados</b>	<b>Coefficiente de correlación <sup>a</sup></b>
Brillo y Migajosidad	0,74
Brillo y Olor a queso	0,66
Brillo y Gusto Dulce	0,63
Migajosidad y Olor a queso	0,62
Recubrimiento en la boca/regusto y Olor a queso	0,70
Olor a queso y Gusto Dulce	0,66
Olor a rancio y Olor aceite vegetal	0,67
Gusto Dulce y Olor a cocido	0,60
Dureza y Amarillo	-0,81
Untabilidad y Granulosidad	-0,80
Migajosidad y Olor aceite vegetal	-0,62
Migajosidad y Olor a rancio	-0,65
Olor a queso y Olor aceite vegetal	-0,63
Olor a queso y Gusto dulce	-0,66
Olor a queso y Recubrimiento en la boca/regusto	-0,70
Recubrimiento en la boca/regusto y Migajosidad	-0,69

<sup>a</sup> el coeficiente de correlación presentó diferencias significativas ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Por otro lado, se puede observar una asociación negativa significativa entre las siguientes variables: dureza-color amarillo, migajosidad-olor aceite vegetal, migajosidad-olor a rancio, migajosidad-recubrimiento en la boca/regusto, olor a queso-olor aceite vegetal, olor a queso-gusto dulce, olor a queso-recubrimiento en la boca/regusto y untabilidad -granulosidad.

Los atributos analizados, fueron clasificados como atributos positivos y negativos, según se muestra en la Tabla 4.8:

**Tabla 4.8. Atributos negativos y positivos de las muestras analizadas**

<b>Atributos positivos</b>	<b>Atributos negativos</b>
Brillo	Olor a queso
Untabilidad	Olor a aceite vegetal
Olor a manteca	Olor a rancio
Olor a cocido	Granulosidad
Olor a grasa láctea	Migajosidad
Gusto dulce	

Algunos de los atributos no fueron clasificados ni como atributos positivos ni como atributos negativos, ya que depende de las características sensoriales que se busquen en el producto y que utilice distintas GAL como ingrediente. Dichos atributos fueron: intensidad del color amarillo, dureza, y recubrimiento de la boca. Por ejemplo, si se utiliza GAL como ingrediente en un país de clima cálido, el atributo de dureza es positivo; mientras que en un país de temperaturas bajas esto puede ser visto como un atributo negativo. En base a lo expuesto anteriormente, la muestra GAL manteca se asocia a atributos positivos.

Las muestras GAL industrial y GAL crema fueron asociadas a atributos negativos como olor a aceite vegetal y granulosidad, respectivamente, y a atributos que fueron clasificados como indiferentes como color amarillo y dureza, respectivamente.

Es probable que la mayor valoración sobre el atributo untabilidad obtenida en forma significativa por las muestras de GAL manteca se deba a una mayor proporción de ácidos grasos insaturados (mayoritariamente ácido oleico) en los triglicéridos que constituyen la materia prima, como lo reportan Jinjarak et al. (2006) para mantequillas de suero de leche, mantequillas de crema cultivada y mantequillas de crema dulce. Por otra parte, el mismo estudio revela que esta variación en la composición de los ácidos grasos de la leche no tiene efecto significativo sobre el sabor.

Los resultados de este trabajo en cuanto a dureza son consistentes, en parte, con estudios anteriores que muestran una disminución en la dureza y aumento en la untabilidad con un aumento del contenido de grasa insaturada. En este caso, las diferencias observadas en dureza en las distintas muestras no son significativas.

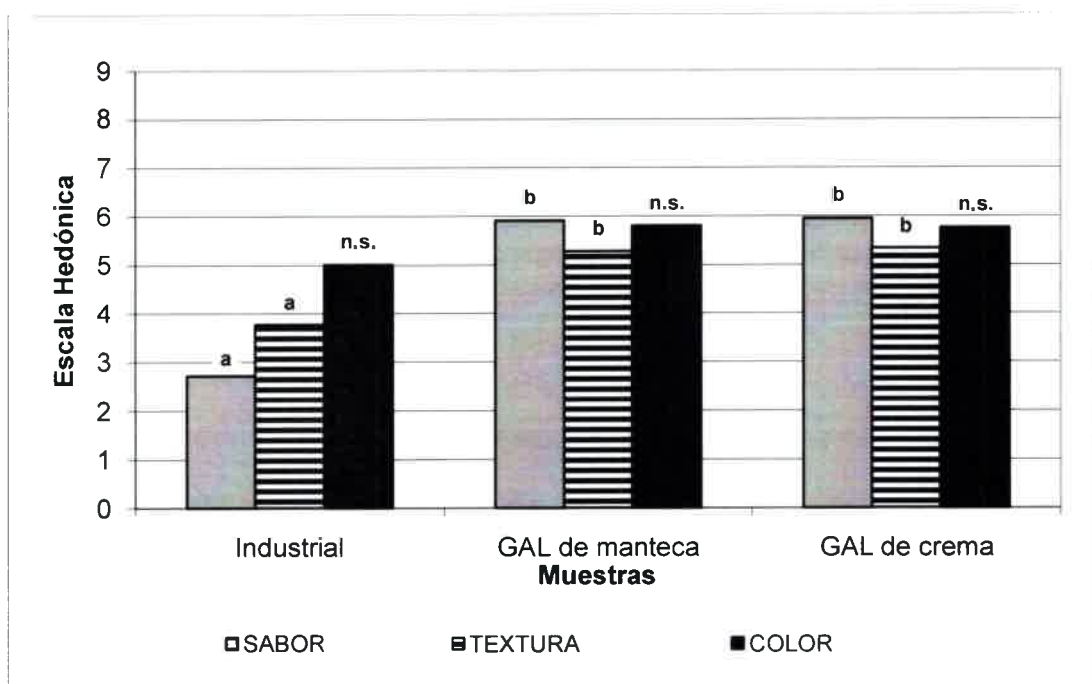
La mayor valoración obtenida por el jurado para el atributo gusto dulce no puede ser explicada únicamente por el mayor contenido de lactosa, ya que un contenido de sal más bajo podría dar lugar a clasificaciones de dulzura superiores, según reportan Jinjarak et al. (2006) para mantequillas de suero de leche, mantequillas de crema cultivada y mantequillas de crema dulce. Además, el contenido de lactosa también podría haber contribuido al oscurecimiento de Maillard, añadiendo intensidad al color amarillo que fue significativamente mayor para las muestras de GAL industrial respecto de las otras muestras, según reportan Jinjarak et al. (2006) para mantequillas de suero de leche, mantequillas de crema cultivada y mantequillas de crema dulce. Probablemente este comportamiento se explique porque las muestras de GAL manteca y GAL crema se hayan sometido a menores temperaturas durante menor tiempo respectivamente.

#### **4.6 Prueba de aceptabilidad de los consumidores**

Los ensayos de aceptabilidad realizados a los consumidores, sobre muestras de GAL manteca, GAL crema y GAL industrial, arrojaron los siguientes resultados

que se muestran en la figura 4.7:

**Figura 4.7 Prueba de aceptabilidad de consumidores de GAL  
manteca, GAL crema y GAL industrial**



La figura 4.7 muestra que hay diferencias significativas en cuanto a los atributos sabor y textura de la muestra de GAL industrial respecto de las muestras de GAL manteca y GAL crema, mientras que para el atributo color no se hallaron diferencias significativas. Además, las muestras de GAL crema y de GAL manteca mostraron los promedios más altos de los atributos sabor y textura (cerca de 6, "Me gusta un poco" en la escala hedónica de 9 puntos", sin diferencias significativas entre ellos). El producto comercial GAL industrial mostró los valores más bajos para todas las variables analizadas. En relación a la variable sabor le correspondió un valor cerca de 3 "Me desagrada bastante" en tanto que para la variable textura el valor fue próximo a 4 "Me desagrada un poco" en la escala hedónica de 9 puntos" con diferencias significativas en comparación con las demás muestras de GAL.



## CAPÍTULO 5



## CONCLUSIONES



## 5. CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en los estudios realizados con las muestras de GAL manteca y GAL crema, se puede concluir que:

- Es posible obtener grasa anhidra de leche a partir de manteca y crema de leche comerciales, cumpliendo con los estándares que fija el Código Alimentario Argentino con respecto a las características físico-químicas (contenido de materia grasa, contenido de humedad, índice de peróxidos expresado como mEqO<sub>2</sub>/kg y % AGL expresada como % ácido oleico/100 g).
- Todos los parámetros de deterioro químico y oxidativo se vieron incrementados en el período de almacenaje, tanto a 22 °C como a 60 °C.
- Las muestras de GAL manteca mostraron a lo largo de todo el estudio valores inferiores para los parámetros de deterioro químico y oxidativo. Este comportamiento se puede atribuir a que se partió de manteca La Serenísima, fuente de vitamina A y E (adicionadas con vitamina A y E). La vitamina E ejerce una acción antioxidante, lo que mejora la estabilidad oxidativa de las muestras de GAL manteca.
- Las muestras de GAL manteca presentaron en el análisis sensorial las mayores intensidades en los atributos positivos, como brillo, untabilidad, olor a queso, olor a manteca artificial, olor a cocido y gusto dulce. También mostraron las mayores valoraciones en lo que respecta a la aceptabilidad de los consumidores.

## BIBLIOGRAFÍA

Ambrosio, B. Guerra, B. Mancini Filho, J. 2003. Características identidade, qualidade e estabilidade da manteiga da garrafa. Parte I. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Vol. 21. Nº 3. Campinas.

Ambrosio, B. Guerra, B. Mancini Filho, J. 2001. Características identidade, qualidade e estabilidade da manteiga da garrafa. Parte II. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Vol. 23. Campinas.

AOAC. 2012. Official Methods of Analysis of AOAC International. Dr. George Latimer Jr. (Ed.) (19th Ed.). AOAC International. Maryland. USA.

AOAC. 1990. Oficial Methods of Analysis of AOAC International. pp-951-986-in: Chapter 41: Oils and Fats. Vol. 2. Kenneth Helrich (Ed.) (15<sup>th</sup> Ed.). Virginia. USA.

AOAC. 1990. Oficial Methods of Analysis of AOAC International. pp-802-852-in: Chapter 33: Dairy Products. Vol. 2. Kenneth Helrich (Ed.) (15<sup>th</sup> Ed.). Virginia. USA.

AOCS. 1998. Official Methods and Recommended Practices of the American Oils Chemist Society. Fifth Ed. Washington DC.

Boudreau, A. Saint Amant, L. 1985. pp- 206 – 232- In: Butter. *Diary Science and Technology: Principles and Applications*. Julien, J. P. Nadeau, J. P. Dumais, R. (Ed.). La Fondation de Technologie Laitiere du Quebec, Inc. Quebec. Canadá.

Carpenter, R. Lyon, D. Hasdel, T. 2002. Análisis Sensorial en el Desarrollo y Control de la Calidad de los Alimentos.

Christie, W. 1995. Composition and structure of milk lipids. pp-1-30. In: Fox, P. F. (ed.). *Advanced Dairy Chemistry*". Vol. 2. Lipids. Chapman & Hall, London.

Codex Stan 280-1973

Código Alimentario Argentino. Artículo. 603.

Codony, R. Guardiola, F. Bou, R. y Tres, A. 2010. Valoración Analítica y Nutricional de las Grasas. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

COI. 2001. Método de análisis, prueba espectrofotométrica en el ultravioleta. Document COI/T, 20/ Doc nº 19/ Rev 1, Ed by International Olive Oil Council (IOOC), Madrid, Spain.

Deeth, H. C. and Fitz-Gerald, C.H.. 2006. Lipolytic enzymes and hydrolytic rancidity. pp-481-530. In: Fox, P. and McSeeney, P. (Ed.). *Advanced Dairy Chemistry*. Vol. 2. Lipids. (3<sup>o</sup> Ed.). Springer Science+Business Media, Inc. New York. USA.

Dehal, S. Frier, T. Young, J. Hartman, P. Beitz, D. 1991. Fat and Cholesterol Reduced Foods: Technologies and Strategies. C. Haberstroh and C. Morris, (Ed.). Gulf Publishing Company. Houston, Texas

Fox, P. and McSweeney, P. 1998. Dairy Chemistry and Biochemistry. Blackie Academic & Professional. Chapman & Hall, London.

Ganguly, N. C. and Jain, M. K. 1973. Ghee: Its chemistry, processing and technology. *Journal of Dairy Science*. Vol. 56.

Gayol, M. F. Labuckas, D. O. Aparicio, J. Oberti, J. C. Grosso, N. R. and Guzmán, C. A. 2004. Chemical characterization of Jojoba seeds (*Simmondsia chinensis* (Link) Schneider) from "Bañado de los Pantanos", La Rioja, Argentina. *The Journal of the Argentine Chemical Society*. 92: 59-63.

Gösta Bylund, M. 2003. Manual de la Industria Láctea. Mundi-Prensa. Madrid, España

Grompone, M. 1991. El índice de anisidina como medida del deterioro latente de un material graso. *Grasas y Aceites*. Vol. 42. Fasc. 1. Montevideo. Uruguay.

Grosso, N. R. and Resurreccion, A. V. 2002. Predicting consumer acceptance ratings of cracker-coated and roasted peanuts from descriptive analysis and hexanal measurements. *J Food Sci* 67(4):1530-1537.

Hettinga, D.. 2005. pp-1-55. Edible oil and fat products: Edible oils. Butter. In: Fereidoon Shahidi. (Ed.). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Vol 2. (Sixth Ed.). John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. USA.

Huppertz, T. Kelly, A. and Fox, P. 2009. Milk lipids – Composition, origin and properties. pp-1-11. In: Tamime A. Y. (Ed.). *Dairy Fats and Related Products*. Balckwell Publishing Ltd. Oxford, UK.

ISO (International Organization for Standardization). 2004. ISO 8851-1. Butter: determination of moisture, non fat solids and fat contents. Suiza.

ISO (International Organization for Standardization). 2006. ISO 6885. Determination of p-Anisidine Value. Suiza.

IUPAC. 1987. Standard methods for test analysis of oils, Fat and Derivates. 7<sup>th</sup> Ed. Method Number 2.504. Determination of the p-Anisidine Value (p-AV). Blackwell Scientific Publication. Boston, MA and Oxford, UK.

Jinjarak, S. Olabi, A. Jimenez Flores, R. 2006. Sensory, functional, and analytical comparisons of whey butter. *Journal Dairy Science*. 89: 2428-2440. American Dairy Science Association.

Lawless, H. T. and Heymann, H. 1999. *Sensory Evaluation of Food*. Chapman & Hall Food Science Book, Aspen Publisher, Inc.: Gaithersburg, Maryland. USA.

MacGibbon, A. and Taylor, M. 2006. Composition and Structure of Bovine Milk Lipids. pp-1-35. In: Fox, P. and McSeeney, P. (Ed.). *Advanced Dairy Chemistry*. Vol. 2. Lipids. (3<sup>o</sup> Ed.). Springer Science+Business Media, Inc. New York. USA.

Malcolmson, L. J. 2005. pp-413-428. Flavor and sensory aspects. In: Fereidoon Shahidi. (Ed.). Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Vol 1. (Sixth Ed.). John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. USA.

Martin, P. Asensio C. Riveros C. Ryan L. Grosso N. 2014. Conservación de maní crudo en bolsas de polietileno aireado y en bolsas plásticas de alta barrera bajo vacío. Jornada Nacional del Maní. Gra. Cabrera.

Meilgaard, M. Civille, G. Carr, B. 1999. Chapter 10. Descriptive analysis techniques. In: Sensory Evaluation Techniques. Third Edition. CRC Press. Boca Raton. New York.

Min, D. B. and Boff, J. M. 2002. Lipid oxidation of edible oil. Part III-Oxidation-Chapter 11. In: Akoh, C. C. and Min, D. B. (Ed.). Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology. (2° Ed.). Marcel Dekker, Inc. New York. USA.

Nepote, V. Mestrallet, M. G. And Grosso, N.R.. 2004. Natural antioxidant effect from peanut skins in Honey Roasted Peanuts. *J Food Sci* 69(7):295-300.

O'Keefe, S. F. and Pike, O. A. 2010. Fat characterization. pp- 241 - 260. In: Nielsen S. S. (Ed.). Food Analysis Springer. Science+Business Media, Inc. New York. USA.

Ordoñez J., M. Gambero, L. Fernandez, M. Garcia, G. Garcia de Fernando, L. de la Hoz, Selgas M.. 1998. Tecnología de los Alimentos. Volumen II. Alimentos de Origen Animal. Editorial Síntesis S. A. Madrid, España.

Páez, R.; Cuatrin, A.; Taverna, M.; Moretto, M. y Campos, S. 2006. Estudio de la composición de ácidos grasos en leche cruda de diferentes tambos de la Argentina. 9° Congreso Panamericano de Leite. Porto Alegre. Brasil.

Palmquist, D. 2006. Milk fat. pp-43-80. In: Fox, P. and McSeeney, P. (Ed.). Advanced Dairy Chemistry. Vol. 2. Lipids. (3° Ed.). Springer Science+Business Media, Inc. New York. USA.

Pereira, D. Szpiz, R. Jablonka, F. 1986. Manteiga de garrafa: Análisis e composicao. Río de Janeiro. Embrapa/Ctta.

Peyram, D. and Pilgrim, F. 1957. pp-9-14. Hedonic Scale Method of Measuring Food Preferences. In: Food Technology. Vol 11.

Resurreccion A. 1998. *Consumer Sensory Testing for Product Development*. Chapman and Hall Food Science Book, Aspen Publishers, Inc.: Gaithersburg. Maryland. USA.

Resurreccion A. 1998. *Consumer Sensory Testing for Product Development*. Chapman and Hall Food Science Book, Aspen Publishers, Inc.: Gaithersburg. Maryland. USA.

Richards. M.P. 2006. Lipids chemistry and biochemistry. pp-8.1-8.17. Hui, Y. H. (Ed.). Handbook of Food Science, Technology and Engineering. Vol I. CRC Press. Taylor and Francis Group. Boca Raton, USA.

Rojano, B. Gaviria, C. Sáez, J. 2008. Vitae. Vol. 15 N° 2. Medellín.

Schaich, K. M. 2005. pp-269-355. Lipid oxidation: Theoretical aspects. In: Fereidoon Shahidi. (Ed.). Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Vol 1. (Sixth Ed.). John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. USA.

Shahidi, F. and Chi-Tang, Ho. 2005. pp-387-413. Flavor components of fats and oils. In: Fereidoon Shahidi. (Ed.). Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Vol 1. (Sixth Ed.). John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. USA.

Shahidi, F. and Wanasundara, U. N. 2002. Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. Part III-Oxidation- Chapter 14. In: Akoh, C. C. and Min, D. B. (Ed.). Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology. (2° Ed.). Marcel Dekker, Inc. New York. USA.

Shahidi, F. and Zhong, Y. 2005. pp-357-385. Lipid oxidation: Measurement methods. In: Fereidoon Shahidi. (Ed.). Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Vol. 1 (Sixth Ed.). John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. USA.

Taub, I. A. and Singh, R. P. 1998. Food Storage Stability. CRC press. New York. USA.



73359

23