

Tesis Doctoral

# Transformaciones estructurales y físico-químicas de maíces argentinos en la producción de alimentos obtenidos por procesos de gelatinización-laminación

Farroni, Abel Eduardo

2011

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Farroni, Abel Eduardo. (2011). Transformaciones estructurales y físico-químicas de maíces argentinos en la producción de alimentos obtenidos por procesos de gelatinización-laminación. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Farroni, Abel Eduardo. "Transformaciones estructurales y físico-químicas de maíces argentinos en la producción de alimentos obtenidos por procesos de gelatinización-laminación". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2011.

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Industrias

**TRANSFORMACIONES ESTRUCTURALES Y FÍSICO-QUÍMICAS DE  
MAÍCES ARGENTINOS EN LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS  
OBTENIDOS POR PROCESOS DE GELATINIZACIÓN-LAMINACIÓN.**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área  
Química Industrial.

**Bioq. Abel Eduardo Farroni**

Directoras de tesis: Dra. María del Pilar Buera

Dra. Sandra Guerrero

Consejero de Estudios: Dra. María del Pilar Buera

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2011.

## Resumen

### **TRANSFORMACIONES ESTRUCTURALES Y FÍSICO-QUÍMICAS DE MAÍCES ARGENTINOS EN LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS OBTENIDOS POR PROCESOS DE GELATINIZACIÓN-LAMINACIÓN.**

El objetivo del presente trabajo fue analizar y caracterizar los factores involucrados en las transformaciones estructurales y físico-químicas de maíces argentinos de tipo colorado duro que determinan la calidad de productos obtenidos por procesos de gelatinización-laminación.

Se estudiaron muestras tomadas de distintas etapas del proceso de producción industrial de copos de maíz comerciales que incluyeron desde la materia prima hasta el producto final. Además se analizaron sistemas modelo producidos en el laboratorio para estudiar la influencia de la formulación en el proceso de cocción.

Se generó un mapa completo de los cambios de fase y estado que se produjeron a lo largo del proceso industrial mediante diagramas de estado suplementados y el estudio de la movilidad molecular. Se observó un efecto antiplastificante del agua, detectado al estudiar las propiedades mecánicas y los atributos sensoriales de los copos de maíz en función del contenido de agua. Los cambios más importantes en la textura producidos por la absorción de agua se observaron en el estado vítreo, indicando que el agua límite de hidratación es un mejor indicador de estabilidad que la  $T_g$  para estos sistemas. La correlación entre la generación de pigmentos y la apariencia visual de las muestras fue afectada por los procesos que afectan la transparencia como los cambios de forma y la generación y destrucción de interfases.

Los diagramas de estado y las técnicas de medición no destructivas relacionadas a los marcadores químicos junto al modelado del efecto del agua en las propiedades texturales pueden utilizarse como herramientas para el diseño de procesos, desarrollo de productos y el control de su estabilidad. Se establecieron parámetros que podrían emplearse en el control de proceso o en el producto final para garantizar atributos de calidad.

Palabras clave: copos de maíz, diagramas de estado, movilidad molecular, análisis sensorial, textura, pardeamiento, apariencia.

## **Abstract**

### **ESTRUCTURAL AND PHYSICOCHEMICAL TRANSFORMATION OF ARGENTINE CORN USED IN THE PRODUCTION OF FODD OBTAINED BY GELATINIZATION LAMINATION PROCESS**

The objective of the present work was to analyze and characterize factors involved in structural and physicochemical transformations of argentine red flint corn which have impact on quality of food obtained by using gelatinization-lamination process.

Samples from selected industrial process steps which included from raw materials to finished products were taken from cornflake production line. Model systems were cooked in the laboratory to study formulation effects on cooking process.

Supplemented state diagrams generated and molecular mobility studies allowed to generate a complete map of phase and state changes that took place along the industrial process. Mechanical properties and sensory attributes of corn flakes were characterized as a function of water content. Antiplasticizing effect of water was detected both sensory and instrumentally. Important texture changes upon water absorption were observed when the samples were still in glassy state indicating that, for these samples, hydration limit is a better stability indicator than  $T_g$ . The correlation between pigment concentration and visual appearance was affected by shape and transparency changes, mainly due to generation or disappearance of inter-phases.

Supplemented state diagrams and non destructive measurements techniques that correlate to chemical markers, along with water effect modeling on textural properties can be used as useful tools in process design, product development and stability control.

Key words: cornflakes, state diagrams, molecular mobility, sensory analysis, texture, browning, appearance.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos los que me acompañaron en este camino y de una manera u otra hicieron posible la realización de esta tesis.

A mis directoras, Pilar y Sandra por su calidad profesional y humana.

A las instituciones que aportaron el lugar de trabajo y los medios necesarios: INTA, Universidad de Buenos Aires, FCEyN, ANPCyT y CONICET.

A mis compañeros del laboratorio, Caro, Flor, Betty, Lidia, Nuria, Silvia, Patricio, Marcela, Peggy, Naty, Cristina, Jaime, Analí, Christian y Soledad, por la ayuda, los consejos oportunos o simplemente por compartir un descanso y una charla amena. A Silvia por compartir largas horas de trabajo y a Marcela por las no menos largas horas de estudio compartidas y los trabajos en colaboración. A Laura, Graciela y Gabriela del laboratorio de orgánica.

A Stella por permitirme usar su laboratorio y por los trabajos compartidos, y a Analía por el trabajo en colaboración.

A todos los que participaron de las pruebas de evaluación y a quines integraron el panel por dedicar su tiempo y esfuerzo en forma desinteresada, Peggy, Patricio, Flor, Silvina, Marcela, Sebastián, Silvia, Paula y Joaquín.

A las investigadoras del INQUIMAE, Gabriela por el trabajo en colaboración y a Mireille y Adriana por prestarme sus equipos.

A Marisela y María Eugenia por su aporte a este trabajo. A Francisco por su ayuda en la elección del tema.

A Carina por su apoyo, aliento y compañía y a mis padres por apoyarme siempre.

*A Carina y a mis padres*

<b>1. Introducción.....</b>	<b>1-1</b>
1.1. Producción de alimentos de calidad diferenciada. Importancia tecnológica de las materias primas y de la conservación de la biodiversidad.....	1-3
1.2. Materia prima: composición y estructura del grano de maíz .....	1-7
1.2.1. Almidón.....	1-10
1.2.2. Proteínas .....	1-13
1.2.3. Compuestos lipídicos y pigmentos.....	1-14
1.3. Descripción del proceso tradicional de producción de copos de maíz...	1-15
1.3.1. Molienda seca.....	1-15
1.3.2. Formulación .....	1-16
1.3.3. Cocción.....	1-17
1.3.4. Secado y temperado .....	1-18
1.3.5. Laminado.....	1-18
1.3.6. Tostado .....	1-19
1.3.7. Agregado de coberturas o fortificación.....	1-19
1.4. Transformaciones físicas durante la elaboración y almacenamiento .....	1-20
1.4.1. Transiciones de fase y estado .....	1-20
1.4.1.1. Gelatinización y retrogradación de almidón .....	1-21
1.4.1.2. Transición vítrea.....	1-22
1.4.1.3. Relajaciones entálpicas .....	1-23
1.4.2. Calorimetría diferencial de barrido .....	1-24
1.5. Reacciones químicas durante la elaboración y almacenamiento de los laminados de maíz.....	1-26
1.5.1. Consideraciones generales .....	1-26
1.5.2. Cocción.....	1-30
1.5.3. Tostado .....	1-32
1.5.4. Almacenamiento.....	1-32
1.6. Factores de calidad asociados a las preferencias del consumidor .....	1-33
1.6.1. Evaluación de las propiedades mecánicas.....	1-33
1.6.1.1. Ensayos reológicos:.....	1-35
1.6.2. Análisis sensorial.....	1-40
1.6.2.1. Panel de evaluación sensorial.....	1-41
1.6.2.2. Selección de los miembros para un panel de textura .....	1-42

1.6.2.3.	Entrenamiento .....	1-43
1.6.2.4.	Seguimiento y control de los evaluadores.....	1-44
1.6.2.5.	Características de la sala de evaluación sensorial .....	1-45
1.6.2.6.	Evaluación sensorial de la textura.....	1-45
1.6.3.	Color: distribución espectral de la luz.....	1-50
1.6.3.1.	Medición instrumental del color .....	1-52
1.6.4.	Cesía: distribución espacial de la luz .....	1-55
1.6.4.1.	Colorimetría de muestras turbias o translúcidas .....	1-57
1.7.	Factores involucrados en la velocidad de los cambios físicos y de las reacciones químicas .....	1-58
1.7.1.	Estado vítreo y estabilidad. ....	1-59
1.7.2.	Adsorción de agua y nitrógeno.....	1-61
1.7.3.	Relajación magnética y movilidad molecular .....	1-64
1.7.3.1.	Principios de la metodología .....	1-65
1.7.4.	Diagramas de estado suplementados y estabilidad física y química.....	1-69
1.8.	Necesidad de integración de aspectos agronómicos, industriales y de control de calidad en el desarrollo de alimentos a base de cereales .....	1-71
<b>2.</b>	<b>Objetivos .....</b>	<b>2-72</b>
2.1.	Objetivo general .....	2-73
2.2.	Objetivos específicos.....	2-73
<b>3.</b>	<b>Materiales y métodos .....</b>	<b>3-74</b>
3.1.	Sistemas estudiados.....	3-75
3.1.1.	Copos de maíz comerciales:.....	3-75
3.1.2.	Estados intermedios del proceso de fabricación de copos de maíz.....	3-75
3.1.3.	Sistemas modelo ( <i>grits</i> cocidos producidos en el laboratorio) .....	3-75
3.2.	Preparación de sistemas con diferente contenido de agua. ....	3-76
3.3.	Liofilización .....	3-77
3.4.	Análisis de composición.....	3-77
3.4.1.	Contenido de proteínas.....	3-77
3.4.2.	Contenido de aceite .....	3-78
3.4.3.	Cenizas .....	3-78
3.4.4.	Contenido de almidón y amilosa.....	3-78

---

3.5. Medición de contenido de agua y actividad de agua.....	3-78
3.6. Sorción de nitrógeno .....	3-80
3.7. Calorimetría diferencial de barrido .....	3-82
3.7.1. Ensayo de almacenamiento para estudiar la recuperación de transiciones endotérmicas.....	3-83
3.8. Movilidad molecular por resonancia magnética nuclear.....	3-84
3.9. Medición de propiedades mecánicas.....	3-85
3.10. Evaluación sensorial de la textura .....	3-89
3.10.1. Procedimiento de selección de evaluadores .....	3-91
3.10.1.1. Pruebas de selección.....	3-91
3.10.2. Entrenamiento .....	3-98
3.10.2.1. Curso teórico. ....	3-99
3.10.2.2. Presentación y reconocimiento de las escalas de referencia .....	3-100
3.10.2.3. Evaluación de muestras de referencia y muestras incógnitas .....	3-104
3.10.2.4. Desarrollo de una escala de crocancia.....	3-106
3.10.3. Evaluación sensorial de copos de maíz.....	3-106
3.11. Análisis de color y apariencia mediante un sistema de visión computarizada .....	3-113
3.11.1. Medición del color .....	3-113
3.11.2. Calibración del sistema de adquisición de imágenes .....	3-116
3.11.3. Medición de la translucidez.....	3-116
3.12. Medición de distancias por análisis de imágenes.....	3-118
3.13. Microscopía electrónica de barrido ambiental .....	3-118
3.14. Microscopía de luz polarizada.....	3-119
3.15. Medición de espesor de las muestras .....	3-119
3.16. Contenido de furfurales por HPLC. ....	3-119
3.17. Extracción y cuantificación de compuestos fluorescentes .....	3-121
3.18. Generación de pigmentos pardos .....	3-123
3.19. Fluorescencia de superficie .....	3-123
3.20. Contenido de carboximetilisina.....	3-124
3.21. Determinación de compuestos volátiles durante el almacenamiento...	3-125
<b>4. Resultados y discusión .....</b>	<b>4-128</b>

---

4.1. Caracterización de las propiedades físicas y aspectos supramoleculares del material.....	4-129
4.1.1. Composición de las muestras utilizadas.....	4-129
4.1.2. Sorción de agua:.....	4-130
4.1.3. Sorción de nitrógeno.....	4-135
4.1.4. Propiedades térmicas y movilidad molecular.....	4-136
4.1.4.1. Transición vítrea.....	4-137
4.1.4.2. Agua congelada detectada por DSC.....	4-147
4.1.4.3. Fusión de sacarosa.....	4-150
4.1.4.4. Relajación entálpica.....	4-150
4.1.4.5. Gelatinización y retrogradación.....	4-159
4.1.5. Movilidad molecular de protones por <sup>1</sup> H-RMN.....	4-165
4.1.6. Propiedades mecánicas.....	4-175
4.1.7. Integración de resultados de las propiedades supramoleculares.....	4-186
4.2. Análisis sensorial de la textura.....	4-190
4.2.1. Selección de los candidatos para integrar el panel sensorial.....	4-190
4.2.1.1. Encuesta personal.....	4-190
4.2.1.2. Resultado de las pruebas de selección.....	4-190
4.2.2. Entrenamiento del panel.....	4-192
4.2.2.1. Desarrollo de la escala de crocancia.....	4-193
4.2.2.2. Calibración del panel.....	4-195
4.2.3. Medición de las muestras.....	4-196
4.2.4. Integración de resultados de textura sensorial y propiedades mecánicas...	4-206
4.3. Aspectos visuales y propiedades físicas.....	4-210
4.3.1. Calibración del sistema de visión computarizada.....	4-210
4.3.2. Cambios en distintas etapas del proceso industrial.....	4-212
4.3.2.1. Cambios de opacidad y microestructura.....	4-212
4.3.2.2. Cambios cromáticos en muestras del proceso industrial.....	4-222
4.3.2.3. Cambios en los índices de absorción y dispersión de la luz.....	4-231
4.3.3. Cambios durante la cocción de sistemas modelo.....	4-233
4.3.3.1. Gelatinización del almidón.....	4-233
4.3.3.2. Cambios de opacidad.....	4-235
4.3.3.3. Desarrollo de color.....	4-239
4.3.3.4. Índices de absorción y dispersión de la luz.....	4-242

---

4.3.4. Comparación de la cocción industrial con los sistemas producidos en el laboratorio.....	4-244
4.4. Marcadores de reacciones químicas en la elaboración.....	4-245
4.4.1. Muestras del proceso industrial.....	4-245
4.4.1.1. Contenido de hidroximetilfurfural .....	4-245
4.4.1.2. Fluorescencia en solución y pigmentos pardos extraíbles .....	4-247
4.4.1.3. Fluorescencia de superficie .....	4-249
4.4.1.4. Contenido de carboximetilisina en muestras del proceso industrial	4-250
4.4.2. Sistemas modelo.....	4-252
4.4.2.1. Formación de 5-hidroximetil-furfural. ....	4-252
4.4.2.2. Desarrollo de fluorescencia y pigmentos pardos extraíbles.....	4-253
4.4.2.3. Cambios en la fluorescencia de superficie.....	4-256
4.5. Integración de los resultados de marcadores químicos y apariencia....	4-258
4.5.1. Muestras del proceso industrial.....	4-258
4.5.2. Sistemas modelo.....	4-266
4.5.3. Resumen de los cambios observados .....	4-275
4.5.3.1. Proceso industrial .....	4-275
4.5.3.2. Sistemas modelo.....	4-277
4.6. Productos volátiles medidos en muestras almacenadas .....	4-280
4.6.1. Productos de oxidación .....	4-280
4.6.2. Productos volátiles de la reacción de Maillard.....	4-283
4.7. El proceso de producción de copos de maíz en el diagrama de estado.	4-286
4.7.1. Resumen de la interpretación de las etapas del proceso en relación a los diagramas de estado y a la movilidad de protones:.....	4-294
<b>5. Resultados destacados.....</b>	<b>5-296</b>
<b>6. Conclusiones .....</b>	<b>6-300</b>
<b>7. Bibliografía .....</b>	<b>7-304</b>

# **1. Introducción**

El maíz es un cultivo originario de Mesoamérica y existen varios centros de diversidad a lo largo de la cordillera de los Andes. Desde México hasta la Región Andina de América del Sur, constituye una fuente de alimento esencial, en particular en zonas rurales. A fines del siglo XV el maíz fue introducido en Europa, donde se convirtió en un factor clave de la alimentación humana y animal. Hoy se desarrolla en todos los continentes, donde ocupa la tercera posición en cuanto a producción total de cereales, detrás del arroz y el trigo (Gear, 2006).

Nuestro país es el segundo exportador de maíz luego de los Estados Unidos y el quinto productor mundial (USDA, 2010). A lo largo de su historia la Argentina se ha desarrollado como productora de materia prima con escaso valor agregado. Esto se ve reflejado en el hecho de que cerca del 60 % de la producción se destina a la exportación principalmente como grano y sin diferenciar. En la campaña 2007/2008 el 53 % se empleó para elaborar alimentos balanceados, el 41 % ingresó al proceso de molienda húmeda y el 6 % restante se sometió a las operaciones que comprenden la molienda seca (Lezcano, 2008). En 2009 la demanda interna de maíz alcanzó los 9 millones de toneladas. La molienda declarada alcanzó 3,19 millones de toneladas, de los cuales 1,9 millones se utilizaron en la industria de balanceados, 1,8 millones para molienda húmeda y 0,16 para molienda seca (Pouiller y Umaran, 2010). El sector maicero se encuentra volcado mayoritariamente a un solo segmento de su espectro de posibilidades y fundamentalmente a los productos primarios con la consiguiente pérdida de oportunidades y las importantes debilidades que se presentan frente las variaciones del mercado internacional. Esto hace que la investigación sobre distintas opciones de industrialización cobre especial importancia a fin de agregar valor a los productos, proporcionar competitividad y capacidad de adaptación al sector e incrementar la demanda de empleo.

El grano de maíz es una importante fuente de materia prima para producir almidón y derivados, como edulcorantes, aceite y alcohol, entre otros, los cuales también pueden ser utilizados como materia prima en la industria química, y en algunos casos como reemplazo de los derivados del petróleo. A diferencia de este último, el maíz presenta ciertas ventajas ya que es un recurso renovable, los productos finales obtenidos son biodegradables y su degradación no altera el balance de anhídrido carbónico atmosférico. La utilización de este cultivo en la alimentación humana presenta una de las opciones de mercado con mayor valor agregado y con más posibilidades de desarrollo debido a la amplia variedad de productos y al desafío que representa la creciente demanda en la calidad de los mismos (Doane, 1989).

### **1.1. Producción de alimentos de calidad diferenciada. Importancia tecnológica de las materias primas y de la conservación de la biodiversidad**

En el área de los alimentos es importante y creciente la utilización del maíz en comidas listas para consumir de tipo “snack”, con un atractivo potencial para incorporar aditivos que fortalezcan su calidad nutricional (Ziegler y col., 1984; White y Pollak, 1998).

Las exigencias del consumidor orientan a la permanente búsqueda de los mejores atributos organolépticos como forma, textura y sabor. En este aspecto juega un rol de importancia la calidad tecnológica del grano, que debe diferenciarse mediante sus propiedades fisicoquímicas y su aptitud frente a los procesos de transformación (Watson, 1987; 1988; Ziegler, 2001). Como se destacó antes, la diversidad de aplicaciones reviste gran importancia para la producción de granos de maíz. En este sentido, Argentina tiene una posición favorable porque es uno de los principales productores y exportadores a nivel mundial, ocupando el 10,5 % del volumen total exportado entre el 2008 y 2009 (U.S. Grain Council, 2010). Dos

importantes productos alimenticios son el maíz pisingallo inflado o “pochoclo” y los copos u hojuelas de maíz o “corn flakes”, presentando este último un crecimiento del 27 % en el volumen exportado durante el segundo semestre de 2004 (Subsecretaría de Economía Agropecuaria, 2004). En 2009 el principal alimento de maíz para consumo humano exportado por Argentina fueron los cereales de desayuno y dentro de estos la mayor proporción correspondió a los copos de maíz (Pouiller y Umaran, 2010). Esta situación ha generado interés en la investigación para mejorar todos aquellos aspectos que puedan aportar a la calidad diferenciada de esta materia prima, satisfacer los mercados exigentes en el tipo de producto según su utilización final, e incrementar en definitiva su valor agregado.

En la actualidad existen sobrepuestos para algunas variedades de maíz que por sus propiedades específicas son preferidos, tal es el caso del maíz “pisingallo” que en sus distintas variantes (color, brillo, tamaño, grado de expansión) satisface la demanda diferenciada del mercado a nivel mundial. Se han podido obtener sobrepuestos, que oscilan entre 25 y 40% respecto de otros tipos de maíces.

La diversidad genética representa la variación heredable dentro y entre poblaciones de organismos. La función de la diversidad genética es la de mantener un reservorio de condiciones de respuesta al medio, que permita la adaptación y la supervivencia. En la medida que la base genética de un cultivo se torna más homogénea se incrementan los riesgos de pérdidas por ataques de enfermedades, plagas y adversidades climáticas (Eyherabide, 2004a).

Se considera que, en especies cultivadas, el factor de mayor importancia en la pérdida de diversidad es el reemplazo de las variedades tradicionales y razas locales, con amplia variabilidad genética, por materiales mejorados de mayor rendimiento pero con gran uniformidad genética, o por otros cultivos más productivos y/o más rentables. En la región maicera núcleo de la Pampa Húmeda se cultivaba el Maíz Plata de tipo de grano amarillo

anaranjado intenso. En la década de 1920, se introdujeron las primeras variedades comerciales y durante la década de los años 50 se inició la difusión de los primeros maíces híbridos. Actualmente en la Región Pampeana las poblaciones de maíz Plata y de otros tipos antiguamente cultivados sufrieron una disminución importante ya que fueron reemplazados por híbridos comerciales de mayor rendimiento en peso de granos (Eyherabide y col., 2005; Ferrer, 2007). Sin embargo, existe en la actualidad un incremento en el desarrollo de líneas de maíz con características adaptadas a usos tecnológicos específicos ya sea por su dureza, contenido y calidad de aceite, calidad proteica y resistencia a enfermedades (Eyherabide, 2004b). En la actualidad existen variedades disponibles comercialmente de maíz colorado duro que corresponden a híbridos desarrollados a partir de germoplasma de las variedades tipo Plata originarias. Es de destacar que el valor de calidad tecnológica puede superar al de rendimiento a campo siempre y cuando se encuentren las condiciones de comercialización diferenciada que aseguren un reconocimiento económico a la calidad.

La industria de la molienda seca es la que provee los “flaking grits” (fracciones gruesas de endosperma) que ingresan al proceso de elaboración de los copos de maíz para desayuno, productos fermentables para la industria cervecera, sémolas para alimentación humana y harinas diversas (Aguirrezabal y Andrade, 1998). La calidad de grano exigida por esta industria apunta a la obtención de altas proporciones de fracciones gruesas en la molienda, esto es favorecido principalmente por la dureza y el tamaño del grano (Wu, 1992; Serignese y Pescio, 1995). La dureza del grano es una propiedad intrínseca que se expresa en la resistencia a la acción mecánica y está asociada a la composición bioquímica del endosperma (Wu, 1992; Robutti y col., 1994; Eyherabide y col., 1996; Mestres y Matencio, 1996; Robutti y col., 1997). El maíz argentino de tipo colorado duro presenta mayor proporción de endosperma córneo, es más duro y contiene casi el doble de pigmentos carotenoides respecto de las

variedades de maíz dentado americano. En el proceso de molienda seca se fragmenta en trozos de mayor granulometría y el germen se despega con facilidad del endosperma, generando por lo tanto un mayor rendimiento en *grits* (Eyherabide y col., 1996; Hourquescos y col., 1999; Seetharam y col., 2001; Cirilo, 2007). La resolución 757 de la SAGPyA especifica los atributos que debe reunir un maíz “Plata”. La Comunidad Europea no produce este tipo de maíz, donde se estima un mercado potencial de 300 mil toneladas por año, y cuya industria depende fundamentalmente de las importaciones de maíz duro argentino (Cirilo, 2007).

Por lo hasta ahora descrito, los sectores involucrados en la cadena agroalimentaria y agroindustrial del maíz, incluido el comercio exterior, presentan necesidades de materias primas específicas para la elaboración y exportación de productos. En este escenario, y considerando demandas explícitas desde la agroindustria hacia los acopiadores y de éstos a los sectores productivos, se crean a su vez requerimientos tecnológicos para el desarrollo de nuevas alternativas productivas y de manejo, dedicadas a la producción de una variada gama de nuevos tipos diferenciados de maíz (Pollak, 2003).

Los copos de maíz pueden producirse principalmente a través de dos tipos de procesos industriales diferentes. El proceso basado en extrusión parte de harina de maíz como materia prima, en este caso la cocción se realiza en el extrusor a partir de la cual se obtienen “beads” o perlas que luego son laminadas. El proceso tradicional, llamado así porque fue el primero en desarrollarse, utiliza *flaking grits* como materia prima, los cuales son cocidos y luego laminados (Fast, 1999). El interés en el sector industrial que utiliza este último proceso radica en que al utilizar *grits* y no harina de maíz como materia prima, es un generador de demanda de maíces de calidad diferenciada con aptitudes tecnológicas específicas y orientados hacia objetivos de calidad basados en la preferencia del consumidor.

Generalmente se han asociado los aspectos genéticos con la eficiencia en los procesos industriales. Sin embargo, para los maíces duros argentinos no hay antecedentes sobre estudios que relacionen aspectos tales como composición, estructura y condiciones operativas de procesos aplicados, con el rendimiento en *grits* y la calidad del producto final (*corn flake*) frente al proceso de gelatinización-laminado.

### **1.2. Materia prima: composición y estructura del grano de maíz**

La Figura 1-1 muestra un esquema de la estructura de la semilla de maíz. Está compuesta por cuatro estructuras principales: el pericarpio o cáscara, el embrión o germen, el endosperma y finalmente el pedicelo (es el tejido que une la semilla al marlo) (FAO, 1992). La distribución en peso de los distintos componentes del grano de maíz depende de la variedad analizada. En promedio el endosperma representa el 80 a 85 % del grano, el pericarpio y la capa de aleurona (que se desprenden juntos en la molienda seca) representan del 7 al 9 % y el germen del 10 a 12 % respectivamente (Bressani y Mertz, 1958).

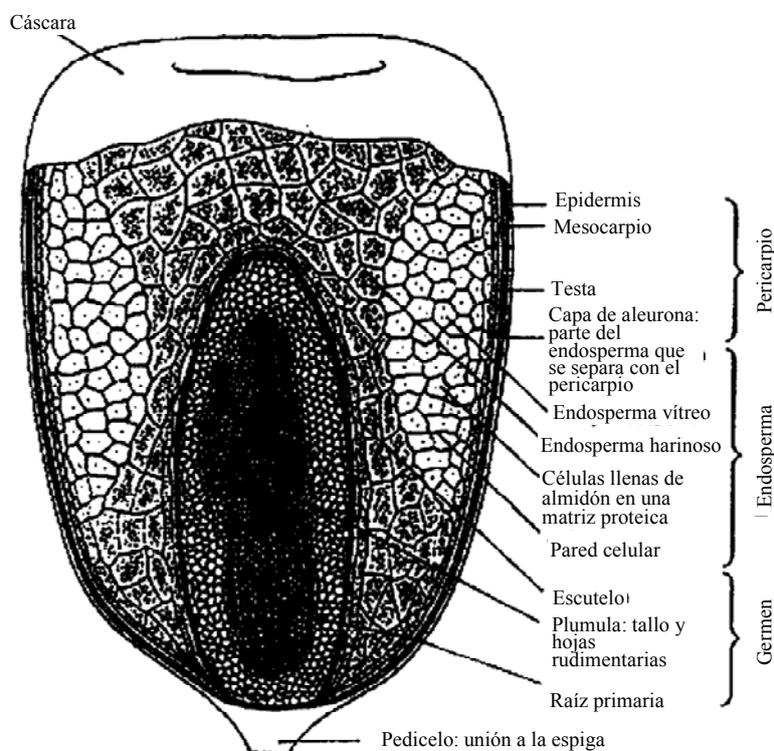


Figura 1-1: Estructura del grano de maíz (FAO, 1992).

En la Tabla 1-1 se muestra la composición química de las distintas partes del grano (Watson, 1987). El endosperma, contiene la mayor parte del almidón; el germen posee un alto contenido de aceite y proteínas y el pericarpio y el pedicelo están constituidos fundamentalmente por carbohidratos estructurales.

Tabla 1-1: Composición química genérica de las distintas partes que componen el grano de maíz expresado en g/100g de materia seca (Watson, 1987).

Partes del grano	Almidón	Aceite	Proteína	Cenizas	Azúcares	Carbohidratos extraíbles.
Endosperma	87,6	0,8	8,0	0,3	0,6	2,7
Germen	8,3	33,2	18,4	10,5	10,8	8,8
Pericarpio	7,3	1,0	3,7	0,8	0,3	86,7
Pedicelo	5,3	3,8	9,1	1,6	1,6	78,6
Grano total	73,4	4,4	9,1	1,4	1,9	9,8

El endosperma del grano de maíz se divide en vítreo (o córneo) y harinoso en base a su dureza o resistencia mecánica (Landry y col., 2004). El endosperma vítreo se identifica además por su mayor traslucidez (Felker y Paulis, 1993). Ambos tipos de endosperma difieren en el contenido y en el tipo de proteínas, el endosperma vítreo presenta mayor contenido de proteínas y se encuentra enriquecido en zeínas respecto del harinoso (Mestres y Matencio, 1996; Landry y col., 2004; Robutti y col., 2005). Además la proporción de cada tipo de endosperma y la dureza del grano están afectadas por el genotipo y el manejo agronómico (Tanaka y col., 2005).

En la Figura 1-2 se muestra una imagen de un grano de maíz colorado tipo “flint” y los *grits* para laminados producidos por el proceso de molienda seca. Los *grits* que tienen el tamaño de un tercio a un cuarto del grano son los más adecuados para la producción de copos de maíz. Se observa el endosperma expuesto donde puede diferenciarse el endosperma vítreo del harinoso.

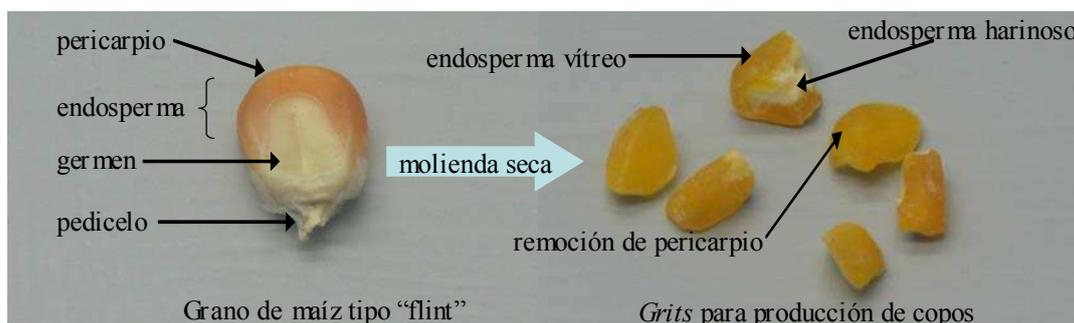


Figura 1-2: Grano de maíz y *grits* producidos por la molienda seca. Durante el proceso se pierden el pericarpio, el germen y el pedicelo quedando expuesto el endosperma.

### 1.2.1. Almidón

El almidón se encuentra en el endosperma de los granos de maíz en forma de gránulos, que se forman en organelas celulares llamadas amiloplastos. Los gránulos de almidón se encuentran inmersos en una matriz proteica compuesta por proteínas de reserva llamadas zeínas y glutelinas; las interacciones entre ambos serían, en parte, responsables de la textura del endosperma (Robutti y col., 1994) (Figura 1-3).

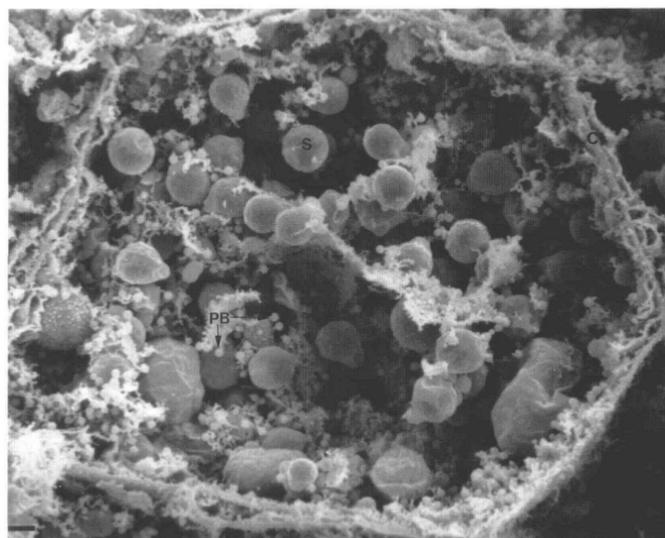


Figura 1-3: Micrografía de una célula del endosperma de maíz donde se observan los gránulos de almidón (S) y los cuerpos proteicos (PB) (López y Larkins, 1993).

La composición de los gránulos de almidón está dada principalmente por un conjunto de polisacáridos de reserva constituido por dos polímeros de glucosa de alto peso molecular: amilosa y amilopectina.

La amilosa es un polímero prácticamente lineal formado por moléculas de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ 1-4. Posee pocas ramificaciones unidas por enlaces  $\alpha$ 1-6. Menos de la mitad de la amilosa está ramificada y tiene un promedio de 20 ramificaciones por molécula (Hizukuri y col., 1997). Su peso molecular está en el orden de los (100 kDa) (Svihus y col., 2005). Los enlaces  $\alpha$ 1-4 imparten a la molécula un giro gradual haciendo que tome forma de hélice. Esta estructura está favorecida por la formación de puentes hidrógeno entre residuos de glucosa adyacentes. Hacia el interior de la hélice se encuentran fundamentalmente átomos de hidrógeno unidos a átomos de carbono, de modo que éste presenta características hidrofóbicas. Esto explica las propiedades de la amilosa de formar complejos con pequeñas moléculas como los iones  $I_3^-$  (Knutson, 1986).

La amilopectina está formada por cadenas de glucosa más cortas que aquellas de amilosa, con gran cantidad de ramificaciones conectadas por enlaces  $\alpha$ 1-6. Posee aproximadamente una ramificación por cada 20 residuos de glucosa y su masa molar es mucho mayor que el de la amilosa ( $10^4 - 10^6$  KDa) (Hizukuri y col., 1997). Los distintos segmentos de las cadenas de amilopectina se designan como A, B y C. Las cadenas A no tienen ramificaciones y están unidas al resto de la molécula por un enlace  $\alpha$ 1-6. Las cadenas B también están unidas por un enlace  $\alpha$ 1-6 y pueden llevar una o más cadenas A o B. La cadena C tiene el único grupo reductor de la molécula (Figura 1-4) (Zobel, 1988b; Svihus y col., 2005).

La concentración de amilosa en maíz es de aproximadamente 27 % y el de amilopectina de un 73 %, estos valores pueden variar en función del híbrido (Krueger y col., 1987; Zobel,

1988a; 1988b; Seetharaman y col., 2001) y del ambiente de cultivo (Lenihan y col., 2005). En los maíces de alta amilosa (amilomaíz) el contenido puede variar del 50 al 70 %.

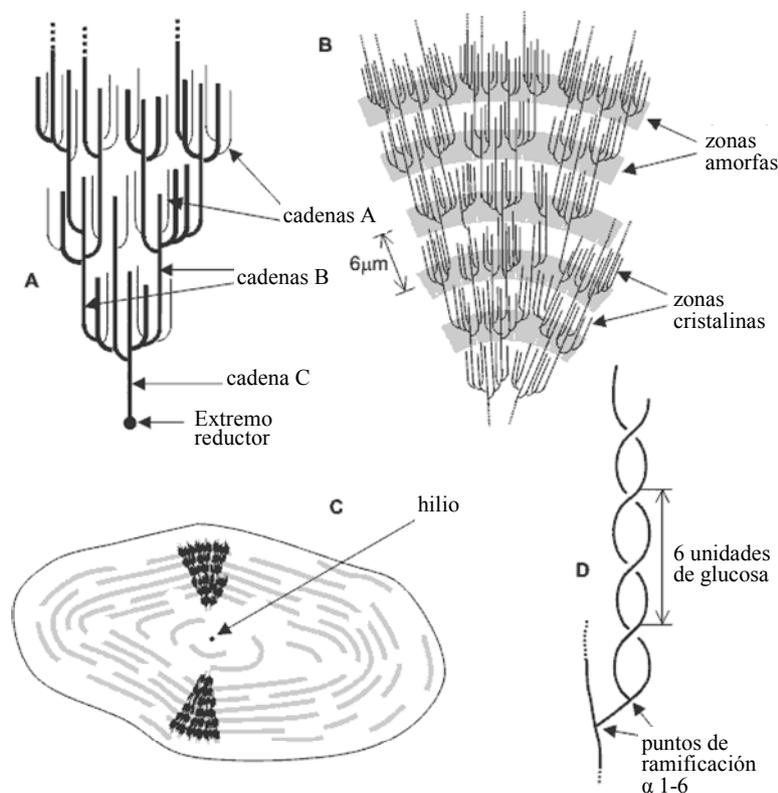


Figura 1-4: Estructura de la amilopectina. A: molécula de amilopectina. B: disposición de las regiones cristalinas y amorfas. C: orientación de las moléculas de amilopectina en un corte de un gránulo de almidón. D: detalle de una región de doble hélice.

El almidón presenta una estructura organizada en capas semicristalinas y amorfas alternadas. Las regiones cristalinas se forman por la asociación de las cadenas de amilopectina en las zonas entre las ramificaciones como se muestra en la Figura 1-4. El almidón de maíz normal presenta una estructura compuesta por cristales tipo A. En éstos, la amilosa y la amilopectina aparecen con dominios bien definidos y separados (Knutson, 1990). También puede presentarse una estructura diferente llamada tipo B en almidones de amilomaíz (Zobel, 1988a).

### 1.2.2. Proteínas

Según los estudios de Osborne (1897), las proteínas del endosperma del maíz, así como las de otros cereales, se pueden clasificar de la siguiente manera según su solubilidad: albúminas, solubles en agua; globulinas, solubles en solución salina; zeínas, solubles en etanol al 70 % y glutelinas, solubles en álcalis diluidos, cuando se extraen en esa secuencia (Wall y col., 1988).

Las zeínas (proteínas de almacenamiento del maíz) son prolaminas solubles en alcohol y se localizan en cuerpos proteicos de 1 a 2  $\mu\text{m}$  de diámetro que se forman a partir del retículo endoplásmico rugoso (Herman y Larkins, 1999). Las zeínas se dividen en varias clases: zeínas  $\alpha$ , que están localizadas en el centro de los cuerpos proteicos y contienen grandes cantidades de glutamina y leucina así como también aminoácidos hidrofóbicos; zeínas  $\beta$ , que son ricas en metionina (PM 14.000) y zeínas  $\gamma$ , compuestas por dos polipéptidos ricos en prolina de peso molecular 27.000 y 16.000, (Wilson, 1991; Batterman-Azcona y col., 1999). Las zeínas  $\beta$  y  $\gamma$  están localizadas en la periferia de los cuerpos proteicos y contienen altas cantidades de cisteína comparadas con las zeínas  $\alpha$  (Robutti y col., 2002). La cantidad y la distribución de las zeínas han sido relacionadas con la dureza endospermica del maíz (Robutti y col., 1994; 2005). Existe evidencia que indica que su distribución en el endosperma no es uniforme, el endosperma vítreo (o córneo) presenta mayor cantidad de zeínas  $\alpha$  comparado con el endosperma harinoso lo cual indica que la diferencia de dureza dentro del endosperma de una semilla podría estar influenciada por la expresión diferencial de estas proteínas (Robutti y col., 1997).

### 1.2.3. Compuestos lipídicos y pigmentos

El contenido de lípidos del total del grano de maíz es de alrededor del 5 % (Weber, 1987b). La mayor parte se encuentra en el germen depositado las células del escutelo en gotas llamadas cuerpos de lipídicos (Watson, 1987). La composición promedio de los ácidos grasos de las variedades argentinas de maíz es la siguiente: palmítico (16:0): 12 %; esteárico (18:0): 1,9 %; oleico (18:1) 32 %; linoleico (18:2): 51 % (Dunlap y col., 1995). El contenido de lípidos del endosperma es mucho menor (0,3 a 0,6 %) (Morrison, 1995; Caldwell y col., 2000). En el almidón de los cereales los lípidos se encuentran asociados a la amilosa de manera que se han detectado fracciones de amilosa formando complejos con ácidos grasos y amilosa libre (Morrison y col., 1993; Svihus y col., 2005) además las transiciones térmicas asociadas a dichos complejos pueden observarse por calorimetría diferencial de barrido (DSC), (Biliaderis y col., 1986).

En el grano de maíz están presentes dos tipos de pigmentos carotenoides, carotenos y xantófilas, los cuales son los responsables primarios del color del grano (Weber, 1987a). Los carotenos son precursores de la vitamina A, y en general estos pigmentos tienen actividad antioxidante, además inciden en el color de los productos y alimentos elaborados utilizando el maíz como materia prima. Las principales xantófilas presentes en el maíz son luteína, xantina y zexantina. Los pigmentos carotenoides no se distribuyen en forma uniforme en el endosperma. Su concentración es mayor en el endosperma córneo respecto del endosperma harinoso (Weber, 1987a). Existe evidencia que indica que las xantófilas interactúan con las zeínas debido a su hidrofobicidad (Moros y col., 2002), la cual es apoyada por modelos moleculares de zeínas  $\alpha$  que indican que la luteína puede estabilizar su configuración helicoidal (Momany y col., 2005).

Los tocoles (tocoferoles + tocotrienoles), entre ellos los que tienen actividad de vitamina E, presentan actividad antioxidante (Gregory, 2008). Estos compuestos se encuentran mayoritariamente en el germen que contiene del 60 al 90 % del total de tocoles del grano, el resto se encuentra en el endosperma, presentando el endosperma vítreo mayor concentración (7-25 %) que el endosperma harinoso (3 -11%) (Weber, 1987a).

### **1.3. Descripción del proceso tradicional de producción de copos de maíz**

Este proceso ha sido descrito detalladamente por Culbertson (2004), en el mismo cada *grit* se convierte en una hojuela. La producción de copos de maíz por el proceso tradicional implica los siguientes pasos que se describirán en detalle:

- Molienda seca
- Preparación de la formulación
- Cocción
- Secado y temperado
- Laminado
- Tostado
- Agregado de coberturas o fortificación

#### **1.3.1. Molienda seca**

La molienda seca es el proceso en el que se separan las distintas partes que componen los granos de maíz. En este proceso el grano se humedece con aspersores de agua para facilitar el desprendimiento del endosperma. Luego pasa por un molino rotatorio (desgerminadora) que separa el pericarpio, el germen y parte del endosperma. El producto molido se clasifica por peso separando el germen y el pericarpio por un lado, y los trozos de endosperma por otro. Estos últimos pasan por un sistema de zarandas que los clasifican por

tamaño. De esta manera se obtienen los siguientes productos: maíz troceado (*grits*); sémolas, como sustituto de la malta para la industria cervecera; harina de maíz para polenta; harina fina: destinada a la elaboración de galletitas, alfajores, bizcochos, pan de maíz, emulsiones cárnicas; harina zootécnica: destinada a la alimentación animal como sustituto del maíz; germen: destinado a la extracción de aceites y salvado: utilizado en la elaboración de galletitas y otros productos panificados con el objetivo fundamental de aumentar el contenido de fibra del producto (Álvarez, 2006).

Los *grits* no deben contener restos de germen o de pericarpio. Cuando se utilizarán para copos de maíz la humedad final debe estar entre 12 y 13 %. Ya que la mayor parte del aceite del maíz se encuentra en el germen, su remoción ayuda a disminuir los procesos de deterioro provocados por la oxidación de lípidos. Además, los restos de germen se oscurecen más que el endosperma durante la cocción y producen manchas negras luego del tostado. La inclusión de partes del pericarpio en el proceso produciría copos poco uniformes. Típicamente un *grit* tiene el tamaño de aproximadamente un tercio del grano original.

### 1.3.2. Formulación

Previo a la laminación los *grits* deben cocinarse. Para esto se agrega agua conteniendo agentes de formulación, lo que se conoce como jarabe de cocción. Normalmente se utiliza extracto de malta, sal y azúcar. Esta solución favorece las reacciones que desarrollan *flavor* y color deseados. La composición de una formulación típica es 3,7 Kg de azúcar, 1 Kg de jarabe de malta y 1 Kg de sal por cada 45 Kg de *grits*, se utiliza la cantidad de agua necesaria para lograr una humedad de 32 % al final de la cocción (Fast, 2000). En el caso que se requiera fortificar los cereales se pueden agregar minerales y/o vitaminas que sean estables a las altas temperaturas (Borenstein y col., 1990).

El extracto de malta según la definición del código alimentario argentino es: “el producto seco o de consistencia siruposa o pastosa, obtenido exclusivamente con malta de cebada sometida a tratamientos especiales (maceración, digestión, concentración u otros)”. Para su producción se realiza una germinación controlada, equilibrando la cebada a 18 % de contenido de agua, lo cual favorece la producción de enzimas de degradación del almidón. Este proceso dura unos 6 días durante los cuales una importante proporción del almidón es degradada a maltosa y otros carbohidratos reductores. El grano de cebada en este estado se seca y se muele para producir malta. El jarabe de malta es un extracto acuoso de malta concentrado con una concentración 78 - 82 % de sólidos. La composición de los extractos comerciales en base seca es la siguiente: 91-93 % de carbohidratos, 6 - 7 % de proteínas (%N x 6,25), 1 - 2 % de cenizas y 55 - 60 % de azúcares reductores (Hough, 1990). El que se utiliza en la producción de cereales de desayuno no debe contener residuos de enzimas de degradación del almidón debido a que estas podrían ablandar los *grits* durante el proceso.

### **1.3.3. Cocción**

La cocción se realiza mediante vapor a presión, aproximadamente 1215,9 hPa (1,2 atm), en cilindros rotatorios de acero inoxidable con capacidad de unos 1000 Kg durante unas dos horas. La rotación ayuda a la distribución uniforme del vapor y el calor y evita que los *grits* se adhieran entre si durante el proceso. El *grit* cocido presenta una importante coloración debida al pardeamiento no enzimático y aspecto transparente. La cocción incompleta produce *grits* con centros blancos que luego producirán copos con manchas claras. El contenido de agua al final de la cocción es de 28 a 34 (gH<sub>2</sub>O/100g<sub>muestra</sub> (%bt)). Durante esta etapa se gelatiniza el almidón y se producen aromas y sabores característicos.

Durante la cocción y a pesar de la rotación de los tambores se producen aglomerados que deben romperse. Esto se realiza removiendo los *grits* cocidos en tambores con agitadores que poseen proyecciones metálicas o barras de acero. Además se pasa aire que enfría los *grits* y hace que la superficie externa se vuelva menos pegajosa.

### **1.3.4. Secado y temperado**

La humedad con la que los *grits* salen del cocinador es demasiado alta para que puedan ser laminados. El contenido de agua se reduce hasta 14 a 17 % utilizando una corriente de aire caliente (Miller y Gillespy, 2000). El secado debe hacerse de manera de no generar un endurecimiento de la superficie que disminuya la posterior pérdida de humedad. En algunos casos en la última etapa del secado los *grits* cocidos se enfrían con aire a temperatura ambiente.

Luego del secado los *grits* cocidos son sometidos a un proceso llamado temperado. Este proceso consiste en el almacenado de los *grits* en un silo con algún tipo de mezclador como un sinfín, y permite que la humedad se homogenice entre y dentro de los *grits*. El temperado dura entre 18 y 24 h y se realiza a una temperatura menor que 38 °C. Los modernos sistemas de secado con humedad controlada pueden reducir el tiempo a 2 o 3 horas. Durante el temperado ocurre cierto grado de retrogradación del almidón gelatinizado. La formación de estructuras cristalinas endurece un poco los *grits* y permite un correcto laminado.

### **1.3.5. Laminado**

El laminado se produce haciendo pasar los *grits* cocidos entre dos rodillos de acero que giran en sentido contrario y presionan los *grits* para darles forma de hojuelas, de esta manera cada *grit* se convertirá en una hojuela o copo de maíz. La distancia entre los rodillos puede ajustarse para regular el espesor de las hojuelas. Dicho espesor es muy importante para la

calidad del producto: si es muy grueso puede resultar de textura dura y si es muy delgado puede romperse demasiado durante el empaclado y el transporte. La presión del laminado genera calor y los rodillos deben ser enfriados pasando agua en su interior para evitar que las láminas se cocinen.

### **1.3.6. Tostado**

El paso final para obtener los copos de maíz es el tostado. Debido a su forma las hojuelas son difíciles de tostar en forma uniforme, los bordes se tuestan más que el centro. Por este motivo los hornos rotatorios o los de lecho fluidizado son los más adecuados para lograr un tostado uniforme. La temperatura de este proceso es de 230 a 315 °C (Fast, 2000) y puede durar unos 3 minutos. En los hornos de lecho fluidizado una corriente de aire caliente suspende al producto y se produce una rápida pérdida de humedad, el copo de maíz sale con 2 a 3 % de agua.

### **1.3.7. Agregado de coberturas o fortificación**

Luego del tostado el producto final puede ser fortificado con vitaminas que no pueden ser agregadas en la cocción debido a las pérdidas que se producirían (vitamina A, B1 o E). Se utiliza un fino *spray* de una solución oleosa o acuosa de alta concentración para reducir en lo posible la cantidad de lípidos o agua agregada a los copos.

Para generar mayor variedad de productos los cereales pueden recubrirse con azúcar u otra cobertura saborizante. Esto se realiza en tambores rotatorios donde se aplica un *spray* de la solución de cobertura mientras la rotación asegura su correcta distribución. Luego se necesita un proceso de secado para remover la humedad agregada con el azúcar. La sacarosa cristaliza en la superficie de los copos generando el aspecto característico de escarchado.

## **1.4. Transformaciones físicas durante la elaboración y almacenamiento**

Durante la elaboración de los copos de maíz en cada etapa ocurren transformaciones físicas relacionadas con los componentes de la materia prima, el contenido de agua y las variables temperatura y presión. Estos fenómenos producen cambios de estructura de las que resulta un producto final con determinadas características. De manera que la calidad del producto final dependerá de la posibilidad de romper, crear y transformar estructuras, que además definen la textura.

En la molienda seca se retiran partes del grano. En la cocción ingresa agua al grano, se gelatiniza el almidón y cambia el color de los *grits*. En el secado se pierde agua y en el temperado ocurre cierta retrogradación del almidón. En el laminado el material se comprime y esto produce un cambio de forma. En el tostado se pierde una cantidad importante de agua y se generan las ampollas características. Durante el almacenamiento si la humedad y temperatura se conservan en valores adecuados, los cambios físicos ocurren muy lentamente pero pueden dar origen a efectos tales como pérdida de aromas a largo plazo, y además pueden ocurrir reacciones de oxidación, que se discutirán más adelante.

### **1.4.1. Transiciones de fase y estado**

Las transiciones de fase y estado durante el procesado y/o almacenamiento de productos de maíz tienen efectos significativos en las propiedades físicas del material.

En termodinámica, las transiciones de fase y estado se clasifican de acuerdo con los cambios abruptos o discontinuidades que sufren ciertas funciones de estado a la temperatura de transición. En las transiciones de primer orden, las funciones entalpía, entropía y volumen

(relacionadas con la primera derivada de la energía libre con respecto a la temperatura) muestran un cambio abrupto a la temperatura de la transición. En las transiciones de segundo orden, las funciones termodinámicas entalpía, entropía y volumen tienen un valor constante al variar la temperatura, pero hay una discontinuidad en la capacidad calorífica, el coeficiente de expansión térmica y el coeficiente de compresibilidad a la temperatura de la transición, y constituyen cambios de estado sin cambios de fase.

Las transiciones que ocurren entre los tres estados de agregación (sólido, líquido y gaseoso) son cambios de fase de primer orden (Roos, 1995b). Las transiciones de primer orden más comunes en alimentos incluyen la fusión y la cristalización de agua, azúcares o lípidos. La desnaturalización de proteínas (pérdida de la estructura nativa) y gelatinización del almidón (rotura y fusión de las regiones cristalinas de los gránulos), son procesos fuera del equilibrio y por lo tanto no pueden describirse en términos de transiciones termodinámicas, pero guardan semejanza con los cambios de fase correspondientes a la fusión. Por otro lado, la agregación de proteínas y la retrogradación del almidón pueden asemejarse a la cristalización.

### **1.4.1.1. Gelatinización y retrogradación de almidón**

La cocción de suspensiones de almidón causa la gelatinización o disrupción de los gránulos, dependiendo de la severidad de los tratamientos aplicados. Podemos referirnos a la gelatinización como al hinchamiento del gránulo y la pérdida de orden (birrefringencia y cristalinidad) (Atwell y col., 1988; Lii y Lineback, 1977; Greenwood, 1984).

La región amorfa es menos densa y más susceptible a la difusión de agua y de pequeñas moléculas solubles en agua ( $PM < 1000$  Daltons). Al suspender almidón en agua, e ir calentando la suspensión, a temperaturas inferiores a la de gelatinización, la región amorfa absorbe agua y sufre un hinchamiento reversible. Los gránulos adsorben agua hasta que la

fase amorfa está totalmente plastificada por el solvente. Al continuar el calentamiento ingresa más agua al gránulo y se produce la ruptura de los puentes H en los cristalitos y la pérdida de la estructura cristalina. Al enfriar los almidones gelatinizados que contienen amilosa y amilopectina, se forma un gel como una malla compuesta que consiste en gránulos hinchados enriquecidos en amilopectina (siempre que la integridad del gránulo se mantenga) y una matriz continua formada por amilosa.

Si la cantidad de agua es suficiente y la temperatura adecuada, durante un tiempo largo de almacenamiento, la amilopectina recristaliza y así aumenta la rigidez de los gránulos hinchados lo cual refuerza la fase continua.

Mientras en el almidón nativo la amilopectina es el principal componente cristalino, la amilosa y la amilopectina están involucradas en las reasociaciones moleculares en el envejecimiento de geles de almidón y productos horneados, resultando efectos tales como precipitación y opacidad que se acompañan por un aumento de rigidez y separación de fases entre el polímero y el solvente (sinéresis).

Este comportamiento de los almidones gelatinizados durante el enfriamiento y almacenamiento, se denomina retrogradación y es de gran interés ya que su profundidad afecta la calidad, aceptabilidad y vida de estantería de los alimentos que contienen almidón.

Por analogía con polímeros sintéticos, la gelatinización y retrogradación se pueden ver como fusión y recristalización del almidón en presencia de agua, pero fuera del equilibrio.

### **1.4.1.2. Transición vítrea**

Muchos alimentos deshidratados contienen componentes en estado amorfo (Roos y Karel, 1991d). El aspecto de este tipo de materiales (vidrios) es el de un sólido rígido quebradizo que puede pasar al estado de líquido sobre-enfriado dependiendo de la

temperatura y de la presencia de agua. El cambio entre los estados vítreo y líquido sobre-enfriado se conoce como transición vítrea ( $T_g$ ) y corresponde a una temperatura a la cual los vidrios empiezan a ablandarse y fluir (Sperling, 1986). La transición vítrea tiene ciertas características de las transiciones de segundo orden. Sin embargo, se trata de un cambio de estado, y no de fase, entre estados de no equilibrio, que ocurre en un rango de temperatura el cual depende de la velocidad de calentamiento, de la historia térmica del producto, de la masa molar y del contenido de agua (Roos, 1998). Además existen fundamentos para afirmar que se trata de un fenómeno de características cinéticas y no termodinámicas (Debenedetti, 1996).

### 1.4.1.3. Relajaciones entálpicas

El fenómeno de relajación entálpica es una característica importante de los materiales amorfos, y es usualmente observado durante el calentamiento en el rango de la  $T_g$  (Roos, 1995b). Los materiales amorfos vítreos son termodinámicamente inestables y durante el almacenamiento sus estructuras suelen relajar hacia el estado de equilibrio (Hay, 1993). El fenómeno de relajación entálpica es común a azúcares (Kawai y col., 2005; Inoue y Suzuki, 2006), proteínas (Badii y col., 2005) y almidones (Kim y col., 2003), así como a otros polímeros. Un material tendrá mayor relajación entálpica cuando la temperatura de envejecimiento sea cercana pero menor que  $T_g$ , cuanto mayor sea el tiempo de envejecimiento y cuanto mayor sea el contenido de agua de las muestras. Las relajaciones entálpicas son importantes dado que permiten estudiar la movilidad molecular de los sistemas cuando se encuentran almacenados por debajo de su  $T_g$  (Petrie, 1972; Hancock y col., 1995; Kawai y col., 2005). Dependiendo del sistema en estudio, el pico de relajación puede aparecer superpuesto (como en el caso de los azúcares como la trehalosa) o no con la  $T_g$  (Roos, 1995b)

### 1.4.2. Calorimetría diferencial de barrido

La técnica más utilizada para determinar las temperaturas de transiciones térmicas es la calorimetría diferencial de barrido. En esta técnica, la muestra se calienta a una velocidad constante en una cápsula sellada, y se mide la diferencia de calor absorbido o entregado por la muestra respecto de una cápsula vacía que se utiliza como referencia.

La gelatinización del almidón, que es una de las principales causas de cambios físicos durante el procesado de productos de cereales, revela uno o varios eventos endotérmicos durante el calentamiento de sistemas de almidón-agua, dependiendo de la cantidad de agua utilizada. La retrogradación se manifiesta por la reaparición del evento endotérmico, luego de un tiempo de almacenamiento de un almidón previamente gelatinizado.

La Figura 1-5 muestra un perfil térmico de almidón de cereal (arroz con 22 % de amilosa) con 50 % de sólidos. Las endotermas indicadas como  $M_1$  y  $M_2$  (térmicamente irreversibles con el recalentamiento inmediato) reflejan la fusión de los cristales de la amilopectina; la pérdida total de la birrefringencia y propiedades cristalinas están asociadas con el pasaje de la endoterma  $M_2$ . Por otro lado las transiciones que ocurren a temperaturas superiores  $M_3$  y  $M_4$  se atribuyen a los procesos orden – desorden de los complejo amilosa – lípidos (Biliaderis y col., 1986).

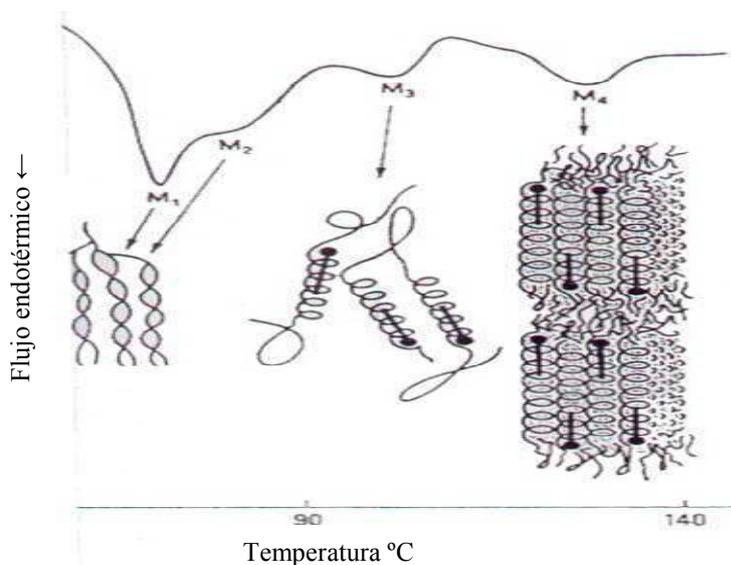


Figura 1-5: Termograma (50 % de sólidos) de almidón de arroz donde se ven las diferentes transiciones de fusión.

Esta técnica también detecta la transición vítrea en base al cambio en la capacidad calorífica ( $\Delta C_p$ ) como un cambio en la línea de base del termograma. En la Figura 1-6 se muestra un esquema de un termograma obtenido por DSC, donde se manifiesta la transición vítrea, que puede estar o no acompañada de eventos de relajación, estos se manifiestan en el termograma como endotermas o exotermas, adaptado de (Roos, 2010).

Existen otras técnicas para determinar  $T_g$ , como por ejemplo análisis dinámicos mecánicos (DMA, también referidos como análisis dinámicos termomecánicos, DMTA) (Kalichevsky y col., 1992), análisis dieléctricos (DEA, también referidos como análisis termodieléctricos, DETA) (Chan y col., 1986; Kalichevsky y col., 1992; Noel y col., 1992; Goff, 1995) y técnicas espectroscópicas como la resonancia magnética nuclear (RMN).

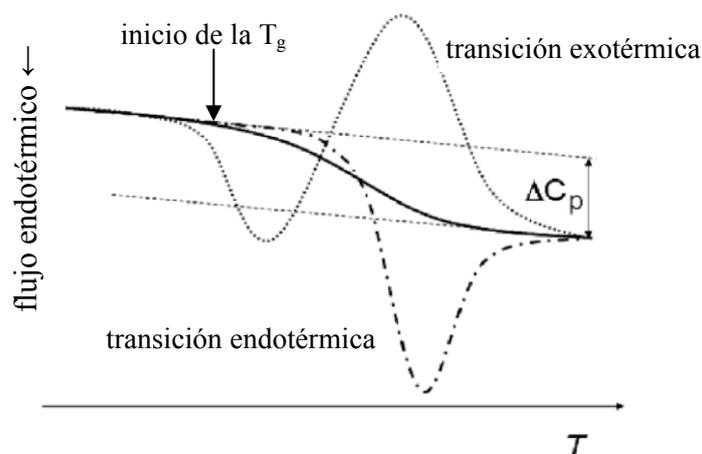


Figura 1-6: Termograma dónde se muestra el cambio en  $C_p$  debido a la transición vítrea y las relajaciones endotérmicas o exotérmicas que pueden presentarse asociadas a esta (Roos, 2010).

## 1.5. Reacciones químicas durante la elaboración y almacenamiento de los laminados de maíz

### 1.5.1. Consideraciones generales

Los cambios dependientes de los tratamientos tiempo/temperatura a que son sometidos los alimentos tanto durante su producción como en el almacenamiento tienen importancia nutricional y son críticos para definir la aceptabilidad sensorial por parte de los consumidores. Además algunos de ellos están relacionados a la seguridad alimentaria. La reacción de Maillard, la caramelización y la peroxidación de lípidos explican un amplio espectro de cambios químicos que llevan a la formación de una variedad de compuestos que incluyen sabores y aromas (*flavors*) y colores que son de importancia fundamental en la calidad de los alimentos. Además de estos compuestos que son deseables, los productos de la reacción de Maillard y la oxidación de lípidos pueden tener efectos negativos como pueden ser, la reducción del valor nutricional de los alimentos producidos por la degradación de

aminoácidos esenciales o la reducción de la digestibilidad debida a la glicosilación de proteínas. Mientras algunos productos de la reacción de Maillard han sido asociados a efectos nocivos para la salud otros pueden tener efectos benéficos como por ejemplo capacidad antioxidante (Yilmaz y Toledo, 2005).

Cuando se calientan azúcares puros en forma anhidra o en solución, éstos se descomponen formando un pigmento pardo de naturaleza polimérica, conocido como “caramelo”. Esta descomposición es catalizada por ácidos y bases. Los azúcares experimentan hidrólisis, enolización, isomerización, deshidratación, fragmentación y oxidación. De este modo, se forman compuestos carbonílicos altamente reactivos que reaccionan entre sí dando polímeros insaturados de color pardo (Hodge y Osman, 1976). El proceso de caramelización también ha sido observado a temperaturas medias (60 a 90 °C) en soluciones diluidas de glucosa (Buera y col., 1987).

La cascada de reacciones que se produce en un alimento implica una serie compleja de pasos que no siguen una ruta lineal. La química de esta reacción comprende una serie compleja de reacciones que ocurren en forma simultánea y se relacionan unas con otras llevando a la formación de una gran variedad de compuestos.

En la Figura 1-7 se muestra un esquema simplificado de los reactivos y productos de las potenciales reacciones químicas que ocurren en alimentos (Buera y col., 2010). Los azúcares reductores, los lípidos insaturados, el ácido ascórbico y los compuestos fenólicos pueden considerarse como los reactivos primarios. Estos compuestos pueden reaccionar directamente o después de su oxidación, con los grupos amino de las proteínas o los aminoácidos (Sikorski y col., 2007).

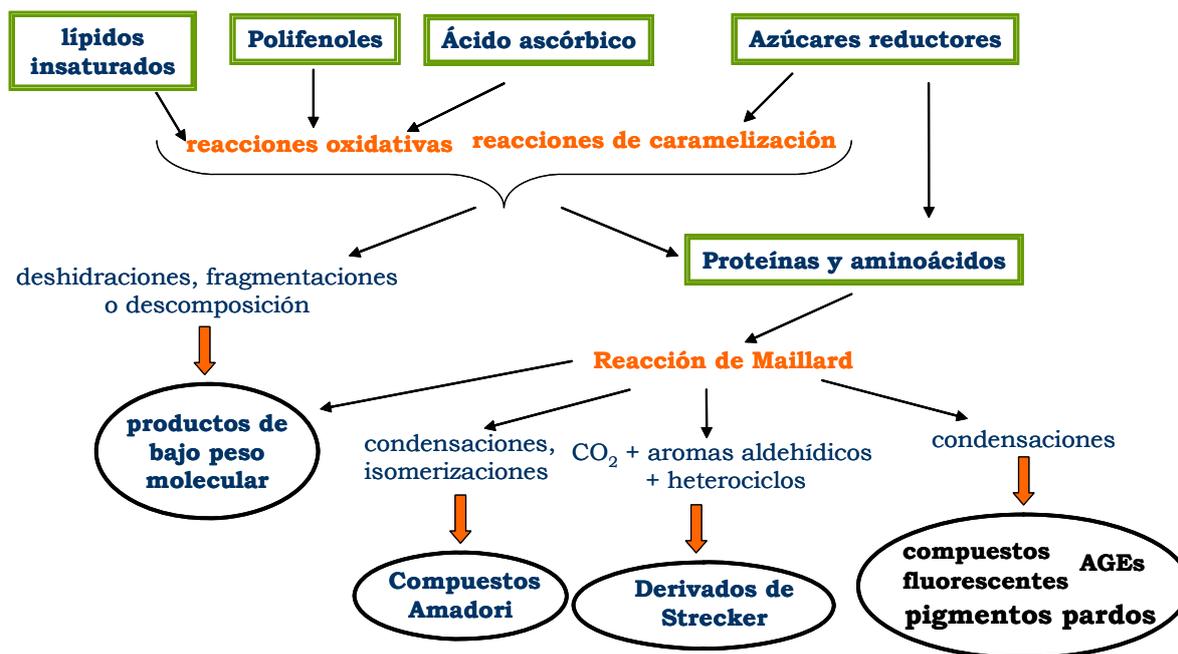


Figura 1-7: Esquema simplificado de los principales reactivos y productos de las reacciones químicas que se producen en alimentos (Buera y col., 2010).

Los azúcares reductores fueron los primeros compuestos estudiados como los principales reactivos en la reacción de Maillard (Maillard, 1912). Actualmente las reacciones de los lípidos oxidados y los compuestos fenólicos oxidados (como los grupos o-quinona) con aminas, aminoácidos y proteínas han recibido atención debido a que provocan cambios deteriorativos importantes en los alimentos (Gardner, 1979; Ericksson, 1987; Friedman, 1996), y participan en la reacción de Maillard, en reacciones de curso similar a las de los azúcares reductores.

Como se ve en la Figura 1-7, los productos de oxidación de los lípidos y polifenoles compiten con los azúcares reductores en la formación de grupos carbonilo reactivos capaces de participar en la reacción de Maillard (Hidalgo y col., 2005). La reacción de Maillard se inicia por el ataque nucleofílico de esos grupos carbonilo sobre los grupos amino de las proteínas, los aminoácidos o el ADN. De esta manera, la reacción de Maillard juega un papel significativo en la modulación de las vías de reacción de los compuestos fenólicos y los

lípidos en los alimentos sometidos a tratamiento térmico y también durante el almacenamiento.

Independientemente de los reactivos, los principales productos de las reacciones más importantes en alimentos (Maillard, caramelización, oxidación) pueden dividirse en cuatro categorías: compuestos de bajo peso molecular, compuestos de Amadori, derivados de la degradación de Strecker y compuestos avanzados de alto peso molecular. Estos últimos pueden ser clasificados en productos finales de glicosilación avanzada (AGE's por sus siglas en inglés, "advanced glycosilated end products"), compuestos fluorescentes y pigmentos pardos.

Generalmente los compuestos intermediarios se determinan por medición de densidad óptica en el rango ultravioleta (280 nm para furfurales), ya que en esta fase aparece un color amarillento y aumenta la absorción en la región UV cercana debido a la deshidratación del azúcar y a la formación de compuestos  $\alpha$ -carbonílicos. La formación de furfurales es sensible a la temperatura y a la actividad de agua y estos han sido ampliamente estudiados como indicadores de tratamiento térmico y utilizados como marcadores de cocción (Ramírez-Jiménez y col., 2000; 2001; Ameur y col., 2006). Entre ellos el 5-hidroximetil-furfural (HMF) es considerado como un importante intermediario en los procesos de pardeamiento (Kroh, 1994).

Se puede realizar el seguimiento de las reacciones de pardeamiento midiendo el desarrollo de fluorescencia, los productos volátiles por cromatografía gaseosa, y además la disminución de pH que ocurre por bloqueo de los grupos aminos y por la generación de compuestos ácidos.

El desarrollo de fluorescencia durante la reacción de Maillard ha sido ampliamente comprobado en numerosos sistemas azúcar-amino y es un buen indicador de pérdida de lisina y por lo tanto de calidad alimentaria de las proteínas (Burton y col., 1962; Adhikari, 1973; Leclere y Birlouéz-Aragon, 2001). Overby y Frost (1951) y Ellis (1959) sugirieron que los pigmentos fluorescentes pueden ser precursores de los coloreados, pero no idénticos a estos. Chio y Tappel (1969) postularon que la estructura  $N-C=C-C=N$  puede explicar las propiedades fluorescentes de los derivados de los compuestos de Schiff.

La carboximetilisina (CML) es un AGE no fluorescente que se emplea como indicador de calidad nutricional en alimentos sometidos a tratamientos térmicos severos (Hewedy y col., 1994). La CML puede formarse por oxidación de la fructosilisina (Ahmed y col., 1986), o por reacción entre el ácido ascórbico y las proteínas en condiciones oxidantes (Dunn y col., 1990). También puede formarse a partir de glioxal que es un producto de la autooxidación de los azúcares (Wolff y Dean, 1987; Wells-Knecht y col., 1995).

En las fases finales se observa la aparición de pigmentos de color pardo - rojizo intenso que no se decoloran por la presencia de agentes decolorantes como los sulfitos. Los pigmentos generados tienen absorbancia en el espectro visible y por lo tanto pueden medirse mediante la caracterización del color de la muestra. La medida objetiva del color de un material puede obtenerse del análisis de su espectro visible (transmisión o reflexión) como se explica más adelante (sección 1.6.3).

### **1.5.2. Cocción**

Las reacciones químicas más importantes que ocurren durante la cocción son la reacción de Maillard y la oxidación de lípidos.

Las reductonas son productos formados a partir de azúcares por la pérdida de dos moléculas de agua, estos compuestos además pueden explicar los efectos antioxidantes de la reacción de Maillard debido a que requieren oxígeno en las etapas de pardeamiento (Nursten, 2005). A partir de la formación de reductonas se pueden formar intermediarios como el 5-hidroxiometil-furfural (HMF) que puede autopolimerizarse y/o reaccionar o polimerizarse con aminoácidos o proteínas para formar pigmentos dorados o marrones. Si los pigmentos no tienen nitrógeno se conocen como caramelos. Los que contienen nitrógeno se llaman melanoidinas. Las reductonas generadas en la reacción de Maillard pueden reaccionar con aminoácidos y dar productos de degradación de Strecker, los aldehídos formados del esqueleto residual del aminoácido contribuyen al *flavor* del producto cocido. Esta vía genera además productos heterocíclicos de azufre y nitrógeno (pirazinas, pirroles, pirimidinas, tiofenos, etc.) que son responsables de aromas típicos a tostado. Las pirazinas tienen aromas a tostado y son ampliamente utilizadas como aditivos para generar *flavor* (Mihara y Masuda, 1988).

Las aminocetonas pueden condensarse con otros intermediarios para formar melanoidinas (pigmentos) o con otras aminocetonas para dar alquilpirazinas.

La presencia de lípidos, aunque en baja concentración, es suficiente para que se produzcan además reacciones de peroxidación que modifican no sólo características del sabor, si no también de textura (ya que causan oxidación de proteínas y consecuentemente entrecruzamientos de las cadenas peptídicas por puentes disulfuro) (Barrett, 2002). La oxidación de lípidos forma compuestos como malondialdehído, pentano, hexanal, hexenal, nonanal y dodecanal que tienen aromas indeseables. Sin embargo, las condiciones de alta temperatura y contenido de agua, como las que se dan durante la cocción, favorecen la generación de compuestos de Maillard respecto de los derivados de la oxidación de lípidos

mientras que condiciones de baja temperatura y largo tiempo como las que se dan en el almacenamiento producen el efecto inverso. Los compuestos generados por oxidación de lípidos en condiciones adecuadas contribuyen por lo tanto a los aromas agradables (Bredie y col., 1998).

### **1.5.3. Tostado**

A las temperaturas de tostado se produce, hidrólisis de los azúcares no reductores con posterior deshidratación y formación de reductonas, hidroximetilfurfural y/o melanoidinas. En base a su estructura es posible que las glicosilaminas, reductonas, y melanoidinas actúen como capturadores de radicales libres demorando el desarrollo de rancidez oxidativa (Yilmaz y Toledo, 2005). La formación de compuestos antioxidantes es importante para la estabilidad del producto en su almacenamiento posterior.

### **1.5.4. Almacenamiento**

A pesar del bajo contenido de lípidos de los *grits*, los productos de oxidación lipídica causan cambios en el aroma, color y textura de los productos laminados de maíz y constituyen un factor determinante de la vida de estantería de los *corn flakes* (Maga, 1978; Nawar, 1996; Akoh y Min, 2002). Las reacciones entre lípidos oxidados y grupos amino están parcialmente caracterizadas, y han sido menos estudiadas que las que comprenden azúcares. Esto es debido a la alta reactividad de los intermediarios y productos, las diversas rutas de reacción que intervienen y la diversidad de productos (Hidalgo y Zamora, 2000). Como se mencionó en el punto 1.5.2, las altas temperaturas y altos contenidos de agua que prevalecen en la cocción favorecen el desarrollo de la reacción de Maillard. Las condiciones contrarias de los productos terminados durante su almacenamiento (baja humedad, baja temperatura, largo tiempo) favorecen los procesos de oxidación lipídica (Eichner, 1981).

## 1.6. Factores de calidad asociados a las preferencias del consumidor

### 1.6.1. Evaluación de las propiedades mecánicas

Entre los factores de calidad asociados a los alimentos que influyen en la preferencia del consumidor pueden encontrarse la apariencia, la combinación de sabor y aromas (*flavor*), la textura y el valor nutricional. En 1971, Szczesniak y Kahn reportaron que para determinados alimentos la textura fue más importante que el *flavor* en la elección del consumidor. Esto es especialmente importante en alimentos de sabores suaves como el arroz, o de características crujientes o crocantes como los cereales de desayuno (Szczesniak, 1990).

Los estudios sobre textura datan de finales del siglo XIX y principios del XX (Bourne, 1982). Inicialmente se construyeron elementos de medición simples y se realizaron evaluaciones sensoriales elementales. El objetivo fundamental de estos desarrollos fue la eliminación de defectos y los principales productos estudiados fueron carnes, frutas y vegetales. Los desarrollos se dieron en forma aislada lo que generó diferencias en las definiciones y en las técnicas. A finales de los años 60 la textura comenzó a ser un tema de estudio en sí mismo, fundamentalmente debido a estudios realizados en la empresa General Foods Corporation en Estados Unidos. Actualmente el campo de la textura ya no es enfocado desde el punto de vista de la ausencia de defectos sino como el estudio de atributos determinantes de la calidad de los alimentos (Szczesniak, 2002).

La textura puede definirse como todos los atributos mecánicos, geométricos y de superficie de un producto perceptible mediante receptores mecánicos, táctiles, visuales y auditivos, y que se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación. (Rosenthal, 1999). De esta definición surgen varias características importantes de la textura: es una propiedad sensorial detectada por más de un sentido, es un atributo relacionado a varios parámetros y su

percepción deriva de la estructura del alimento (molecular, microscópica y macroscópica) (Szczeniak, 2002).

Las propiedades mecánicas de los alimentos están relacionadas a la textura y por lo tanto a su aceptación sensorial (Attenburrow y col., 1989). Dichas propiedades caracterizan la forma en que los materiales se deforman por la aplicación de una fuerza, y están relacionadas a las características estructurales de la muestra. Para los sólidos porosos, como los cereales de desayuno, dependen de la estructura celular (tamaño y distribución de poros), las propiedades de la fase sólida y la densidad (Gondek y Lewicki, 2006). Por su parte estas características dependen del procesamiento, los tratamientos térmicos y mecánicos y la composición del producto (Valles Pamies y col., 2000; Nussinovitch, 2005). La sensación placentera asociada con la desintegración de un alimento en la boca está asociada a sus propiedades mecánicas (Gondek y Lewicki, 2006). Para que podamos percibir la textura crocante de los cereales estos deben ser deformados, por lo tanto el comportamiento reológico está directamente relacionado con las características texturales (Lu y Abbott, 2004).

La reología se define como el estudio de la deformación y el flujo de la materia. Estudia la forma en que los materiales responden a la aplicación de un esfuerzo o de una deformación. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los alimentos son materiales complejos, tanto desde el punto de vista estructural como reológico.

Los materiales presentan diferentes comportamientos frente a la deformación que pueden clasificarse en tres categorías: sólidos, líquidos viscosos y materiales viscoelásticos.

Los sólidos elásticos son aquellos materiales, que tienen una forma definida y se deforman bajo la aplicación de fuerzas externas. Cuando estas fuerzas externas se remueven, se revierte la forma exactamente al estado original.

Los líquidos son aquellos materiales que no tienen forma definida (adoptan la del recipiente que los contiene) y fluyen irreversiblemente bajo la acción de fuerzas externas.

Los materiales alimenticios tienen propiedades que son intermedias entre un sólido elástico y un líquido viscoso; esta combinación de la conducta de los materiales es generalmente llamada conducta viscoelástica (Ward, 1990).

### 1.6.1.1. Ensayos reológicos:

Los ensayos reológicos ó de fuerza/deformación han sido ampliamente utilizados para evaluar las características texturales de los alimentos sólidos. Estos ensayos pueden utilizarse para medir propiedades mecánicas que son importantes para la percepción sensorial, manual u oral, de la textura, o que estén asociadas a la resistencia al transporte y manipulación (Lu y Abbott, 2004).

Cuando se deforma un material, a una fuerza aplicada le corresponde un estrés que se expresa en unidades de presión (Pa), Figura 1-8. Dicha fuerza produce una deformación en el objeto que se expresa respecto de la forma original como tensión. De esta manera podemos definir los siguientes conceptos:

**Esfuerzo o tensión:** Respuesta o reacción interna de un material a la fuerza aplicada:

**Esfuerzo normal ( $\sigma$ ):** Perpendicular al área de la muestra.

**Esfuerzo de cizalla ( $\tau$ ):** Paralelo al área de la muestra.

**Deformación:** Cambio relativo en las dimensiones o forma de un cuerpo expuesto a un esfuerzo. Es una cantidad adimensional.

**Deformación normal ( $\epsilon$ ):** Cambia una dimensión. El cambio por unidad de longitud es debido a una fuerza (tensión o compresión) en una dimensión lineal original.

**Deformación de cizalla ( $\gamma$ ):** Deslizamiento. La tangente del ángulo entre dos líneas originalmente perpendiculares ( $\theta$ ) cambia, debido a una fuerza (cizalla), aplicada a un cuerpo (Mohsenin y Mittal, 1977).

**Módulo de elasticidad (E):** Se define como la relación entre el esfuerzo normal aplicado ( $\sigma$ ) y la deformación normal ( $\epsilon$ ) que se obtiene.

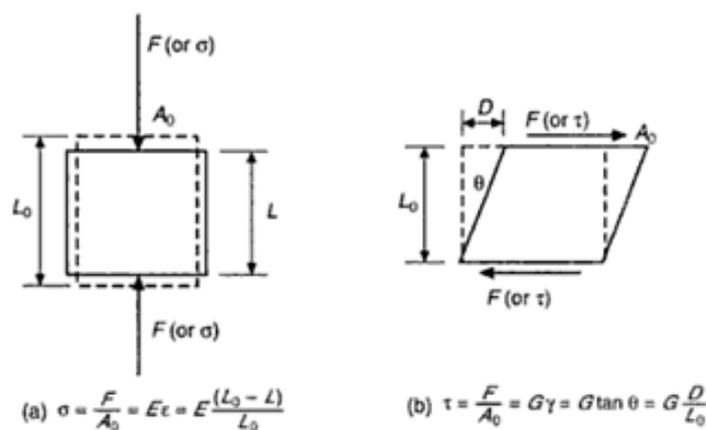


Figura 1-8: a) Compresión uniaxial de una muestra de altura inicial  $L_0$  y área  $A_0$  y el cálculo del módulo de elasticidad (E). b) Fuerza de cizalla ( $\tau$ ) actuando en planos opuestos y causando una distorsión de la muestra con un módulo de cizalla (G) y un área  $A_0$  (Lu y Abbott, 2004).

Dependiendo del tipo de deformación o de fuerza aplicada existen diferentes tipos de ensayo, los siguientes son ejemplos de los más comunes:

- Cizallamiento (Reómetro dinámico)
- Compresión uniaxial
- Tracción
- Flexión
- Torsión

En los ensayos de cizallamiento las fuerzas se aplican de modo paralelo a la superficie sobre la que actúan. Estos se realizan en reómetros dinámicos que aplican una fuerza, o una

deformación, oscilatoria en forma de una función sinusoidal y sirven para evaluar separadamente las características elásticas, viscoelásticas y de flujo viscoso.

Los ensayos de compresión uniaxial o tracción se realizan en instrumentos denominados texturómetros que pueden registrar los cambios en la fuerza aplicada ( $F$ ) en función del tiempo ( $t$ ) o de la deformación ( $D$ ). En estas pruebas se deforma el espécimen con velocidad de desplazamiento constante y se registra la resistencia que opone a la deformación impuesta (Fizman y Durán, 1997). La primera aplicación de una máquina de testeo universal para materiales, marca Instron, adaptada a alimentos data de 1962 (Bourne, 1976). La Figura 1-9 muestra una imagen de un equipo marca Instron de doble tornillo.

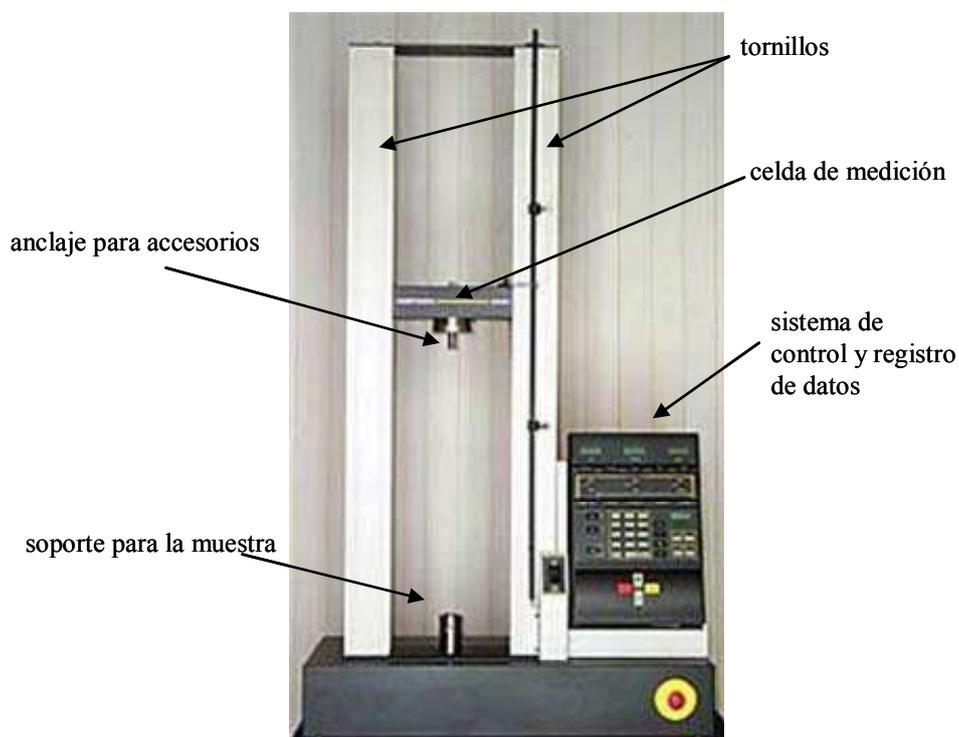


Figura 1-9: Máquina de testeo universal o texturómetro marca Instron de doble tornillo.

Algunos ejemplos de los ensayos que se realizan en alimentos con estos equipos son:

**Test de penetración:** Consisten en medir la fuerza requerida para penetrar una punta de prueba en el alimento. Este test imita la compresión realizada con el pulgar para evaluar la madurez de las frutas. La fuerza de penetración incluye componentes de compresión y de corte cuya proporción depende del diámetro de la punta que se utilice.

**Test de retroextrusión:** Consiste en colocar un alimento en un recipiente y comprimirlo con un émbolo hasta que el alimento fluya a través del espacio libre entre el émbolo y la paredes del recipiente.

**Perfil de textura:** Es una prueba que realiza una doble compresión de la muestra para simular el efecto de una mordida y a partir de las curvas obtenidas se calculan varios parámetros relacionados a la textura del alimento.

**Test de compresión:** consiste en medir la distancia que un alimento se comprime cuando se le aplica una fuerza. Permite obtener información sobre la compresibilidad y elasticidad del material. La muestra se comprime y se registra la deformación y la fuerza durante todo el ensayo. Se realiza una gráfica de esfuerzo ( $\sigma$ ) vs. deformación ( $\epsilon$ ) como la que se muestra en la Figura 1-10 y que puede utilizarse para calcular parámetros de interés como el límite elástico (el mayor esfuerzo que se puede aplicar a un material sin causar una deformación permanente), el punto de ruptura, el módulo elástico, etc.

Las pruebas de compresión uniaxial son útiles para la medición del comportamiento elástico y las propiedades de fractura de los materiales frágiles o de baja ductilidad (Kuhn y Medlin, 2000).

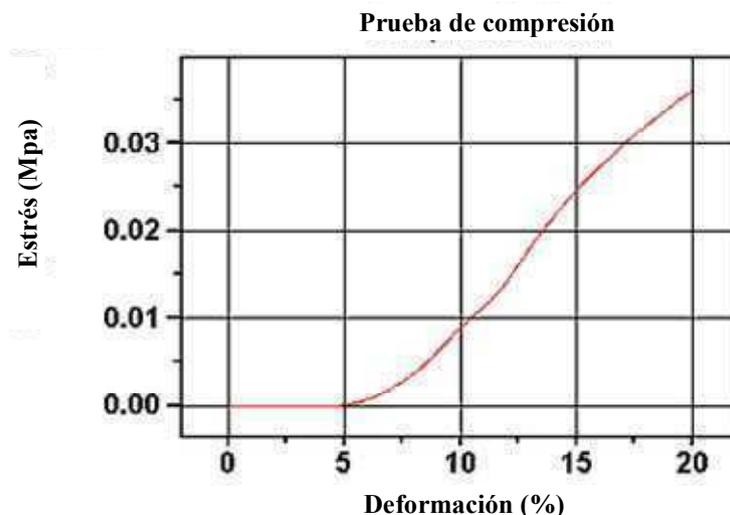


Figura 1-10: Representación de una curva típica de un ensayo de compresión (fuente: Instron, Illinois Tool Works Inc.)

Como ya se ha dicho, las propiedades mecánicas de los alimentos tipo *snack* están relacionadas con la calidad y la preferencia del consumidor. En los alimentos de pequeño tamaño (como los copos de maíz) es importante estudiar estas propiedades en una porción de muestra a granel “*in bulk*” debido a que los resultados son más reproducibles que con una sola pieza. Además estos alimentos se empacan transportan y consumen *in bulk* por lo tanto las propiedades del material medidas de esta manera están más relacionadas con la percepción del consumidor (Gondek y Lewicki, 2006).

El agua es un importante constituyente de los alimentos el cual afecta su calidad estabilidad y propiedades fisicoquímicas además de sus propiedades reológicas. Esto último es especialmente importante en alimentos de baja humedad con estructura celular o porosa como los cereales de desayuno. Estos alimentos están caracterizados por su textura crocante la cual es relevante para su aceptabilidad sensorial. Cuando estos productos absorben agua se produce una pérdida de crocancia y un ablandamiento de los mismos afectando sus características sensoriales. Sin embargo varios autores han descrito un aumento en la rigidez en alimentos de baja humedad luego de aumentos moderados del contenido de agua (Halek y

col., 1989; Shogren y col., 1992; Fontanet y col., 1997; Gondek y Lewicki, 2006; Marzec y Lewicki, 2006; Pittia y Sacchetti, 2008).

### **1.6.2. Análisis sensorial**

La evaluación sensorial, en un sentido amplio, existe desde que el ser humano ha intentado determinar las características deseables o indeseables de los bienes como los alimentos, el agua, la ropa, o cualquier otro bien de uso o consumo. Con el advenimiento del comercio esta actividad comenzó a hacerse más formal y los inicios de su sistematización pueden rastrearse a la época de la Segunda Guerra Mundial en que se desarrollaron técnicas para asegurar la provisión de alimentos aceptables al ejército (Pangborn, 1964; Dove, 1946; 1947).

Dada la variabilidad inherente a la percepción sensorial para obtener un análisis confiable deben optimizarse todos factores que puedan afectar a la medición (Pfeininger, 1979). El diseño de la prueba debe ser lo suficientemente claro y ajustado para disminuir el número de repeticiones necesarias para lograr la precisión requerida. La instrumentación en este caso son seres humanos por lo tanto para lograr resultados reproducibles deben ser adecuadamente seleccionados y cuidadosamente entrenados. La interpretación de los resultados debe realizarse mediante pruebas estadísticas que planteen correctamente las hipótesis posibles y se arribará a los resultados que puedan probarse de esta manera.

La percepción de una sensación no es un proceso de un solo paso sino que al menos pueden discriminarse tres etapas como se muestra en la Figura 1-11. El estímulo se produce sobre el órgano sensorial y es transmitido al cerebro por el sistema nervioso. El cerebro, que además posee información sobre las experiencias previas, integra, organiza e interpreta las

sensaciones, que llegan desde todos los sentidos, para generar una percepción. Finalmente el sujeto elabora una respuesta (Schiffman, 1996).

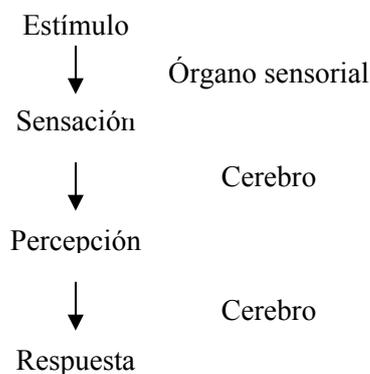


Figura 1-11: representación esquemática de los pasos involucrados en el proceso de percepción sensorial y los órganos en los que se desarrollan (Meilgaard y col., 1999).

### 1.6.2.1. Panel de evaluación sensorial

Existen distintos niveles de entrenamiento de los sujetos que llevan a cabo las mediciones sensoriales y su utilidad depende del resultado que se busque o el tipo de prueba que se necesita realizar. Se puede realizar una clasificación según su nivel de entrenamiento (ASTM 1968):

a) Panel de consumidores: no tienen ningún tipo de entrenamiento, se eligen entre la población teniendo en cuenta que sean consumidores del producto que van a evaluar. Son ideales para evaluar la aceptabilidad de un producto pudiendo también evaluar la intensidad de atributos en escalas simples siguiendo determinadas consignas en la elaboración del formulario.

b) Panel semientrenado: constituido por personas familiarizadas con los atributos del producto que van a evaluar. Este panel es capaz de discriminar diferencias, medir intensidad

de atributos en escalas y evaluar globalmente un producto. Tienen un lenguaje menos formal que el panel entrenado. La variabilidad individual puede balancearse considerando un mayor número de panelistas (25 a 40 miembros).

c) Panel entrenado: son sujetos cuidadosamente seleccionados y entrenados en las propiedades sensoriales que han de evaluar en el alimento. Deben ser capaces de establecer la intensidad de una modalidad sensorial, tanto como la apreciación global de un alimento. El entrenamiento asegura la utilización sistemática de la combinación de las percepciones sensoriales de los evaluadores como guía analítica para determinar la calidad de los productos alimenticios. Poseen un lenguaje formal y en muchas ocasiones tienen conocimiento científico de las propiedades que miden. Dado el elevado conocimiento que poseen del producto y su entrenamiento, se utiliza un número reducido de integrantes (no más de 10).

### **1.6.2.2. Selección de los miembros para un panel de textura**

Para entrenar un panel de 8 a 10 miembros se comienza con 25 candidatos. No existe un criterio específico para la selección y esta se basará en el tipo de evaluación que deberá realizar el panel. Los procedimientos generales para selección de candidatos a un panel sensorial se encuentran descritos en las normas IRAM 20005-1 (1996) para la selección de evaluadores e IRAM 20005-2 (1996) que profundiza en paneles de evaluadores expertos.

Para un panel entrenado debe tenerse en cuenta el interés y la disponibilidad de tiempo de los candidatos. Se debe recopilar información sobre los hábitos alimentarios, ocupación, salud, actitud y características personales que permitan el trabajo en equipo y conocimientos previos. Los candidatos no deben tener problemas de salud que puedan interferir con la percepción del estímulo, particularmente en el caso de un panel de textura oral debe ponerse atención a prótesis dentales o problemas del sistema masticatorio.

Los candidatos son sometidos a pruebas de selección que se basan en la sensibilidad a los estímulos como la prueba gustos básicos y la capacidad de discriminación general de atributos sensoriales relacionados con la medición a realizar. En este último caso pueden realizarse pruebas de tipo secuencial como la prueba de triángulo. La selección puede completarse con pruebas específicas para determinar la capacidad de discriminar los atributos sensoriales que se pretenden medir como el ensayo fisiológico de textura descrito por Civille y Szczesniak (1973).

### **1.6.2.3. Entrenamiento**

EL objetivo del entrenamiento es proveer a los evaluadores de los conocimientos fundamentales del análisis sensorial y desarrollar su capacidad para detectar, reconocer y describir los estímulos. De esta manera podrán expresar su experiencia de manera homogénea y utilizando una terminología específica común. Salvo en el caso de pruebas afectivas el entrenamiento debe lograr que los evaluadores sean objetivos y dejen de lado sus preferencias personales. El entrenamiento es dirigido por un líder de panel que debe poseer amplios conocimientos sobre análisis sensorial y la técnica utilizada en particular. Además, supervisa la correcta preparación y presentación de las muestras y atiende las necesidades y requerimientos de los panelistas.

Los evaluadores deberán familiarizarse con el tipo de alimentos a evaluar y las escalas utilizadas. Se les presenta a los jueces una escala determinada para marcar algún atributo, junto con anclas que son alimentos característicos de la escala, en ella, deben marcar la magnitud con la cual percibieron el atributo de textura. En general se utilizan escalas donde un centímetro corresponde a una unidad de medición con anclas finales y extensiones de 1,5 cm de los extremos. El sentido de las escalas es de intensidad creciente del descriptor de

izquierda a derecha. Se puede acompañar de marcas que representan a los alimentos de referencia para facilitar así la tarea de los jueces. Durante el entrenamiento, los jueces son expuestos a los alimentos que representan distintos puntos de la escala de una dada modalidad o atributo sensorial (dureza; jugosidad; cohesividad; etc.). Reconocen que punto representa de la escala cada uno de ellos e incorporan dicho conocimiento. Una vez concluido el entrenamiento, que podrá ser mas o menos largo dependiendo de la metodología seleccionada, los jueces serán capaces de medir la intensidad de una dada modalidad sensorial en una muestra con ayuda o no de alimentos de referencia de la escala. Si bien existen numerosas escalas descritas en la literatura (Meilgaard y col. 1999; Chauvin y col. 2008) la metodología de perfil de textura requiere de la adaptación de los alimentos de referencia a una escala de aplicación local. El entrenamiento también puede incluir el desarrollo de escalas por parte del panel. Esta adaptación requiere de numerosas pruebas y de la interacción entre el panel y el coordinador para encontrar las dificultades en la escala planteada (Hough y col., 1994; Meilgaard y col., 1999; Lawless y Heymann, 2010). Además los alimentos de referencia deben ser de calidad reconocida y presentar las menores variaciones de textura posibles con el cambio de lote de producción.

#### **1.6.2.4. Seguimiento y control de los evaluadores**

Es necesario controlar periódicamente la efectividad del panel. Para esto pueden utilizarse muestras de control o duplicados a fin de detectar discrepancias entre los panelistas o si alguno de ellos no logra resultados reproducibles. En los casos en que se presenten dudas o desacuerdos entre los panelistas pueden llevarse a cabo discusiones abiertas coordinadas por el líder de panel con el objetivo de clarificar conceptos y unificar criterios.

### **1.6.2.5. Características de la sala de evaluación sensorial**

Las especificaciones para el área de análisis sensorial se encuentran detalladas en la norma UNE 87-004 (1979). Se pretende crear para cada evaluador un entorno aislado con la mínima distracción. El local deberá ser agradable y estar convenientemente iluminado, ser de fácil limpieza y estar aislado de cualquier fuente de ruido; por tanto, preferentemente insonorizado. Estará igualmente al abrigo de olores extraños por lo que, a ser posible, deberá disponer de un dispositivo eficaz de ventilación. Se recomienda tener una regulación de las condiciones de temperatura. Las cabinas de evaluación deben ser idénticas entre sí y estar separadas por mamparas para aislar a los evaluadores una vez sentados. Si se dispone de espacio suficiente, conviene contar con locales separados para preparación de las muestras, colocación de vasos o utensilios y para las discusiones previas o posteriores a los ensayos.

### **1.6.2.6. Evaluación sensorial de la textura**

La textura de los alimentos es un atributo determinante de su aceptabilidad. En los cereales de desayuno la crocancia es particularmente importante (Mazumder y col., 2007). Los atributos sensoriales como la crocancia están relacionados directamente a las propiedades mecánicas y de fracturabilidad de los alimentos sólidos, a su macro y microestructura y al sonido que se produce durante la fractura cuando son masticados (Varela y col., 2009; Yven y col., 2010). La evaluación de textura en alimentos es un problema complejo, donde la combinación de técnicas incluyendo análisis sensorial, instrumental y de microestructura podría ser la mejor forma de resolverlo (Anton y Luciano 2007). Si bien el análisis sensorial puede dar una completa descripción de la textura es de interés el desarrollo de técnicas instrumentales para su estudio (Roudaut y col. 2002). Los parámetros relacionados con la crocancia, la crujencia, y dureza son los más estudiados y con frecuencia se han encontrado

correlaciones entre la percepción sensorial y el análisis instrumental de la textura (Anton y Luciano, 2007).

El entrenamiento de un panel sensorial en análisis de textura en alimentos tiene como objetivo medir cuantitativamente los atributos texturales. El método de Perfil de Textura fue desarrollado por Brandt y col. (1963). Dicho método consiste en el análisis sensorial de la textura de un alimento en términos de sus características mecánicas, geométricas, contenido de grasa y humedad; en el orden en el cual estas aparecen desde la primera mordida y durante el progreso de la masticación (Tabla 1-2). En el mismo se utiliza una terminología estandarizada, muestras de referencia y procedimientos de evaluación controlados a fin de eliminar los juicios subjetivos que puedan surgir durante la evaluación realizada por el panel (IRAM 200013, 2001).

Tabla 1-2: Esquema general del método de perfil de textura.

<b>Perfil sensorial</b>	
Característica textural	Mecánicas
	Geométricas
	Otras
Intensidad	Grado en el cual se presentan
Orden de aparición	Impresión inicial (visual)
	Primera mordida
	Fase masticatoria
	Fase residual
Sensación residual	Sensación que queda luego de tragar
Amplitud	Impresión general del producto

Características texturales involucradas en el método de perfil de textura:

Mecánicas: relacionadas con la reacción del alimento a un esfuerzo aplicado. Estas son medidas por los sentidos cinestésicos que corresponden a la sensación de posición, movimiento y tensión de las partes del cuerpo a través de las terminales nerviosas de los músculos, tendones y articulaciones.

Geométricas: relacionadas con el ordenamiento de los componentes físicos de un alimento tales como tamaño, forma, presencia de fibras, partes blandas y partículas duras. Estas se perciben por el sentido del tacto en la lengua, cavidad bucal y garganta.

Otras características: relacionadas con el contenido de humedad y grasa del alimento y su liberación. Estas son percibidas por las terminales nerviosas táctiles en la cavidad bucal.

Las sensaciones que definen la textura de un alimento presentan un orden de aparición e implican sensaciones fuera y dentro de la boca así como la sensación residual que queda luego de tragar el alimento. Un esquema de dichas sensaciones y su orden de aparición se puede observar en la Tabla 1-3.

Tabla 1-3: Sensaciones asociadas al perfil de textura de un alimento. Adaptado de (Brandt y col., 1963).

Etapa	Propiedad	Sensación	
impresión visual		atributos geométricos y propiedades de la superficie	
primera mordida	mecánicas	firmeza fracturabilidad viscosidad	
	geométricas	depende del producto	
etapa masticatoria	temprana	mecánicas	gomosidad masticabilidad adhesividad
		geométricas	depende del producto
	tardía	ruptura del alimento	tipo velocidad
		humedad	absorción liberación
		grasitud	liberación cobertura de la boca
		cobertura de la boca	tipo cantidad
deglución		facilidad cobertura de la garganta	
residual	cobertura de la boca	tipo cantidad	
	cobertura de la garganta	tipo cantidad	
	sensación general	boca garganta	

Dado que la textura es un atributo resultante de la interacción de varios parámetros existen varios términos asociados a su descripción. Szczesniak (1963) y Civille y Szczesniak (1973) desarrollaron una clasificación de los términos asociados a la textura que se detalla en la Tabla 1-4.

Tabla 1-4: Clasificación de las características textuales (Szczesniak, 1963).

<i>Características mecánicas</i>		
<b>Parámetros primarios</b>	<b>Parámetros secundarios</b>	<b>Términos comunes</b>
Dureza		Blando, firme, duro
Cohesividad	Fragilidad	Desmenuzable, crujiente, frágil
	Masticabilidad	Tierno, duro
	Gomosidad	Harinoso, pastoso, gomoso
Viscosidad		Fluido, espeso
Elasticidad		Plástico, elástico
Adhesividad		Pegajoso
<i>Características geométricas</i>		
Clase		Ejemplos
Tamaño y forma de las partículas		Arenoso, Granulado, Grueso
Forma y orientación de las partículas		Fibroso, Celular, Cristalino
<i>Otras características</i>		
Parámetros primarios	Parámetros secundarios	Términos comunes
Contenido de agua		Seco, húmedo, mojado, acuoso
Contenido de lípidos	Contenido graso	Grasoso
	Contenido de aceite	Aceitoso

Si bien la textura es una propiedad sensorial, los parámetros mecánicos asociados a ella pueden definirse desde ambos puntos de vista, en la Tabla 1-5 se detallan las definiciones propuestas por Civille y Szczesniak (1973) para las propiedades primarias y secundarias.

Tabla 1-5: Definiciones de los parámetros mecánicos y de textura (Civille y Szczesniak, 1973).

Parámetro	Definición física	Definición sensorial
Propiedades primarias		
<b>Dureza</b>	Fuerza necesaria para obtener una dada deformación.	Fuerza requerida para comprimir una sustancia entre los molares (sólidos) o entre la lengua y el paladar (semisólidos).
<b>Cohesividad</b>	Grado en el cual un material puede ser deformado antes de su ruptura.	Grado en el cual una sustancia es comprimida entre los dientes antes de su ruptura.
<b>Viscosidad</b>	Velocidad de flujo por unidad de fuerza.	Fuerza requerida para verter un líquido sobre la lengua desde una cuchara.
<b>Elasticidad</b>	Velocidad a la cual un material recupera su forma original luego de que la fuerza de deformación es removida.	Velocidad a la cual un producto vuelve a su forma original luego de haber sido comprimido entre los dientes.
<b>Adhesividad</b>	Trabajo necesario para vencer las fuerzas atractivas entre la superficie del alimento y la de otro material con el que haya entrado en contacto.	Fuerza requerida para remover el material adherido a la boca, generalmente el paladar, durante el proceso normal de ingestión.
Propiedades secundarias		
<b>Fracturabilidad</b>	Fuerza con la cual un material se fractura; un producto de alto grado de dureza y bajo grado de cohesividad.	Fuerza con la cual una muestra se desmenuza, rompe o fractura.
<b>Masticabilidad</b>	Energía requerida para masticar un alimento sólido hasta un estado listo para ser tragado; una combinación de dureza, cohesividad y elasticidad.	Tiempo en segundos requeridos para masticar la muestra, a una tasa constante de aplicación de fuerza hasta reducirlo a una consistencia adecuada para tragarlo.
<b>Gomosidad</b>	Energía requerida para desintegrar un alimento semisólido a un estado listo para ser tragado; una combinación de bajo grado de dureza con alto grado de cohesividad.	Densidad percibida a través de la masticación; energía requerida para desintegrar un alimento semisólido a un estado listo para ser tragado.

### 1.6.3. Color: distribución espectral de la luz

El color es una importante cualidad de los alimentos y su percepción aporta datos sobre su calidad y estado de conservación, además es el primer parámetro evaluado por el consumidor y es crítico en la aceptación o rechazo de los productos (León y col., 2006).

La percepción del color de un objeto no es un fenómeno simple e intervienen varios factores:

1. La distribución de la energía espectral del iluminante, es decir, la clase de luz que ilumina el objeto: solar, luz de lámpara de tungsteno o mercurio, etc.
2. Las condiciones bajo las cuales el color es visto, el ángulo de la visión, el color del contorno, la extensión de la zona coloreada y el nivel de iluminación.
3. La sensibilidad del observador.
4. Las características espectrales del objeto con respecto a la absorción, reflexión y transmisión de la luz, por las cuales se puede clasificar a los objetos como opacos, transparentes o translúcidos.

La **claridad** es el atributo que hace corresponder a cada color una equivalencia con respecto a una escala de grises. A la cualidad psicológica claridad le corresponde la magnitud psicofísica luminosidad.

El **tono** o **matiz** es el atributo que adjudica al color una cualidad que se define como rojo, naranja, amarillo, verde, azul, púrpura o cualquier combinación de ellos. A la cualidad psicológica tono le corresponde la magnitud psicofísica longitud de onda dominante.

La **saturación** es el atributo que, fijado el tono, describe al color por su similitud con un color espectral puro, cuanto más parecido a este, tanto más saturado. A la cualidad psicológica saturación le corresponde la magnitud psicofísica pureza.

Para lograr una adecuada caracterización objetiva del color se desarrollaron sistemas de medida que emplean "espacios de color" dentro de los cuales un punto, que corresponde a un

color determinado, está representado por las llamadas "coordenadas de color" que permiten la especificación completa en el espacio tridimensional (Caivano, 1995).

### **1.6.3.1. Medición instrumental del color**

Los principios fundamentales de la colorimetría están dados por las tres leyes de Grassman (1954). La principal de ellas establece que cualquier color puede ser igualado por la suma de tres colores primarios en cantidades convenientes. De los sistemas propuestos para la especificación del color el más difundido universalmente es el desarrollado por la CIE (Comission Internationale de l'Éclairage) en 1931 (CIE, 1993), en el cual el color es indicado por tres variables X, Y, Z, conocidas como los valores triestímulo y que representan a tres colores primarios imaginarios. Para obtener este sistema de medida se definió el "observador patrón", como representativo de un observador de visión normal, y se asignó a cada color un conjunto de tres valores, índices de la contribución de cada uno de los primarios imaginarios. Para obtener la sensibilidad del observador patrón para cada color primario se realizaron experiencias con un número muy grande de observadores con los que se elaboraron curvas de intensidad de cada primario para todas las longitudes de onda y luego se promediaron los resultados (Figura 1-12).

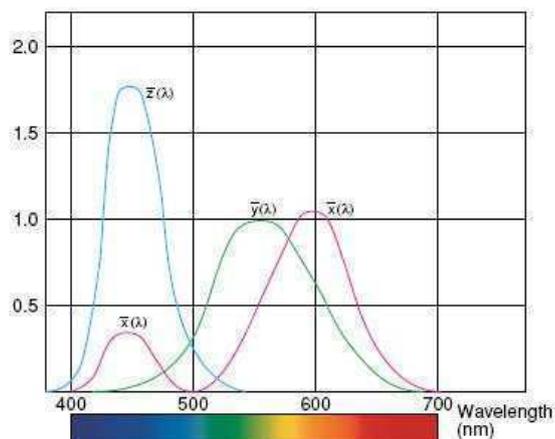


Figura 1-12: Funciones de sensibilidad espectral correspondientes a ojo humano para un observador estándar según el sistema CIE 1931.

El cálculo necesario para obtener los valores triestímulo para un objeto se esquematiza en la Figura 1-13. El valor del estímulo visual es la resultante de una combinación del espectro de la luz incidente o sea la energía ( $E$ ) en función de la longitud de onda ( $\lambda$ ), ( $E$  vs.  $\lambda$ ) con el espectro de reflectancia ( $R$ ) de la muestra ( $R$  vs.  $\lambda$ ) y con las funciones de distribución de la sensibilidad del ojo ( $S$ ) para cada uno de los tres primarios imaginarios ( $S$  vs.  $\lambda$ ). El área bajo la curva resultante se integra en el espacio visible para obtener los valores numéricos de la contribución de cada uno de los tres primarios ideales ( $X, Y, Z$ ) al color dado.

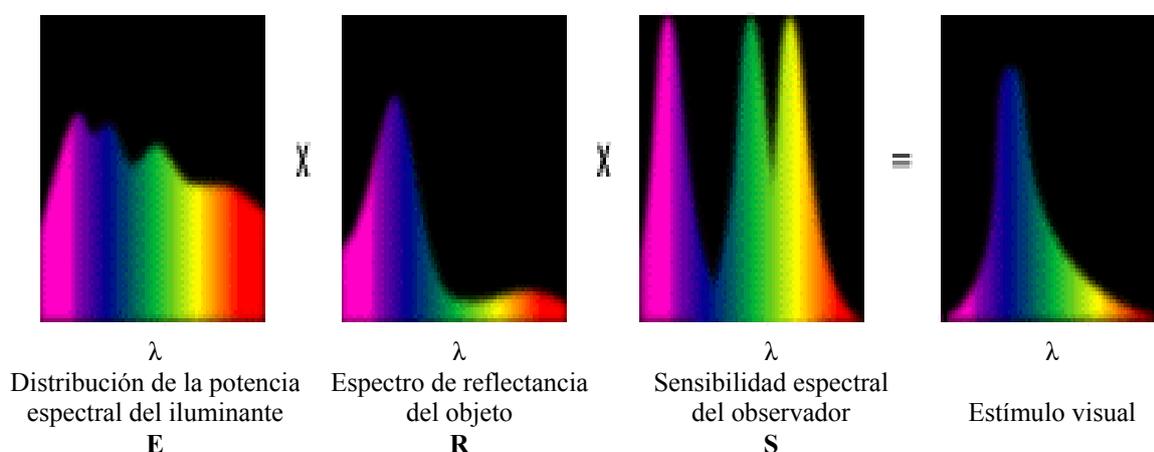


Figura 1-13: Representación esquemática del cálculo para obtener los valores triestímulo.

El espacio CIE 1931 es muy sencillo de manejar y es excelente para representar mezclas aditivas, pero presenta problemas en relación a la uniformidad de las diferencias de color percibidas. La Comisión Internacional de l'Éclairage ha desarrollado otros sistemas de color cuyas coordenadas pueden ser interconvertidas matemáticamente. El espacio CIELAB de 1976 utiliza tres coordenadas para describir el color:  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . El parámetro  $L^*$  representa la luminosidad del material y su valor varía en un rango de 0, que corresponde al color negro, hasta 100, que es el blanco.  $a^*$  varía de verde a rojo y  $b^*$  varía de azul a amarillo con valores que van desde -120 a 120 para ambos casos y representan las coordenadas cromáticas de este espacio. Este sistema ha sido ampliamente utilizado para medir el color en alimentos (Buera y col., 1991; Ilo y Berghofer, 1999; Briones y Aguilera, 2005; Mendoza y col., 2006). Si bien el espacio CIELAB ha sido diseñado para ser perceptivamente uniforme, es decir, la distancia euclidiana entre dos colores diferentes corresponde aproximadamente a la diferencia de color percibida por el ojo humano, este es un punto de constante debate (Luo y col., 2001). La comisión CIE ha desarrollado formulas para el cálculo de la diferencia de color mas complejas que la distancia euclidiana entre dos puntos como la CIE94 (CIE, 1995), siendo la mas reciente la formula CIEDE2000 (CIE, 2001).

Existen diferentes métodos para la determinación del color. Los fotocolorímetros triestímulo o los espectrocolorímetros que están equipados con esfera integradora y permiten realizar mediciones sobre áreas muy pequeñas, de aproximadamente 1 a 2 cm de diámetro. Las mediciones son rápidas y reproducibles, pueden configurarse los parámetros a utilizar como el tipo de iluminante, el ángulo de observador y la inclusión o no de la componente especular y proporcionan directamente el resultado en el sistema de color elegido. Al integrar la totalidad de la luz reflejada por la muestra en el área de medición se obtienen mejores resultados con productos homogéneos (Lozano, 1978). Para el estudio de superficies

heterogéneas, como las de los alimentos, se han utilizado ampliamente los sistemas de visión computarizada y el análisis de imágenes (Yam et al., 2004; Mendoza et al., 2006; Pedreschi et al., 2006; 2007; Balabán, 2008; Purlis y Salvadori, 2009). Estos sistemas utilizan dispositivos para la adquisición de imágenes, computadoras y programas de procesamiento de las imágenes para simular el rol de los ojos y el cerebro. Las cámaras digitales capturan los colores usando el sistema RGB. En el sistema RGB cada color está representado por tres valores independientes: rojo (R), verde (G) y azul (B), ubicados a lo largo de los ejes de un sistema de coordenadas ortogonales, formando un cubo. La línea diagonal desde negro (0,0,0) hasta blanco (1,1,1), que une esquinas opuestas del cubo, representa el rango de valores de la escala de grises. Existen programas de computación que permiten determinar los valores promedio (y las desviaciones estándar) de R, G y B para el objeto de interés. El sistema RGB se puede transformar mediante fórmulas matemáticas en el sistema CIELAB (González y Woods, 1992) el cual se utiliza comúnmente para análisis de color en alimentos. La visión computarizada ofrece una gran resolución espacial ya que cubre todo el objeto de interés, lo cual no es posible con los colorímetros que requieren mediciones del objeto punto a punto y proporcionan, por lo tanto, valores de color promedios de zonas muy pequeñas. La toma de imágenes mediante una cámara fotográfica y su procesamiento por medio de programas adecuados se presenta como una alternativa interesante para sistemas heterogéneos, debido a que puede seleccionarse el área de análisis en forma precisa excluyendo el fondo y los sectores de la imagen que no interesan (Balabán, 2008).

#### **1.6.4. Cesía: distribución espacial de la luz**

El color, como fue descrito hasta este punto, está relacionado con la distribución espectral de la luz. La apariencia percibida de los objetos está determinada además por otros

fenómenos que responden a la distribución espacial de la luz (Hunter, 1975; Green-Armytage, 1992). Desde el punto de vista físico, la luz puede ser absorbida por un material, y la fracción no absorbida puede reflejarse, o bien transmitirse a través del material. Tanto la reflexión como la transmisión pueden darse en forma regular (especular) o difusa, y puede darse también cualquier combinación intermedia. Esto da origen a las sensaciones visuales de cesía: transparencia, translucencia, brillo especular y apariencia mate, con distintos grados de luminosidad, y las formas combinadas o intermedias (Caivano, 1991). Pueden definirse cuatro propiedades: la absorbancia, la reflectancia, la transmitancia y la difusividad, que dependen de la longitud de onda. La suma de la reflectancia, la absorbancia y transmitancia es siempre igual a uno. Estas propiedades se refieren a la relación entre el flujo de luz incidente sobre el material y las propiedades de este. La reflectancia, indica la cantidad de luz reflejada por el material, la transmitancia, la luz transmitida a través de éste, la absorbancia se refiere a la cantidad de luz absorbida y la difusividad indica la propiedad del material para modificar la dirección de la radiación luminosa que lo atraviesa.

Cuando un material transparente presenta poros o discontinuidades el índice de refracción del material que rellena los poros (comúnmente el aire) puede diferir del de material original. De esta manera cuando la luz atraviesa el material ocurren muchos eventos de refracción haciendo que el camino óptico de los fotones individuales se vuelva caótico y la luz se disperse produciendo el fenómeno de difusión (Saarela y col., 2008). En la Figura 1-14 se muestra un esquema que explica este proceso, un elemento oscuro colocado debajo de un material transparente y altamente difusivo no es visible cuando se lo mira al trasluz. En cambio si se reemplaza el aire de los poros con un material con el mismo índice de refracción ( $\eta$ ) de la matriz el objeto se vuelve visible.

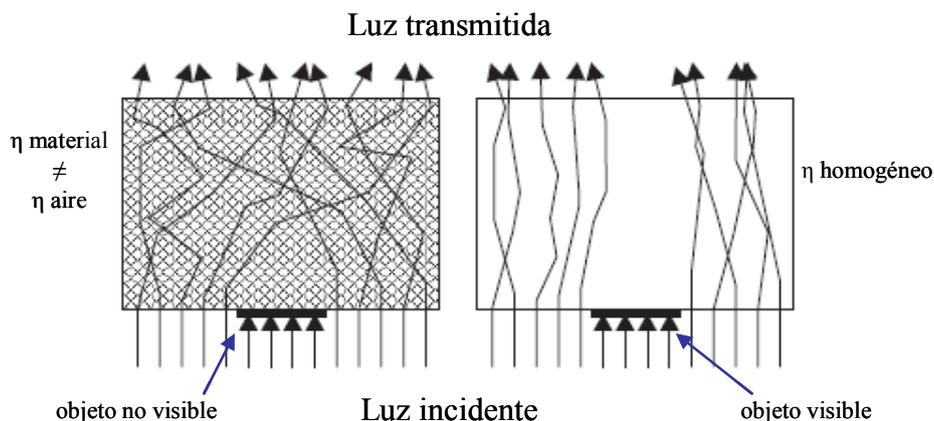


Figura 1-14: Esquema de la dispersión producida por la diferencia de índice de refracción en un material no homogéneo iluminado desde abajo. A la izquierda el objeto opaco no es visible, a la derecha se ha reemplazado el aire con un compuesto de  $\eta$  similar a la matriz y el objeto se vuelve visible. Adaptado de (Saarela y col., 2008).

#### 1.6.4.1. Colorimetría de muestras turbias o translúcidas

Cuando los objetos son opacos o transparentes la medición es más simple que cuando son translúcidos, y algunos alimentos se comportan como translúcidos. En este tipo de muestras la luz incidente se refleja, difunde y absorbe como en cualquier superficie pero, debido a la transmisión interna, parte de ella será reflejada desde capas por debajo de la superficie ocurriendo interacciones complejas. La teoría de Kubelka Munk (1931), KM, ha sido aceptada por su aplicabilidad para este tipo de situaciones. Esta teoría ha sido aplicada para resolver el problema de la medición del color de un alimento cuando éste es afectado por el fondo y se basa en mediciones de reflectancia de capas delgadas del material con fondo blanco y con fondo negro, consecutivamente (Buera y Resnik, 1990).

Little (1964) determinó que para alimentos translúcidos la medición directa de la reflectancia (como la que se utiliza para alimentos opacos) no es satisfactoria debido a la gran cantidad de interacciones que ocurren entre este tipo de materiales y la luz.

La medición directa de una capa delgada de un material translúcido sobre un fondo blanco es suficiente para separar las muestras en el espacio de color y coincide con la

apreciación visual. Sin embargo, Mackinney y col. (1966) y Little y Brinner (1981) encontraron que a través de los coeficientes de atenuación o de absorción (K) y de dispersión (S) de Kubelka Munk pude mejorarse la diferenciación de muestras de salsa de manzana y té, y de soluciones de café. La practicidad de la teoría KM radica en que sólo utiliza dos variables para describir el fenómeno: S y K. El coeficiente S mide la cantidad de luz que es dispersada por el material ya sea debido a múltiples reflexiones y refracciones internas o a reflexiones en la superficie. El coeficiente K está relacionado con las propiedades de absorción y transmitancia interna del material y con la concentración de pigmentos (Lozano, 1978).

### **1.7. Factores involucrados en la velocidad de los cambios físicos y de las reacciones químicas**

Como se discutió en las secciones previas, las transformaciones físicas y cambios de estructura están determinadas fundamentalmente por el contenido de agua, la presión y la temperatura.

La cinética de las reacciones que ocurren en la producción o almacenamiento de los alimentos como las hojuelas de maíz está gobernada por el entorno químico inmediato de los reactivos, definido por la composición química del sistema (contenido de agua, pH, tipo de sales, temperatura y exposición a la luz) (Labuza, 1994; Bell, 1997; Ajandouz y Puigserver, 1999; Van Boekel, 2001; Matiacevich y Buera, 2006). La reacción de Maillard se acelera a humedades relativas intermedias, a pH neutro, en un medio con buffer y a alta temperatura (Labuza, 1994). Por lo tanto, la composición y concentración de pigmentos y sustancias que imparten olores y sabores es función de todas las variables mencionadas, y de la interrelación entre las mismas.

### 1.7.1. Estado vítreo y estabilidad.

En términos de termodinámica, en alimentos complejos no existen estados de equilibrio estable, pero sí se pueden alcanzar varios estados de equilibrio metaestable. La estabilidad de propiedades deseables en los alimentos está entonces cinéticamente gobernada en condiciones de metaestabilidad dadas por el estado vítreo, y el objetivo de la obtención de productos estables durante el almacenamiento es impartir propiedades de metaestabilidad (Franks, 1994). En estos casos, el estado físico es extremadamente sensible a la humedad, la temperatura y el tiempo de observación.

La transición vítrea ( $T_g$ ) puede utilizarse como un parámetro descriptivo del estado físico de las macromoléculas, el cual puede diferir de la movilidad de las moléculas más pequeñas como el agua (Vittadini y Chinachoti, 2003). La movilidad molecular en los vidrios está restringida a vibraciones y movimientos rotacionales de rango corto (Sperling, 1986). Los cambios que ocurren en el estado vítreo, durante el llamado “envejecimiento físico”, son extremadamente lentos (Levine y Slade, 1986; Slade y Levine, 1991; Jouppila, 1999; Roos y col., 1996). A temperaturas superiores a  $T_g$ , el sistema pasa del estado vítreo al de líquido sobre-enfriado, la viscosidad disminuye de aproximadamente  $10^{12}$  a  $10^3$  Pa·s (Sperling, 2005), aumenta la movilidad molecular y los movimientos traslacionales. Por lo tanto, al ocurrir la transición vítrea, los materiales son más susceptibles a cambios físicos o químicos, y el parámetro  $(T-T_g)$  o sea la diferencia entre la temperatura del experimento y la  $T_g$ , que representa la distancia a la temperatura de transición vítrea en la escala de temperaturas, en muchos casos permite definir las variables cinéticas de los cambios físico-químicos asociados. Un valor de  $(T-T_g)$  alto y positivo indicaría las condiciones para altas velocidades de transformaciones.

Una interesante aplicación del estudio de la transición vítrea es el entendimiento de las propiedades de textura de sistemas alimenticios, y la explicación de los cambios que ocurren durante el procesado y almacenamiento de los alimentos (Nelson y Labuza, 1994). Algunos materiales de bajo contenido de agua son frágiles mientras permanecen en el estado vítreo (Slade y Levine, 1995). A medida que los polímeros absorben agua no todas sus propiedades se afectan de la misma manera, en el rango bajo a intermedio de humedades algunas propiedades mecánicas muestran un máximo en función del contenido de agua, mientras que la  $T_g$  disminuye continuamente (Chang y col., 2000). Es importante notar que, a temperaturas en el rango de la  $T_g$ , un cambio de pocos grados puede provocar en los materiales frágiles una disminución significativa en la rigidez.

En cuanto a la relación entre el estado amorfo y la cinética de las reacciones químicas, la mayoría de los estudios evidencian efectos combinados de la transición vítrea y otros factores como el contenido de agua, actividad de agua, temperatura y concentración de reactivos, sobre la velocidad de reacciones químicas (Shimada y col., 1991; Karmas y col., 1992; Bell y Hageman, 1994; Roos y Himberg, 1994; Buera y Karel, 1995; Bell, 1996).

La movilidad molecular en un sistema amorfo puede ser afectada por la adición de compuestos de bajo peso molecular, que actúan como plastificantes, esto es, aumentan la flexibilidad y extensibilidad. Además, los compuestos de bajo peso molecular tienen efecto sobre la  $T_g$  de un sistema. En los sistemas biológicos el plastificante más importante es el agua. En la Figura 1-15 se muestra, para una matriz de azúcar, la curva de  $T_g$  en función del contenido de agua. A medida que aumenta el contenido acuoso, disminuye la  $T_g$  (Roos, 1992) y la transición de un sistema vítreo a uno sobre-enfriado se puede dar tanto por aumento de la temperatura como del contenido de agua.

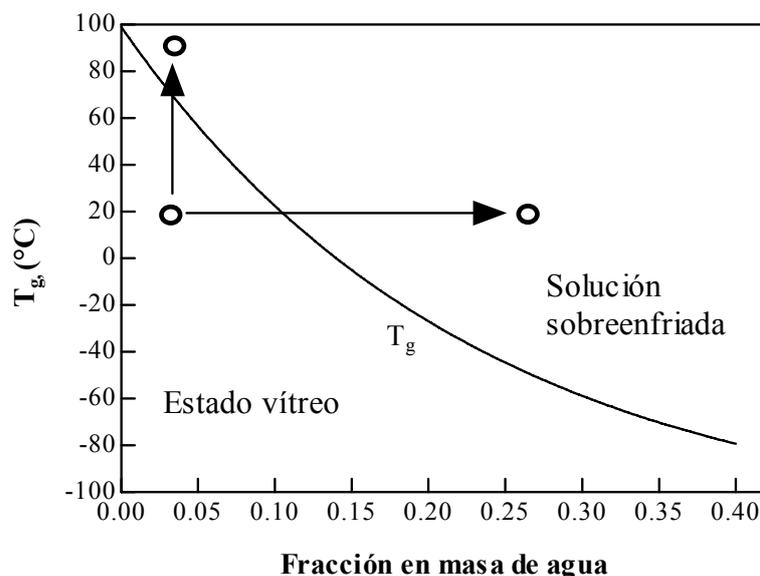


Figura 1-15: Curva de temperatura de transición vítrea en función del contenido de agua. Adaptado de Cardona y col., (1997).

### 1.7.2. Adsorción de agua y nitrógeno

La adsorción ocurre cuando una superficie sólida se expone a un gas o a un líquido y se define como el enriquecimiento o el incremento en la densidad de un fluido en la proximidad de una interfase (Rouquerol y col., 1999).

En el caso del agua, sistemas con el mismo contenido de agua difieren significativamente en su estabilidad microbiológica y química. Esta situación se atribuye a que el agua interactúa con diferente intensidad con los constituyentes no acuosos. La actividad de agua ( $a_w$ ) caracteriza la intensidad con la cual el agua se asocia con los distintos constituyentes no acuosos (Reid y Fennema, 2008), determinando la ocurrencia y cinética de fenómenos tales como el crecimiento de microorganismos y reacciones químicas. La  $a_w$  se define según la ecuación 1-1:

$$a_w = (p/p_0)_T$$

Ecuación 1-1

Donde:

$a_w$  es la actividad de agua,

$p$  es la presión de vapor del agua en el producto a la temperatura  $T$ ,

$p_0$  es la presión de vapor del agua pura a la temperatura  $T$ .

Esta igualdad se basa en asumir la existencia de equilibrio termodinámico.

La actividad de agua representa la fuerza impulsora para la migración de agua desde el ambiente hacia el alimento y viceversa, o para la igualación de las actividades de agua de los componentes de una mezcla. Por lo tanto, en el almacenamiento de productos deshidratados es especialmente importante conocer las características de sorción del material, y este es uno de los factores más importantes para determinar sus características de almacenaje.

En el equilibrio, la actividad de agua está relacionada con el contenido acuoso a una temperatura constante a través de la isoterma de sorción de agua, Figura 1-16. Las isotermas de sorción de agua presentan diferente forma dependiendo del sistema en estudio. La Figura 1-16a representa el comportamiento de los sistemas amorfos (que incluyen a muchos alimentos). A bajas  $a_w$  la adsorción de agua es mayor en los sistemas amorfos que en los cristalinos (Figura 1-16b). Un sólido cristalino adsorbe muy poca agua hasta una  $a_w$  dada, a partir de la cual el agua comienza a disolver los cristales.

Además existen materiales, como los azúcares, que a bajas  $a_w$  son amorfos, pero al aumentar el contenido de agua logran suficiente movilidad para cristalizar. En muchos casos la estructura cristalina no puede contener la misma cantidad de agua que el material amorfo y por lo tanto se produce una “caída” de la curva como se ve en la Figura 1-16c.

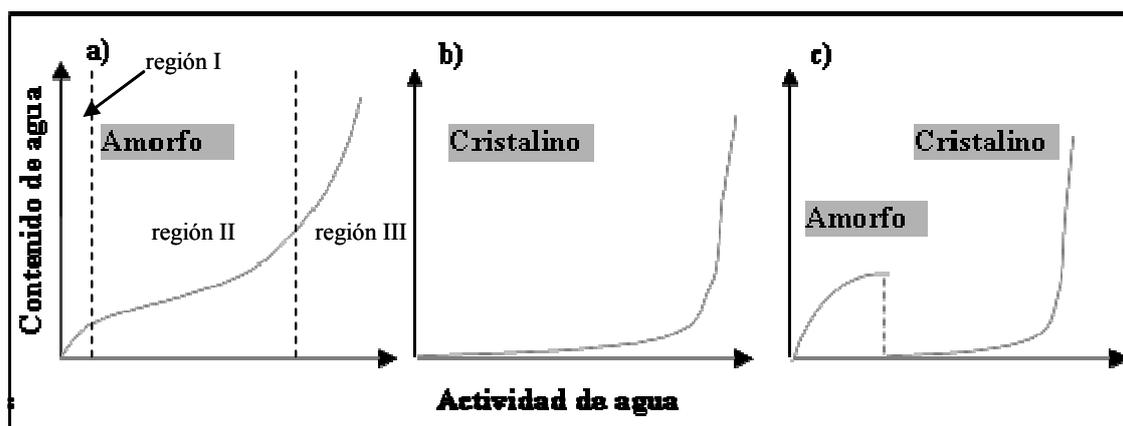


Figura 1-16: Isothermas de sorción de agua correspondientes a sistemas amorfos, cristalinos y a materiales amorfos que cristalizan a medida que aumenta el contenido de agua y la actividad de agua.

Al analizar las isothermas de sorción de agua en conjunto con datos calorimétricos y de movilidad de agua dados por  $^1\text{H-RMN}$  (ver sección 1.7.3), en los sistemas amorfos (Figura 1-16a) se pueden clasificar al menos 3 niveles de hidratación (Reid y Fennema, 2008):

- En la región I (de 0 hasta 8-10 g  $\text{H}_2\text{O}/100\text{g}$  de masa seca), las moléculas de agua están asociadas fuertemente a superficies macromoleculares por enlaces dipolo-dipolo, ión-dipolo o puente H y se comportan como un ligando antes que como un solvente. La energía de atracción estimada es  $-50 \text{ KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

- En la región II (8-22 %), el agua forma parte de vidrios generados por los sólidos y la energía de atracción disminuye a cerca de  $-2 \text{ KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  sugiriendo una interacción débil con la superficie macromolecular (Vertucci, 1990; Berjak y col., 1992).

- Cuando la concentración de agua está cerca del 30 %, el agua recupera sus propiedades de solvente y además puede congelar (región III).

Las moléculas de agua correspondientes a las regiones de hidratación I y II se conocen tradicionalmente como “agua ligada”, que da cuenta de la gran interacción de estas moléculas con los sólidos.

Las características de adsorción de nitrógeno proveen una idea de la accesibilidad del mismo a la superficie del sólido y de sus características de porosidad. Siendo la peroxidación lipídica un factor importante para determinar la estabilidad de los copos de maíz durante su almacenamiento, es importante caracterizar las propiedades de sorción de estos productos. La sorción de nitrógeno tiene lugar en las interfases (sólido–gas, sólido–líquido). La superficie específica del adsorbente para la adsorción de nitrógeno se entiende como la superficie accesible al mismo y abarca la superficie externa de un sólido como así también superficie la interna producida por su porosidad. Dicha superficie se expresa por unidad de masa en  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  (Juszczak y col., 2002).

Las ecuaciones de Guggenheim-Anderson-deBoer (GAB) (van den Berg, 1981) y Brunauer-Emmett-Teller (BET) (Brunauer y col., 1938), desarrolladas en las secciones 3.5 y 3.6, son modelos ampliamente utilizados para caracterizar las isothermas de sorción en alimentos. Ambos modelos permiten obtener el valor de sorción de monocapa que se representa la cantidad de gas que cubre la superficie expuesta del sólido completamente con una capa de una molécula de espesor (van den Berg, 1981). La ecuación de BET se utiliza en el modelado de la sorción de nitrógeno y de agua. En el caso de esta última, la aplicabilidad de este modelo se limita un rango de  $a_w$  de 0,1 a 0,5 (Labuza, 1968), en cambio el modelo GAB se puede aplicar sobre un rango más amplio de  $a_w$ , hasta 0,9 (Lomauro y col., 1985 Furmaniak y col., 2009).

### **1.7.3. Relajación magnética y movilidad molecular**

La medición de los tiempos de relajación transversal ( $T_2$ ) a partir de la técnica de resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$ -RMN) provee información útil sobre la movilidad molecular de las matrices sólidas y de las poblaciones de agua que son afectadas

por la interacción con los sólidos (Fullerton y Cameron, 1988; Kou y col., 2000). Esta técnica permite medir diferencias en la movilidad de los polímeros midiendo los cambios en las constantes de relajación espín-espín ( $T_2$ ) o espín-red ( $T_1$ ) que se producen al cambiar la temperatura o el contenido de agua (Lin y col., 2006). Conduce, por lo tanto, a establecer vinculaciones con los aspectos que rigen la cinética de las transformaciones físicas y químicas. En particular, se puede analizar la movilidad de agua en las distintas zonas de la isoterma de sorción (Ruan y Chen, 1998a) de agua y establecer la localización de la  $T_g$  en forma complementaria al DSC (Lin y col., 2006).

### 1.7.3.1. Principios de la metodología

Cualquier núcleo atómico con un número cuántico de espín distinto de cero ( $I \neq 0$ ), cuando se coloca en un campo magnético estático se alinea con el mismo y puede absorber y emitir energía en forma de radiación electromagnética, lo que se detecta por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN). El núcleo del átomo de hidrógeno  $^1\text{H}$  (protón), es el más utilizado en la espectroscopía RMN, debido a la facilidad de observación, a su alta abundancia natural y al hecho de que se encuentra presente invariablemente en los sistemas biológicos y biomateriales.

Luego de absorber la energía proporcionada por un pulso de radiofrecuencia (absorción resonante), la distribución de la población de los núcleos retorna a estado de equilibrio perdiendo energía en forma de una onda de radiofrecuencia o por procesos de transiciones no radiantes, llamados en conjunto procesos de relajación.

El momento de espín nuclear de todos los protones de la muestra se representa por un único vector magnetización ( $M$ ) que se puede descomponer en dos componentes, una paralela al eje  $z$ , ( $M_z$ ) y otra en el plano  $xy$ , ( $M_{x,y}$ ). En el campo magnético inicial el espín nuclear está

orientado en la dirección del eje z siendo  $M_{xy}=0$  y  $M_z=M_0$ . En la Figura 1-17 se muestra la magnitud la señal de relajación versus el tiempo después de la aplicación de un pulso de  $90^\circ$ , es decir un pulso de radiofrecuencia de una energía tal que modifica el vector magnetización en un ángulo de  $90^\circ$ . La magnetización en el plano xy,  $M_{xy}$  tiene un valor máximo ( $M_0$ ) inmediatamente después del pulso de  $90^\circ$ , y luego decae a 0. Durante la relajación se produce un incremento de la magnetización sobre el eje z,  $M_z$ , lo que indica una recomposición, ya que el vector fue primero orientado hacia la dirección del eje y con  $M_z=0$  por el pulso de  $90^\circ$ . Dicha recomposición tiene una forma exponencial y eventualmente se equilibrará siendo  $M_z=M_0$ .

La señal obtenida de la recuperación o decaimiento es una característica de los procesos de relajación. Hay dos tipos de procesos de relajación: la longitudinal (espín-red) y la relajación transversal o espín-espín. Las constantes de tiempo que describen los procesos de relajación exponencial son conocidas como tiempos de relajación. El tiempo de relajación longitudinal es designado como  $T_1$  y el tiempo de relajación transversal como  $T_2$ . El análisis de  $T_1$  y  $T_2$  de una muestra permite el estudio de propiedades químicas y físicas. Un valor largo de  $T_1$  o  $T_2$  indica relajaciones lentas y tiempos cortos indican relajaciones rápidas.

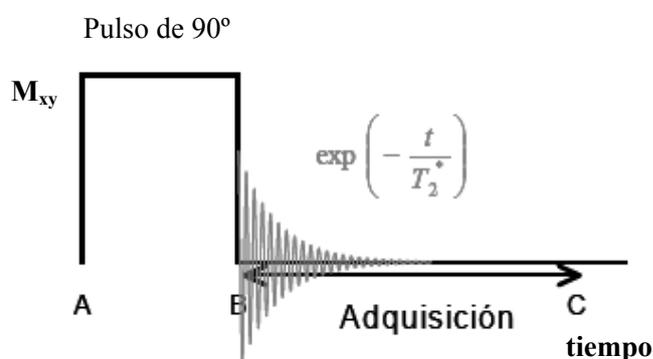


Figura 1-17: Señales de relajación de RMN después de un pulso RF de  $90^\circ$  aplicado a tiempo A. Duración del pulso: A-B. Adquisición de datos: B-C.

La curva de decaimiento de la magnetización en el plano  $xy$  ( $M_{xy}$ ) que se produce luego de aplicar un pulso de radiofrecuencia de  $90^\circ$  es normalmente llamada decaimiento libre de la inducción, o FID por sus siglas en inglés, y puede ser descripta por la siguiente ecuación:

$$M_{xy} = M_0 e^{-\frac{1}{T_2}} \quad \text{Ecuación 1-2}$$

El parámetro  $1/T_2$  es entonces la constante de decaimiento de una magnetización causada por un pulso RF de  $90^\circ$  sobre el plano  $xy$ . Sin embargo cuando se emplea un único pulso a  $90^\circ$  frecuentemente la magnetización neta decae más rápidamente que la predicha por la ecuación 1-2. Esto sucede debido a las inhomogeneidades en el campo magnético estático, esto hace que los núcleos de distintas partes de la muestra “sientan” un campo magnético levemente diferente. De esta manera el tiempo  $T_2^*$  medido en un experimento de decaimiento libre de la inducción es levemente diferente del  $T_2$  definido por la ecuación 1-2. Solamente los tiempos de relajación de los protones con decaimiento muy rápido (en el orden de los microsegundos) pueden medirse sin corregir el efecto de las inhomogeneidades de campo (Colquhoun y Goodfellow, 1994). En el caso de las muestras sólidas, como las estudiadas, es posible considerar que el  $T_2$  verdadero es muy cercano al  $T_2^*$  medido (Fullerton y Cameron, 1988).

Para evitar el efecto de la inhomogeneidades del campo, se utilizan métodos de eco de espín como el descrito por Hahn (Hahn, 1950), que consiste en dos pulsos, uno de  $90^\circ$  seguido por otro de  $180^\circ$ , que se aplica luego de un tiempo determinado ( $\tau$ ) en la secuencia  $90^\circ$ - $\tau$ - $180^\circ$  (Figura 1-18). Esto reenfoca la dispersión de la magnetización que se produce sobre el plano  $xy$  debida a los defectos del campo generando pico en la señal, o eco, a tiempo  $2\tau$ . Si el pulso de  $180^\circ$  se aplica a tiempos  $\tau$  cada vez mayores se observará una disminución en la amplitud del eco que estará caracterizada en función del tiempo por la constante de

decaimiento  $T_2$ . Esto permite medir correctamente tiempos de relajación más largos, correspondientes a protones más móviles, que la técnica de FID.

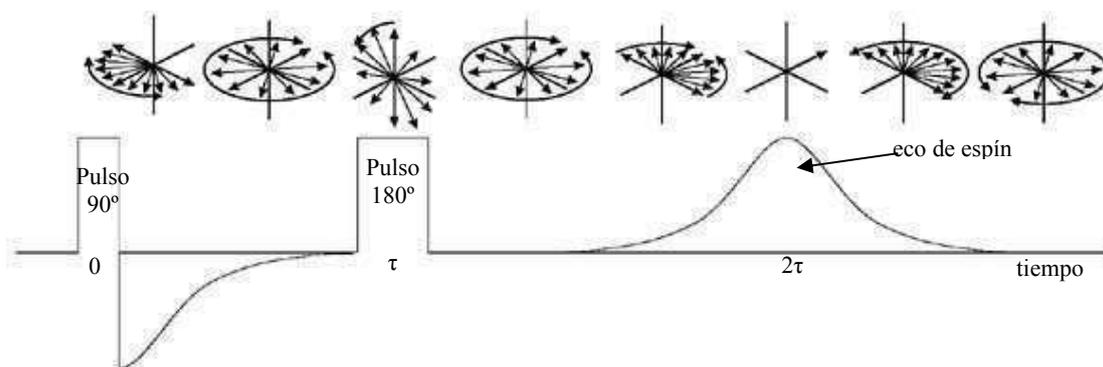


Figura 1-18: El experimento eco de espín de Hahn ( $90^\circ$ - $\tau$ - $180^\circ$ ) induce un pico en la amplitud de la señal o eco a tiempo  $2\tau$ . Adaptado de: <http://www.bruker-biospin.com/pulsetheory.html>.

Si además de experimentar la inhomogeneidad del campo, un núcleo sufre los efectos de la difusión y se mueve de una zona a otra en dicho campo inhomogéneo durante el tiempo del reenfoque ( $2\tau$ ), la amplitud del eco disminuye y por lo tanto la secuencia de pulsos de Hahn está limitada por el efecto de la difusión molecular. Carr y Purcell (1954) propusieron una variación del método de ecos de espín de Hahn, que luego fue modificada por Meiboom y Gill (1958). La secuencia de pulsos llamada Carr-Purcell-Meiboom-Gill o CPMG es de utilidad en la determinación de tiempos de relajación del orden de los milisegundos. Este método involucra un pulso de  $90^\circ$  seguido por una serie de pulsos a  $180^\circ$  a tiempos:  $\tau$ ,  $3\tau$ ,  $5\tau$ , etc., los cuales reenfocan los espines individuales para formar ecos a tiempos  $2\tau$ ,  $4\tau$ ,  $6\tau$  etc. (Figura 1-19).

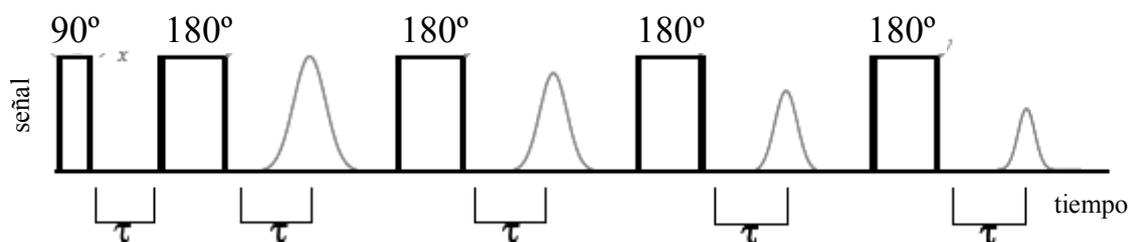


Figura 1-19: Experimento CPMG ( $90^\circ$ - $\tau$ - $180^\circ$ - $3\tau$ - $180^\circ$ - $5\tau$ - $180^\circ$ ...) produce un tren de ecos a tiempos  $2\tau$ ,  $4\tau$ ,  $6\tau$ ... La envolvente de las amplitudes de los múltiples ecos refleja la relajación transversal o decaimiento, a partir del cual  $T_2$  puede ser medido (Ruan y Chen, 1998b).

#### 1.7.4. Diagramas de estado suplementados y estabilidad física y química

Una manera de comprender los cambios fisicoquímicos involucrados en el desarrollo de la estructura y la textura de alimentos procesados es abordar un enfoque complementario que tenga en consideración los cambios de estado como función de la temperatura y del contenido de agua (Cuq y col., 2003). Los diagramas de estado suplementados muestran la temperatura de transición vítrea como función del contenido de agua y el efecto de la formación de hielo sobre la  $T_g$  y en la temperatura de equilibrio de la fusión del hielo ( $T_m$ ). También muestran la solubilidad como función de la temperatura y dan información sobre los cambios que ocurren debido al estado de no equilibrio de los alimentos amorfos y su tendencia al equilibrio (Reid y Fennema, 2008; Roos y col., 2009). Incluyen por lo tanto la noción de tiempo y permiten complementar la información de los diagramas de fase.

El conocimiento de los diagramas de estado suplementados es de gran importancia en los estudios relacionados con la movilidad molecular y la estabilidad de sistemas congelados o con bajo contenido de agua que no corresponden a estados de equilibrio termodinámico (Fennema, 1996; Roos y col., 1999). En la Figura 1-20 se muestra un diagrama de estado temperatura-composición simplificado para un sistema binario azúcar-agua, y se indican las

zonas correspondientes a las diferentes fases. El gráfico incluye la curva de temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) y la curva de solubilidad.

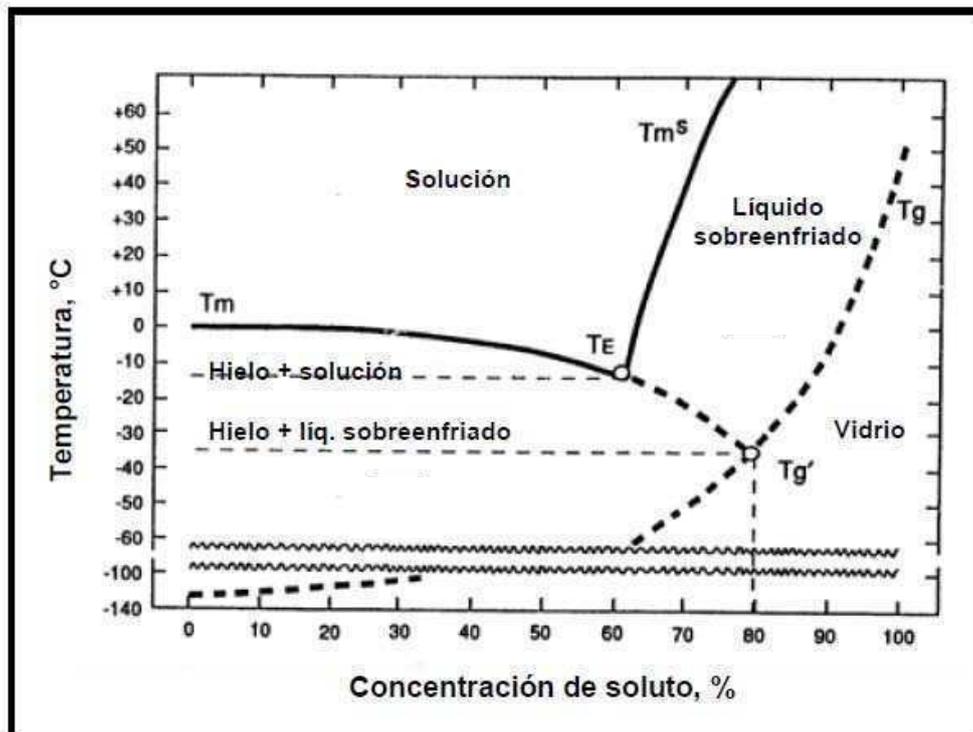


Figura 1-20. Diagrama de estado suplementado adaptado de (Fennema, 1996). Temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), fusión de hielo ( $T_m$ ), solubilidad ( $T_m^s$ ) Dichas curvas definen regiones de estabilidad variable.

Es importante señalar que cada sistema tendrá su diagrama de estado característico que diferirá cuantitativamente pero no cualitativamente del diagrama mostrado en la Figura 1-20.

## **1.8. Necesidad de integración de aspectos agronómicos, industriales y de control de calidad en el desarrollo de alimentos a base de cereales**

Para el desarrollo adecuado de productos innovadores es necesario contar con datos de las características de los materiales a emplear y de las transformaciones dinámicas a las que son sometidos durante el proceso de elaboración y/o almacenamiento. Existe un área de vacancia en la caracterización de materias primas y sus transformaciones en relación al uso del maíz para alimentación humana, y su desarrollo brindará competitividad al sector agroindustrial, brindando valor agregado para desarrollar una industria actualmente volcada fundamentalmente a los productos primarios.

El color y la apariencia son el primer contacto que tiene el consumidor con un alimento, condicionando sus preferencias e influyendo en su elección de aceptar o rechazar el alimento. Sin embargo, si bien hay numerosos estudios sobre características cromáticas de los alimentos, no hay estudios sistemáticos sobre aspectos de apariencia tales como transparencia/opacidad y brillo.

Por otra parte, la caracterización de los cambios físicos y químicos que ocurren en las distintas etapas de los procesos de elaboración y/o durante el almacenamiento de alimentos deshidratados y su relación con las transiciones supramoleculares que sufren los mismos proporcionarán las bases para formular y controlar adecuadamente los sistemas de manera de lograr productos con las características deseadas, y optimizar las condiciones de elaboración y almacenamiento de productos alimenticios deshidratados sobre bases científicas. Esto podría causar impacto en la industria de productos elaborados a partir de cereales y se orientaría a aumentar el valor agregado de materias primas de origen nacional con interés tecnológico.

## **2. Objetivos**

## **2.1. Objetivo general**

Como objetivo general del presente trabajo se planteó analizar y caracterizar los factores involucrados en las transformaciones estructurales y físico-químicas de maíces argentinos que determinan la calidad de productos obtenidos por procesos de gelatinización-laminación.

## **2.2. Objetivos específicos**

Realizar una caracterización fisicoquímica de muestras de etapas intermedias y productos finales del proceso de producción de laminados de maíz.

Investigar transiciones térmicas y cambios estructurales afectados por variables de composición y de proceso y su impacto en la calidad final del producto.

Generar diagramas de estado temperatura/composición para los distintos materiales estudiados, lo que permitirá analizar su comportamiento en base a las transiciones características de los mismos.

Optimizar técnicas de laboratorio que puedan servir como herramientas de control de procesos y diseño de productos para orientar al mejoramiento de la calidad.

Estudiar las propiedades mecánicas y realizar una caracterización a partir de un panel sensorial entrenado de los copos de maíz evaluando el efecto de la sorción de agua sobre la textura de los mismos.

Caracterizar el desarrollo de la reacción de Maillard en las distintas etapas del proceso de producción mediante el estudio de las variaciones de color y la medición de productos fluorescentes y otros marcadores químicos.

Estudiar los cambios de apariencia visual integrando las funciones de color y distribución espacial de la luz.

Caracterizar los factores importantes en la estabilidad del producto final.

# **3. Materiales y métodos**

### **3.1. Sistemas estudiados**

#### **3.1.1. Copos de maíz comerciales:**

Se utilizaron copos de maíz comerciales, comunes (CMC) y azucarados (CMA), gentilmente provistos por una empresa fabricante de la zona. Los copos fueron fabricados utilizando el proceso tradicional de gelatinización–laminación descrito en la sección 1.3, con *grits* producidos a partir de variedades de maíz de tipo colorado duro. Los ingredientes utilizados, según fue informado por la empresa fueron: maíz, azúcar, agua y sal.

#### **3.1.2. Estados intermedios del proceso de fabricación de copos de maíz**

Para estudiar los cambios producidos durante la elaboración de los copos de maíz se obtuvieron muestras en cuatro etapas del proceso de producción, las cuales que fueron elegidas por ser representativas de las transformaciones más importantes: a) materia prima (*grits*), b) proceso completo de cocción, secado y temperado (*grits* cocidos), c) laminado (*grits* laminados) y producto final luego del tostado (copos de maíz). Se tomaron muestras de tres lotes, sometidos al mismo proceso y se informó el promedio de las tres determinaciones, cada una con su respectivo replicado.

#### **3.1.3. Sistemas modelo (*grits* cocidos producidos en el laboratorio)**

Se prepararon sistemas de *grits* gelatinizados en el laboratorio para estudiar el desarrollo de color y cambios en la apariencia visual, los intermediarios de la reacción de Maillard, los compuestos fluorescentes generados durante la cocción y el efecto de los ingredientes agregados en la formulación.

Se utilizaron *grits* y extracto de malta provistos por la empresa local productora antes mencionada. Se eligieron tres formulaciones diferentes derivadas de las utilizadas en la fabricación de laminados de maíz (Fast, 2000; Chaunier y col., 2007). Los diferentes ingredientes se utilizaron por separado a fin de observar su efecto individual. Se mantuvo constante la relación de masas de cada ingrediente con los *grits*. Las formulaciones utilizadas fueron:

Control (C): 25 g de *grits* + 15 g de H<sub>2</sub>O.

Glucosa (G): 25 g de *grits* + 2 g de glucosa +15 g de H<sub>2</sub>O.

Malta (M): 25 g de *grits* + 0,55 g de extracto de malta +15 g de H<sub>2</sub>O.

Glucosa y malta (GM): 25 g de *grits* + 2 g de glucosa + 0,55 g de extracto de malta +15 g de H<sub>2</sub>O.

La proporción de agua se eligió a fin de lograr un contenido de agua al final de la cocción de aproximadamente 70 gramos de agua cada 100 gramos de sólidos secos (% en base seca) (Chaunier y col., 2007). El pH de los sistemas fue de 4,5. La gelatinización de las distintas formulaciones se produjo por cocción bajo vapor saturado en una olla a presión durante 5, 15, 30, 60 y 120 minutos a fin de evaluar los cambios en función del tiempo. Estudios posteriores de calorimetría diferencial de barrido (DSC) y fluorescencia fueron realizados separando una alícuota de cada sistema que se sometió a molienda criogénica con nitrógeno líquido y posterior liofilización para su conservación hasta su análisis.

### **3.2. Preparación de sistemas con diferente contenido de agua.**

Con el fin de obtener sistemas con diferente contenido de agua, las muestras se incubaron durante 20 días a 25 °C en desecadores al vacío en atmósfera de humedad relativa (HR) controlada. Para esto se emplearon las siguientes soluciones salinas saturadas (calidad

analítica, Merck): LiCl (HR 11%), MgCl<sub>2</sub> (HR 33%), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (HR 44%), NaCl (HR 75%), KCl (HR 84%) (Greenspan, 1977). En las muestras de alta humedad relativa se verificó la ausencia de crecimiento fúngico observando con lupa estereoscópica antes de ser utilizadas y descartando aquellas que presentaban desarrollo de hongos. Para lograr muestras con valores de humedad mayores a los alcanzados por equilibrio con las sales saturadas en desecadores y evitar el crecimiento de hongos, se agregó agua a las muestras en la proporción adecuada a la humedad final que se pretendía alcanzar y se dejaron equilibrar por 24 h. a temperatura ambiente.

### **3.3. Liofilización**

Las muestras destinadas a liofilizar para su conservación fueron congeladas durante 24 h en un freezer convencional (-25 °C) y por inmersión en nitrógeno líquido (-196 °C) inmediatamente antes de ser colocadas en un liofilizador (Heto Lab Equipment, Dinamarca), con trampa de enfriamiento modelo CT 110 que opera con temperatura de placa condensadora de -111 °C. El secado primario se desarrolló sin control de temperatura de estante y a una presión de la cámara entre 0,1 y  $4 \cdot 10^{-4}$  mbar, que corresponde a temperaturas de hielo de -45 a menos de -60 °C. El secado secundario se realizó a 25 °C. Luego de liofilizadas, algunas muestras fueron transferidas a desecadores con el desecante “drierite” hasta su análisis.

### **3.4. Análisis de composición**

#### **3.4.1. Contenido de proteínas**

Las proteínas totales se midieron por el método de micro Kjeldhal utilizando la metodología descrita por la Asociación Americana de Química de Cereales método AACC 46-13 (AACC, 1995).

### **3.4.2. Contenido de aceite**

El contenido de aceite se midió por extracción continua con solvente utilizando el sistema de Twisselman. Se pesaron 2 g de muestra finamente molida en un cartucho de celulosa y se extrajo con hexano (calidad analítica, Sintorgan) en caliente a reflujo durante 8 horas. El procedimiento se repitió tres veces con distintas alícuotas de la misma muestra para reducir el error en la pesada de la masa de aceite. El contenido de aceite se determinó por pesada en una balanza analítica luego de evaporar el hexano.

### **3.4.3. Cenizas**

El contenido de cenizas se determinó por calcinación de la muestra molida en mufla a 600 °C según el método AACC 08-01 (AACC, 1995).

### **3.4.4. Contenido de almidón y amilosa**

El contenido de almidón y amilosa se determinó por el método descrito por Knutson (1986) y modificado para su aplicación en maíces argentinos por Robutti y col. (2000; 2002). Brevemente, las muestras molidas se incubaron con una solución de yodo 0,006 M en dimetilsulfóxido 90 % durante 48 h. a 70 °C para solubilizar el almidón. El almidón se determinó como carbohidratos totales por el método de Dubois y col. (1956) y la amilosa se midió por colorimetría del complejo con yodo a 600 nm. Se midieron 5 replicados y los resultados se promediaron.

## **3.5. Medición de contenido de agua y actividad de agua**

El contenido de agua se midió gravimétricamente por secado a 105 °C hasta peso constante (AACC 44-16) en estufa de circulación forzada. Los resultados se expresaron en

gramos de agua por cada 100 gramos de materia seca (% bs). Para los sistemas de alta humedad y con azúcares agregados se realizó un secado previo a 60 °C durante 48 horas en estufa de vacío en presencia de desecante “drierite” (W.A. Hammond Drierite Co. LTD, Xenia, USA) con el objetivo de reducir la humedad inicial y evitar el desarrollo de reacciones de pardeamiento que alteraran las muestras.

La actividad de agua se midió por punto de rocío utilizando un equipo Aqualab Serie 3 (Decagon Devices, Pullman, Washington, USA).

Las mediciones se realizaron por triplicado y se informó el valor promedio con su respectivo desvío estándar.

A partir de los resultados obtenidos se graficó la curva de sorción de agua y se ajustó la ecuación de Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) (Ecuación 3-1) a los valores experimentales. Esta ecuación es ampliamente utilizada en modelos de alimentos y se aplica en un amplio rango de HR como el empleado en este trabajo (Lomauro y col., 1985 Furmaniak y col., 2009).

$$\frac{a_w}{m} = \left(\frac{1}{m_0 C k}\right) + \left(1 - \frac{2}{C}\right)a_w + \left(\frac{(1/C) - 1}{m_0} k\right)a_w^2 \quad \text{Ecuación 3-1}$$

Donde:

m: es el contenido de agua en base seca

$a_w$ : es la actividad de agua expresada como HR/100

C: es la constante de Guggenheim y está relacionada con el calor de sorción del agua a la primera capa de sitios activos del sólido

k: es un factor que corrige las propiedades de las moléculas de agua de la multicapa respecto del agua libre

$m_0$ : es el contenido de agua límite de hidratación

La calidad del ajuste a la ecuación GAB se midió calculando el porcentaje de error (%E) de los valores de contenido de agua predichos por la ecuación 3-1 (Lomauro y col., 1985). De acuerdo a estos autores, un buen ajuste es obtenido cuando %E<5 (ecuación 3-2).

$$\%E = \frac{100}{n} \sum \frac{|m - mi^*|}{m}$$

Ecuación 3-2

Donde:

n: es el número de mediciones.

m: es el contenido de agua medido.

mi\*: es el contenido de agua calculado.

A partir de la humedad de monocapa  $m_0$  es posible calcular el área superficial para adsorción de agua a partir de la ecuación 3-3 (Gregg y Sing, 1982; Condon, 2006).

$$S_w = \frac{m_0 N a}{M}$$

Ecuación 3-3

Donde:

$S_w$ : es el área superficial del adsorbente en  $m^2 \cdot g^{-1}$ .

$m_0$ : es el contenido de agua de monocapa calculado por la ecuación de GAB.

N: es el número de Avogadro ( $6,02 \cdot 10^{23}$  moléculas  $\cdot$  mol<sup>-1</sup>).

a: es el área que ocupa una molécula de agua ( $10,6 \cdot 10^{-20}$  m<sup>2</sup>).

M: es la masa molar del agua (18 g  $\cdot$  mol<sup>-1</sup>)

### 3.6. Sorción de nitrógeno

Las isotermas de sorción de N<sub>2</sub> se determinaron empleando un equipo automático de absorción de gas (Sorptometer Gemini 2360 V2.00). Las muestras fueron secadas por liofilización, desgasificadas al vacío y se congelaron bajo nitrógeno líquido (-196 °C). Las mediciones se realizaron en el rango de P/P<sub>0</sub> desde 0,05 a 1 (multipunto). A partir de los resultados obtenidos se calculó el área específica de sorción por el método Brunauer-Emmett-

Teller (BET). El área superficial se calculó a partir de la ecuación de BET linealizada (ecuación 3-4) en el rango de  $P/P_0$  desde 0,05 a 0,35 (Brunauer y col., 1938).

$$\frac{P}{V_a(P_0 - P)} = \frac{1}{V_m C} + \left( \frac{C-1}{V_m C} \right) \frac{P}{P_0} \quad \text{Ecuación 3-4}$$

Donde:

$V_a$ : volumen adsorbido a la presión  $P$  en  $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ .

$V_m$ : volumen de monocapa (volumen adsorbido cuando toda la superficie adsorbente está cubierta por una capa única de moléculas de  $\text{N}_2$ )

$P$ : presión parcial de nitrógeno

$P_0$ : presión de saturación de nitrógeno a la temperatura del  $\text{N}_2$  líquido

$C$ : es una constante

El área específica de sorción de nitrógeno ( $S_N$ ) se calculó utilizando las ecuaciones 3-5 a 3-7 a partir de los datos de la isoterma ajustada a la ecuación de BET linealizada (Hellman y Melvin, 1950). A partir de la regresión lineal se calculó la ordenada al origen ( $b$ ) y la pendiente ( $p$ ) siendo:

$$p = \frac{C-1}{V_m C} \quad \text{Ecuación 3-5}$$

$$b = \frac{1}{V_m C} \quad \text{Ecuación 3-6}$$

$$S_N = \frac{Na}{V(p+b)} \quad \text{Ecuación 3-7}$$

Donde:

$S_N$ : es el área superficial específica para la sorción de  $\text{N}_2$  en  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ,

$N$ : es el número de Avogadro ( $6,02 \cdot 10^{23}$  moléculas  $\cdot \text{mol}^{-1}$ ),

$a$ : es el área que ocupa una molécula de  $\text{N}_2$  ( $16,2 \cdot 10^{-20}$   $\text{m}^2$ ),

$V$ : es el volumen molar del  $\text{N}_2$  ( $22,414 \cdot 10^3$   $\text{cm}^3$ )

### 3.7. Calorimetría diferencial de barrido

Las transiciones térmicas de las muestras se estudiaron por calorimetría diferencial de barrido (DSC) utilizando un equipo DSC 822 (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Suiza). Se pesaron aproximadamente 15 mg de muestra por duplicado en cápsulas de aluminio de 40 microlitros de capacidad (Mettler) y se sellaron herméticamente. El flujo térmico se midió con una precisión de 0,04  $\mu\text{W}$ , el intervalo de 95% de confianza estimado para la temperatura fue de 1  $^{\circ}\text{C}$  y para la entalpía de 10 mJ. El instrumento fue calibrado con indio (punto de fusión 156,6  $^{\circ}\text{C}$ ) y zinc (punto de fusión 419,6  $^{\circ}\text{C}$ ). Se utilizó una cápsula vacía como referencia. Las muestras se corrieron desde -100 hasta 150  $^{\circ}\text{C}$  a 10  $^{\circ}\text{C}/\text{m}$ . Esta velocidad de calentamiento se utiliza comúnmente para observar en forma clara transiciones en biopolímeros (Ablett y col., 1993; Sopade y col., 2004; Tananuwong y Reid, 2004). Para las muestras de alto contenido de agua la temperatura final fue menor para evitar la ruptura de la cápsula causada por el incremento de la presión del vapor. Para evitar fenómenos de distorsión observados al comienzo y final del calentamiento o enfriamiento, las determinaciones se realizaron en todos los casos comenzando el barrido por lo menos 30  $^{\circ}\text{C}$  por debajo de la temperatura esperada para el inicio de una dada transición y finalizando por lo menos a una temperatura 10  $^{\circ}\text{C}$  mayor. El enfriamiento del equipo se realizó por utilización de nitrógeno líquido a una presión en el tanque de 150 kPa. Una corriente continua de nitrógeno gaseoso de 200 mL/min medido con un caudalímetro (Bruno Shillig, Argentina) fue utilizada para evitar la condensación de agua sobre las cápsulas y sobre el sensor. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado y se informó el valor promedio. Los termogramas fueron analizados con el programa STAR<sup>®</sup> Software v. 6.1 (Mettler Thermal Analysis).

La temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) se determinó como la temperatura del comienzo de una discontinuidad en la curva de flujo térmico versus temperatura, lo cual indica un cambio en la capacidad calorífica de la muestra.

Las temperaturas y los valores de entalpía ( $\Delta H$ , que se expresó en J/g) de las transiciones de primer orden (gelatinización y relajaciones entálpicas) se obtuvieron por medio del programa del equipo de medición, integrando el área bajo la curva de la transición.

El grado de gelatinización de una muestra se calculó según la ecuación 3-8 midiendo la entalpía de gelatinización del almidón en exceso de agua como:

$$\%gela = \frac{\Delta H_{Ggrit} - \Delta H_{Gt}}{\Delta H_{Ggrit}} \times 100 \quad \text{Ecuación 3-8}$$

Donde:

$\Delta H_{Ggrit}$  es la entalpía de gelatinización del almidón medida en el *grit* sin tratamiento térmico.

$\Delta H_{Gt}$  es la entalpía de gelatinización del almidón medida luego de someter la muestra al vapor un tiempo =t.

### **3.7.1. Ensayo de almacenamiento para estudiar la recuperación de transiciones endotérmicas.**

A fin de determinar caracterizar las transiciones endotérmicas observadas a aproximadamente 50 °C se diseñó un experimento de almacenamiento a diferentes temperaturas (Thiewes y Steeneken, 1997). Se utilizaron dos muestras de copos de maíz con contenidos de agua de 5,1 y 10,7 (%bt) las mismas se trataron a 70 °C durante 5 minutos para borrar las transiciones térmicas. Luego se incubó a 4, 25, y 37 °C durante 5, 7, 12, y 22 días para cada temperatura. La recuperación de las transiciones endotérmicas fue medida por DSC.

### 3.8. Movilidad molecular por resonancia magnética nuclear

La movilidad del agua y los sólidos se determinó mediante resonancia magnética nuclear de protones resuelta en el tiempo ( $^1\text{H}$ -RMN) midiendo los tiempos de relajación spin-spin ( $T_2$ ), para ello se utilizó un equipo Bruker Minispec mq20 con un campo de 0,47 T operando a 20 MHz, donde la temperatura del imán se mantuvo a 40 °C. La celda de muestra está equipada con un sistema de control de temperatura enfriado con nitrógeno líquido que permite operar entre -100 y 80 °C. El análisis de  $T_2$  por FID se utilizó para estudiar la movilidad de los protones asociados a la matriz sólida en el rango de temperaturas de 5 a 80 °C (Lin, 2006). Las muestras se molieron y se colocaron en tubos de vidrio de 10 mm de diámetro hasta una altura de 5 cm, luego se equilibraron a diferentes temperaturas (5-80 °C) en un baño de agua termostático (Haake Phoenix II C35P, Alemania). Se registraron suficientes ecos de manera que la línea de base fuera cero y que el  $T_2$  fuera determinado por el envolvente del decaimiento del eco. Se ajustó una ecuación monoexponencial a los datos de las curvas de decaimiento (ecuación 3-9).

$$I = Ae^{(-t/T_{2FID})} \quad \text{Ecuación 3-9}$$

Donde:  $I$  es la intensidad de la señal de los protones,  $T_{2FID}$  es el tiempo de relajación ( $T_2^*$ ) de los protones que forman parte de las cadenas de polímeros de la muestra y del agua íntimamente unida al sólido y  $A$  es un parámetro relacionado con la intensidad de la señal.

Los tiempos de relajación más largos (tales como los correspondientes a los protones con mayor movilidad) se midieron utilizando la secuencia de pulsos de eco de espín de Hahn ( $90^\circ\text{-}\tau\text{-}180^\circ$ ) (Hahn, 1950) con un rango de tiempos interpulso de 0,001 a 4 ms. Este rango se seleccionó para poder registrar el decaimiento completo de la señal.

Cuando los tiempos de relajación son aún mas largos, del orden de los milisegundos, y la difusión hace que los núcleos se muevan de una parte a otra de un campo inhomogéneo la amplitud del eco se reduce. En las muestras de mayor contenido de agua para las que no fue apropiada la técnica de eco de espín de Hahn se utilizó la técnica de CPMG (Ruan y Chen, 1998b). Las curvas de decaimiento se ajustaron a una ecuación biexponencial (ecuación 3-10).

$$I = A_1 e^{(-t/T_{2S})} + A_2 e^{(-t/T_{2L})} \quad \text{Ecuación 3-10}$$

Donde: I es la intensidad de la señal de RMN al tiempo t. El tiempo de relajación  $T_{2S}$  corresponde a los protones de la fracción menos móvil.  $A_1$  es proporcional a la cantidad de protones en el estado representado por  $T_{2S}$ .  $T_{2L}$  corresponde al tiempo de relajación los protones de la fracción más móvil y  $A_2$  es proporcional al número de protones en el estado  $T_{2L}$ .

### 3.9. Medición de propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas se midieron mediante un test de compresión “*in bulk*” utilizando una máquina de testeo universal Instron modelo 1011 (Instron, Canton, Massachussets, USA). Las muestras (10 a 12 g dependiendo del contenido de agua) se colocaron en un cilindro de 50 mm de diámetro hasta una altura de 30 mm. La compresión se realizó con un pistón de 30 mm de diámetro a una velocidad de  $50 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , hasta un 35 % de deformación de las muestras, este porcentaje es comúnmente utilizado en este tipo de muestras donde la compresión genera rotura y acumulación de fragmentos bajo el pistón (Peleg, 1998; Swonsichon y Peleg, 1998). Se registraron los datos de fuerza vs. distancia

hasta la máxima compresión utilizando detención automática de la compresión. La fuerza comenzó a medirse a partir de un valor umbral de 0,01 Kg.

Los datos obtenidos en el ensayo de compresión fueron transformados en esfuerzo ingenieril ( $\sigma_E$ ) y deformación ingenieril ( $\epsilon_E$ ) utilizando las ecuaciones 3-11 y 3-12 (Fizman y Durán, 1997). En este experimento el área de compresión permaneció constante debido a que la muestra se dispuso confinada en un cilindro por lo tanto  $\epsilon_E$  se calculó en función de la variación de la altura a medida que progresó la compresión.

$$\sigma_E = \frac{F(t)}{A_0} \quad \text{Ecuación 3-11}$$

$$\epsilon_E = \frac{H(t)}{H_0} \quad \text{Ecuación 3-12}$$

Dónde:

$\sigma_E$ : esfuerzo ingenieril

$\epsilon_E$ : deformación aparente

$F(t)$ : fuerza en función del tiempo

$H_0$ : altura inicial de la muestra

$H(t)$ : variación de la altura en función del tiempo

$A_0$ : área que es sometida a compresión, en nuestro caso el área del émbolo.

A partir de estas curvas se calculó el módulo de deformabilidad ( $E_d$ ) según la ecuación 3-13 como la pendiente de la curva de compresión en la zona lineal a bajas deformaciones (Mohsenin y Mittal, 1977; Hicsasmaz y Rizvi, 2005).

$$E_d = \frac{\sigma_{E(t)}}{\epsilon_{E(t)}} \quad \text{Ecuación 3-13}$$

Cuando las muestras sufren ruptura la definición de bajas deformaciones depende mucho de la deformación de ruptura y del tipo de muestra (Bourne, 1979). En este estudio  $E_d$

se calculó como la pendiente obtenida por regresión lineal de los datos de  $\sigma_{E(t)}$  vs.  $\epsilon_{E(t)}$ . En la Figura 3-1 se observa un ejemplo de una curva de deformación indicando la zona en que se calcula  $E_d$ .

También se registró la tensión a la máxima deformación alcanzada  $\sigma_E^m$ . Para cada sistema se midieron entre 5 y 12 replicados según la disponibilidad de la muestra y los resultados fueron promediados.

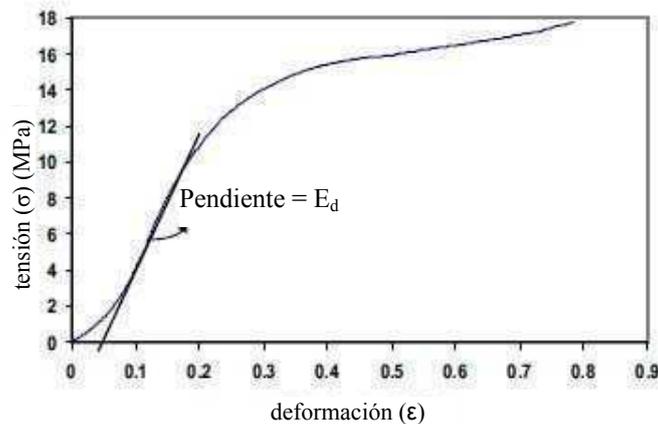


Figura 3-1: Ejemplo de curva de tensión vs. deformación dónde se observa la zona lineal que se utiliza para el cálculo del módulo de deformación ( $E_d$ ). Adaptado de Rodríguez-Sandoval y col. (2008).

Con el objetivo de cuantificar el perfil aserrado de las curvas de compresión y la forma en que éste cambió al aumentar el contenido de agua se ajustó un modelo de polinomio de tercer orden (ecuación 3-14) (Henry y col., 2000) que se validó mediante el análisis del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y se analizó la dispersión de los residuos de ajuste (Gondek y Lewicki, 2006). Para ello se realizó el ajuste y se obtuvieron los residuales para cada replicado, se calculó la desviación estándar para dichos residuales y este valor se promedió entre los replicados para cada contenido de agua.

$$y = a + bx + cx^2 + dx^3$$

Ecuación 3-14

Donde:

 $y$  = tensión $x$  = deformación $a, b, c$  y  $d$  = parámetros del modelo.

Los datos obtenidos para  $\sigma_E^m$  y  $E_d$  fueron modelados en función del contenido de agua de las muestras utilizando una ecuación lorentziana (Peng y Lu, 2005; Yang y col., 2010) (ecuación 3-15).

$$Y = \frac{A}{1 + \left(\frac{x - x_0}{\gamma}\right)^2} + b$$

Ecuación 3-15

Donde:

 $y$  = valor de la propiedad a ajustar $x$  = ordenada $A$  = amplitud en el valor máximo de la abscisa $x_0$  = es el valor de la ordenada en el máximo $\gamma$  = es el ancho de la función cuando  $Y=A/2$  $b$  = es el valor asintótico de la propiedad

Las curvas se ajustaron utilizando el software GraphPad Prism versión 4.0 para Windows, (GraphPad Software, San Diego, California, USA). El ajuste de dichos modelos se ponderó mediante el coeficiente de determinación, la observación de la distribución de los residuales y el cálculo del sesgo o factor *bias* según la ecuación 3-16. Este factor cuantifica si, en promedio, un modelo predice valores superiores (*bias* >1) o inferiores (*bias* <1) respecto de las mediciones, un modelo sin sesgo tiene un *bias factor* = 1 (Alzamora y col., 2005).

$$Bias\ Factor = 10^{\frac{1}{n} \sum \log_{10} \left( \frac{predicho}{observado} \right)}$$

Ecuación 3-16

Dónde:

predicho: es el valor predicho por el modelo para un dado valor de la variable independiente.

observado: es el valor medido para el mismo valor de la variable independiente.

n: es el número de observaciones

### 3.10. Evaluación sensorial de la textura

Se evaluó la textura oral de los copos de maíz con diferentes contenidos de agua. Para ello se seleccionó y entrenó un panel de evaluadores. Las mediciones se realizaron en una habitación con iluminación homogénea, temperatura agradable y libre de posibles distracciones. La misma fue dividida en dos sectores: una zona de entrenamiento para discusión en la modalidad de mesa redonda (Figura 3-2) y otra de análisis. Para que los juicios fuesen independientes, el sector de análisis fue dividido en seis cubículos blancos provistos con los materiales necesarios para realizar las pruebas de entrenamiento o las mediciones según fuera necesario (Figura 3-3).



Figura 3-2: Sector de entrenamiento de los jueces para discusión en mesa redonda.



Figura 3-3: Cabinas individuales de evaluación sensorial.

### **3.10.1. Procedimiento de selección de evaluadores**

Los candidatos fueron reclutados entre el personal del Departamento de Industrias de la Universidad de Buenos Aires. A cada uno se le informo los objetivos de la selección, el tiempo que les iba a insumir el trabajo durante y después de la selección, y los procedimientos generales que se iban a utilizar. Durante el período de reclutamiento se tuvieron en cuenta los aspectos psicológicos como el interés del candidato por el objetivo propuesto, la predisposición, la disponibilidad de tiempo y la capacidad para interactuar con el resto del grupo (Civille y Szczesniak, 1973).

#### **3.10.1.1. Pruebas de selección**

Para la selección final de los evaluadores se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos las diferentes pruebas de selección realizadas por cada candidato:

- a. Encuesta personal
- b. Reconocimiento de gustos básicos
- c. Prueba del triangulo secuencial
- d. Prueba de ordenamiento de textura

##### **3.10.1.1.a. Encuesta personal**

Los candidatos que se mostraron interesados en participar en el panel llenaron una encuesta personal destinada a recabar sus datos y establecer la presencia de factores de importancia en la selección tales como dietas, estado de salud y hábitos alimenticios además de detectar posibles incompatibilidades o alteraciones en la percepción (Meilgaard y col., 1999). Además se incluyó una sección compuesta por ocho preguntas en la cual se evaluaron

conceptos fundamentales sobre la textura a fin de obtener información preliminar del conocimiento de los candidatos (Figura 3-4). Se encuestaron veinte candidatos, los cuales se sometieron luego, a las pruebas de evaluación. Los datos conjuntos de la encuesta y las pruebas fueron utilizados en la selección final de los jueces.

<b>Cuestionario de selección de integrantes para un panel de textura oral.</b>	
<b>Datos generales:</b>	
Nombre:	
Dirección:	
Lugar de trabajo:	
Teléfono:	
Correo electrónico:	
<b>Disponibilidad:</b>	
1. ¿Qué días de la semana está disponible?	
1. ¿En los días que está disponible, hay algún horario en que no puede estar disponible?	
<b>Salud:</b>	
1. ¿Posee usted alguna de las siguientes enfermedades?	
Diabetes	<input type="checkbox"/>
Hipoglucemia	<input type="checkbox"/>
Alergias alimentarias	<input type="checkbox"/>
Hipertensión	<input type="checkbox"/>
Enfermedades en la cavidad oral (llagas, herpes)	<input type="checkbox"/>
Usa dentaduras postizas	<input type="checkbox"/>
2. ¿Toma alguna medicación que afecte su percepción sensorial, especialmente gusto o tacto?	
<b>Hábitos alimentarios:</b>	
¿Está siguiendo alguna dieta específica? En caso afirmativo detalle.	
¿Cuán frecuentemente come afuera al mes?	
¿Cuán frecuentemente come en locales de comida rápida al mes?	
¿Cuántas veces al mes come alimentos congelados?	
¿Cuál es su comida preferida?	
¿Cuál es su comida menos preferida?	

<b>Cuestionario de selección de integrantes para un panel de textura oral.</b>
¿Qué alimentos no puede consumir?
¿Qué alimentos no le gusta consumir?
¿Cómo considera su sensibilidad a las características texturales de un alimento?
Mejor que el promedio <input type="checkbox"/>
Promedio <input type="checkbox"/>
Por debajo del promedio <input type="checkbox"/>
<b>Preguntas sobre textura:</b>
¿Cómo describiría la diferencia entre sabor y textura?
Describe algunas de las propiedades texturales generales de los alimentos.
Describe algunas de las partículas que puede encontrar en los alimentos.
Describe que propiedades son evidentes cuando mastica un alimento.
Enumere algunas de las características texturales de las papas fritas.
Enumere algunas de las características texturales del dulce de leche.
Enumere algunas de las características texturales del pan.
¿Para qué tipo de productos es importante la textura?

Figura 3-4: Cuestionario previo para selección de un panel de textura oral (Meilgaard y col., 1999).

### 3.10.1.1.b. Reconocimiento de gustos básicos

Se evaluó la sensibilidad de los candidatos para los gustos dulce (sacarosa), salado (NaCl), amargo (cafeína) y ácido (ácido cítrico) siguiendo el método mediante la prueba de Jellinek (1985). A cada candidato se le presentaron soluciones acuosas patrones en vasos de plástico de 200 ml indicando el sabor en su rotulo con el objetivo de que pudieran reconocer los gustos básicos antes de evaluar las soluciones incógnita. Luego se le entregaron 10 muestras incógnitas de las soluciones patrones en las concentraciones indicadas por la metodología del test. Se utilizaron dos series de diluciones en sesiones separadas: geométrica y aritmética. La serie geométrica, de razón dos, se utiliza en la práctica corriente. La serie aritmética, de intervalos más estrechos, tiene por objeto obtener una mayor precisión en la agudeza gustativa.

Previo a esta prueba a cada candidato se le indicó las áreas de la lengua o del paladar donde se detectan mejor los gustos para que los mismos se concentraran en esas áreas durante la evaluación.

La técnica de evaluación utilizada fue la siguiente: tomar pequeños sorbos de la muestra a evaluar y distribuirlos por toda la lengua y el paladar. Las soluciones se prepararon utilizando agua mineral Villa del Sur. Las soluciones no se debían tragar sino ser desechadas (Figura 3-5). Como neutralizante entre muestra y muestra se utilizó agua mineral.

Nombre y Apellido:.....

Fecha: .....

Usted ha recibido soluciones acuosas en bajas concentraciones de sacarosa (dulce), cloruro de sodio (salado), ácido cítrico (ácido) y cafeína (amargo). Su tarea consiste en reconocer cada gusto básico, teniendo en cuenta las consideraciones antes nombradas.

Cuando la muestra tenga gusto a agua (concentraciones menores que su umbral) marque 0. Si le parece que la muestra es distinta al agua pero no distingue el sabor marque “?”.

Las muestras no deben tragarse. Se deben evaluar de izquierda a derecha.

En lo posible, pruebe las muestras una sola vez, confiando en esta primera impresión.

Entre muestra y muestra enjuague la boca con agua.

Código	A	B	C	D	E	F	G	H	J	K
Gusto										

Esperé cinco minutos y evalúe la segunda fila

Código	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V
Gusto										

Figura 3-5: consigna para la prueba de gustos básicos.

Análisis de los resultados: Como criterio de selección se definió que los evaluadores que tenían un 65 % de acierto en las dos series de pruebas de gustos básicos continuaban con las pruebas de selección (Hough y col., 1995).

### **3.10.1.1.c. Prueba de triangulo secuencial.**

Las pruebas secuenciales están diseñadas para reducir el número de evaluaciones necesarias para llegar a una conclusión sobre aceptación o rechazo en casos como la selección de un panel de evaluadores o la salida al mercado de un lote de producto (Meilgaard y col., 1999). El objetivo de esta prueba fue evaluar la sensibilidad de los candidatos para detectar pequeñas diferencias en pares de alimentos muy similares.

Cada triangulo estaba formado por tres muestras donde dos de ellas eran iguales y una diferente. Los pares de alimentos fueron similares y presentados bajo las mismas condiciones para evitar que el evaluador percibiera diferencias en la apariencia (Tabla 3-1). El candidato debía detectar cual era la diferente, en caso de no poder decidir debía elegir una. Se realizaron 4 sesiones de 5 triángulos cada una. Las muestras fueron presentadas en vasos de plástico de 150 ml codificadas con números de tres dígitos elegidos al azar y presentadas en orden aleatorio. Como neutralizante se utilizó agua mineral. La consigna de la prueba se muestra en la Figura 3-6.

Tabla 3-1: Pares de alimentos utilizados en la prueba de triángulo secuencial.

Producto	Marca/ pares	Temperatura	Iluminación
Leche entera	La Serenísima UHT	4 °C	Blanca
	Las Tres Niñas UHT		
Gaseosa	Coca cola	4 °C	Blanca
	Pepsi cola		
Yogurt entero	La Serenísima firme de vainilla	4 °C	Blanca
	Sancor firme de vainilla		
Chocolate de taza rallado	Águila semiamargo	Ambiente	Blanca
	Godet semiamargo		

**NOMBRE:**.....

**EVALUADOR N°**..... **FECHA:** .../.../...

Ud. recibirá dos grupos de tres muestras. En cada grupo, dos de estas muestras son idénticas y la otra es diferente. Pruebe las muestras de izquierda a derecha y todas las veces que sea necesario para poder formular su respuesta.

Por favor, circule el número de la muestra diferente

Si no encuentra la diferencia deberá igualmente elegir una.

378 157 842

Figura 3-6: consigna para la prueba de triángulo.

Los resultados se evaluaron utilizando el gráfico descrito en la Figura 3-7 en el cual se grafica el número de pruebas realizadas en el eje de las abscisas (x) y el número de respuestas correctas en el de las ordenadas (y). Este gráfico presenta tres zonas demarcadas por ecuaciones de probabilidad (ecuaciones 3-17 y 3-18): región de aceptación, región de rechazo y región de continuación de la prueba. Para cada prueba se ingresó el valor (1,1) si fue correcta y el valor (0,1) para las incorrectas. Para la prueba siguiente se incrementó el valor de

x en una unidad. De esta manera al final de cada sesión se ingresaron 5 puntos a la gráfica por cada candidato. Una vez que el candidato entraba en la zona de aceptación no continuaba evaluando los triángulos y pasaba a la siguiente fase del entrenamiento. Cuando un candidato entraba en la zona de rechazo no continuaba con las pruebas de selección.

$$d_0 = \frac{\log \beta - \log(1 - \alpha) - x \log(1 - \rho_1) + x \log(1 - \rho_0)}{\log \rho_1 - \log \rho_0 - \log(1 - \rho_1) + \log(1 - \rho_0)} \quad \text{Ecuación 3-17}$$

$$d_1 = \frac{\log(1 - \beta) - \log \alpha - x \log(1 - \rho_1) + x \log(1 - \rho_0)}{\log \rho_1 - \log \rho_0 - \log(1 - \rho_1) + \log(1 - \rho_0)} \quad \text{Ecuación 3-18}$$

Donde:

$\alpha$ : probabilidad de identificar una diferencia cuando no existe.

$\beta$ : probabilidad de no reconocer una diferencia cuando existe.

$\rho_0$ : proporción esperada de decisiones correctas cuando las muestras son iguales.

$\rho_1$ : proporción esperada de decisiones correctas cuando la muestra diferente es detectada (no por adivinación) en la mitad del total de las pruebas

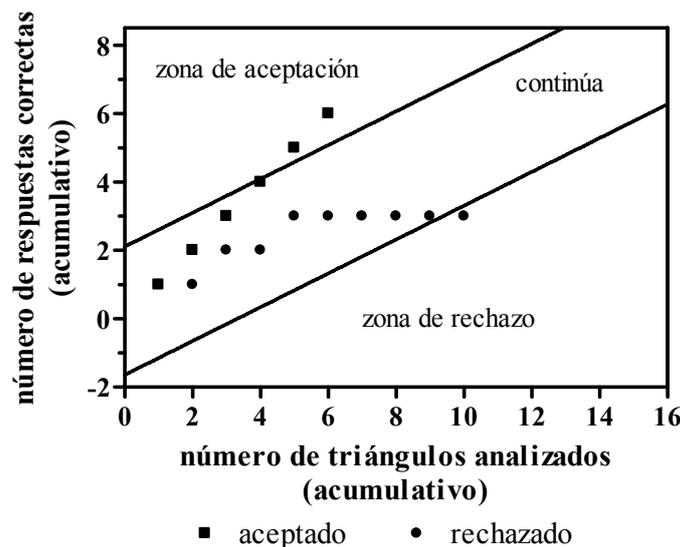


Figura 3-7: Ejemplo de prueba de triángulo secuencial para la selección de panelistas. Las rectas se representaron a partir de los siguientes valores:  $\alpha=0,05$ ;  $\beta=0,10$ ;  $\rho_0=0,33$  y  $\rho_1=0,66$  (Meilgaard y col., 1999).

### 3.10.1.1.d. Prueba de ordenamiento básico de textura

A fin de determinar la existencia de alguna anormalidad o deficiencia en la percepción de la textura durante la masticación se utilizó la prueba de ordenamiento de textura descrita por Civille y Szczesniak (1973). A cada candidato se le presentaron cuatro muestras (maní, zanahoria fresca, almendra y caramelo duro) en vasos de plásticos de 150 ml y en orden aleatorio y se les solicitó ordenarlas por su dureza (fuerza requerida para comprimir la muestra entre los molares) según la consigna de la Figura 3-8. Como neutralizante se utilizó agua mineral (Villa del Sur).

<p>Nombre y Apellido:.....</p> <p>Fecha: .....</p> <p>Usted ha recibido cuatro alimentos: almendra, zanahoria, maní y caramelo duro para evaluar su grado de dureza. Colocar cada muestra entre los molares y muerda; evalúe la fuerza requerida para comprimir la muestra.</p> <p>Una vez evaluadas todas las muestras ordénalas en forma decreciente según el grado de dureza.</p> <p>..... &gt; ..... &gt; ..... &gt; .....</p>
--

Figura 3-8: consigna para la prueba de ordenamiento de textura.

Análisis de los resultados: fueron seleccionados los evaluadores que fueron capaces de ordenar todas las muestras correctamente.

### 3.10.2. Entrenamiento

Para el entrenamiento y evaluación se utilizó la metodología descrita en las normas IRAM 200013 que describe el método de perfil general de textura. El entrenamiento de los evaluadores fue diseñado para familiarizar al individuo con los procedimientos de las pruebas o métodos sensoriales, aumentar su habilidad en detectar, identificar y describir los atributos texturales en sistemas complejos como son los alimentos y desarrollar la sensibilidad y

memoria para que pueda brindar mediciones sensoriales precisas, consistentes y reproducibles (Civille y Szczesniak, 1973).

El entrenamiento se llevó a cabo en cuatro etapas principales:

- a) Curso teórico.
- b) Presentación y reconocimiento de las escalas de referencia.
- c) Evaluación de escalas de referencia y muestras incógnitas.
- d) Desarrollo de una escala de crocancia con alimentos argentinos.

### **3.10.2.1. Curso teórico.**

El objetivo de este curso fue instruir a los evaluadores seleccionados en los conceptos de definición de textura, el método del perfil de textura fue utilizado para el entrenamiento y en las evaluaciones y las definiciones de las características texturales de las muestras. Se describieron las características de los alimentos implicadas en la percepción de la textura (mecánicas, geométricas y otras). En este punto se definieron los parámetros primarios y secundarios y los términos asociados. Se instruyó a los panelistas sobre el orden de aparición de las características texturales, durante la evaluación (visual, primera mordida, fase masticatoria temprana y tardía, deglución y sensación residual) (Szczesniak, 2002). Se presentaron las definiciones de los diferentes parámetros de textura desde el punto de vista sensorial e instrumental a fin de reforzar la comprensión de los mismos y desarrollar un vocabulario común estandarizado. Por último se presentó el método de perfil de textura instrumental para completar la información sobre las diferentes formas de evaluación de la textura.

### 3.10.2.2. Presentación y reconocimiento de las escalas de referencia

Se realizaron 5 sesiones de una hora de duración en mesa redonda en las que se presentaron las escalas de dureza (Tabla 3-2), cohesividad (Tabla 3-3), adhesividad al paladar (Tabla 3-4) y fracturabilidad (Tabla 3-5) (Hough y col., 1994). Las mismas se introdujeron individualmente en cada sesión de manera que los jueces se familiaricen con cada una y despejen dudas respecto de la evaluación. Se utilizó una escala semiestructurada con marcas de referencia cada un centímetro en todo el rango de la escala y debajo se colocó una escala no estructurada (de igual longitud a la anterior pero sin marcas de referencia) para habituar a los jueces con el procedimiento de marcado (Figura 3-9 a 3-12). El objetivo de esta etapa fue lograr que memoricen las posiciones de los alimentos de referencia y asocien la sensación percibida con el puntaje correspondiente en la escala.

Tabla 3-2: Escala de dureza

Valor	Producto	Marca	Muestra	Temp. °C
1.0	queso crema	Casancrem	1 cm <sup>3</sup>	5-10
2.5	clara de huevo	Hervida 5 minutos	0,75 cm <sup>3</sup>	amb
5.0	salchicha	Vienísima Tres Cruces	1 cm	amb
6.0	aceituna rellena sin el pimiento	Nucete	1	amb
7,0	queso procesado	Casanto-Mastellone	1 cm <sup>3</sup>	5-10
9.5	maní	Sin sal Kellogg's	4	amb
11.0	chocolate semiamargo	Suchard	1 cm	10-15
17.0	caramelo duro	Mentoplus Arcor	1	amb

amb: temperatura ambiente

Tabla 3-3: Escala de cohesividad (modificada)

Valor	Producto	Marca	muestra	Temp. °C
1,0	budín	Dorado sin frutas - Bagley	1 cm <sup>3</sup>	amb
3,0	caramelo de fruta	Gramallo	1 cm <sup>3</sup>	amb
5,0	queso procesado	Holanda-Sancor	1 cm <sup>3</sup>	5-10
8,0	caramelo de fruta	Frutifru - Arcor	1 cm <sup>3</sup>	amb
10,0	fruta seca	pasas de uva - MMM	1 cm <sup>3</sup>	amb
11,0	gomita frutal	Mogul	1 unidad	amb
12,0	caramelo de fruta	Sugus - Suchard	½ caramelo	amb
15,0	chicle	Beldent	1 unidad	amb

amb: temperatura ambiente

Tabla 3-4: Escala de adhesividad al paladar

Valor	Producto	Marca	muestra	Temp. °C
1.0	margarina	La Delicia-Molinos	1 cm <sup>3</sup>	5-10
3.0	mermelada de durazno	ARCOR	½ cucharada de te	amb
6.0	dulce de leche	Repostero La Serenísima	½ cucharada de te	5-10
8,0	queso untable	Dambo-Sancor	1 cm <sup>3</sup>	5-10
12.0	manteca de maní	BUN	½ cucharada de te	amb

amb: temperatura ambiente

Tabla 3-5: Escala de fracturabilidad.

Valor	Producto	Marca	Muestra	Temp. °C
1.0	budín	Bagley sin frutas	1 cm <sup>3</sup>	amb
2.5	tapa de alfajor	Fantoche	1 cm <sup>2</sup>	amb
5.0	galletita <i>cracker</i>	Criollitas - Bagley	1 cm <sup>2</sup>	amb
7,0	biscocho tostado dulce	Canale	1 cm <sup>2</sup>	amb
8.0	galletita	Melitas - Bagley	1 cm <sup>2</sup>	amb
10.0	tostadas	Crostines - Minitost	1 cm <sup>2</sup>	amb
12.0	pastilla de menta	DRF	1 unidad	amb
14.5	caramelo duro	Mentoplus Arcor	1 unidad	amb

amb: temperatura ambiente

Dureza

Definición física: Fuerza necesaria para obtener una dada deformación

Técnica:

para sólidos: coloque la muestra entre los molares, muerda en forma uniforme y evalúe la fuerza requerida para comprimirla

para semisólidos: coloque la muestra entre la lengua y el paladar y mida la fuerza requerida para comprimirla.

Entrenamiento: Evalúe los alimentos presentados en orden ascendente de dureza y ubíquelos en la escala inferior de acuerdo al valor indicado en cada uno. Repita estos pasos las veces que considere necesario hasta habituarse a reconocer las diferencias existentes entre los valores de referencia. Luego evalúe las muestras incógnitas.

Figura 3-9: Planilla de entrenamiento para la escala de dureza.

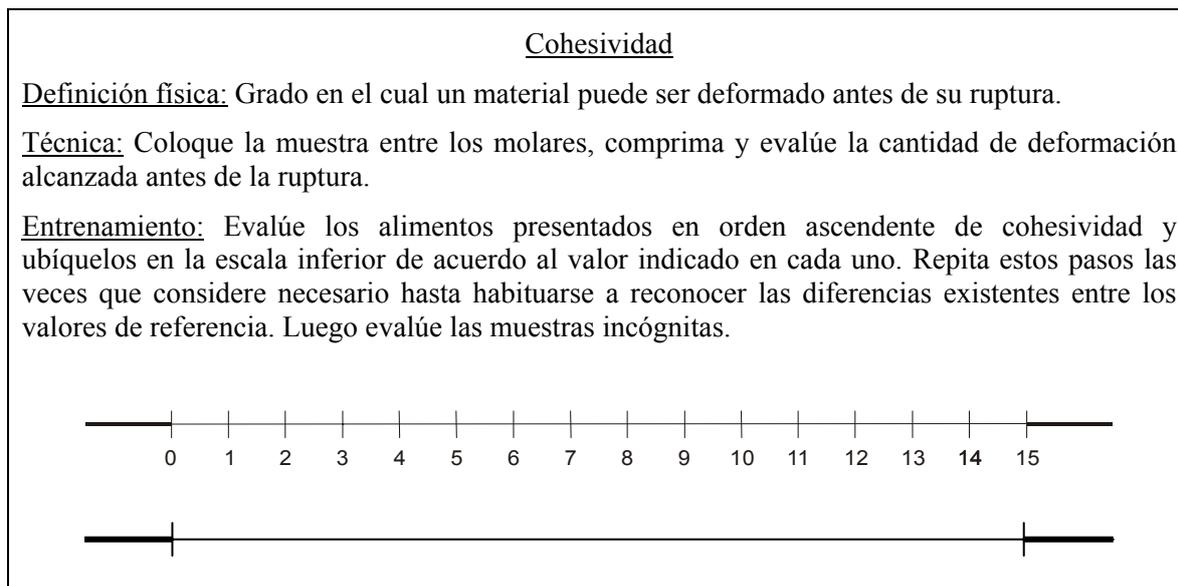


Figura 3-10: Planilla de entrenamiento para la escala de cohesividad.

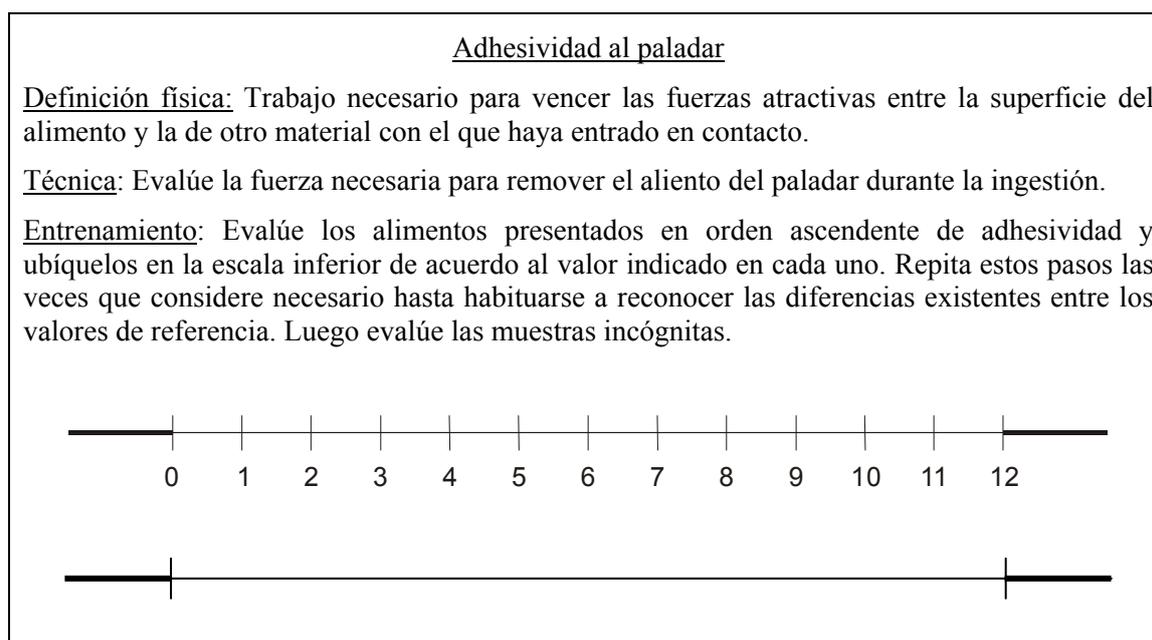


Figura 3-11: Planilla de entrenamiento para la escala de adhesividad al paladar.

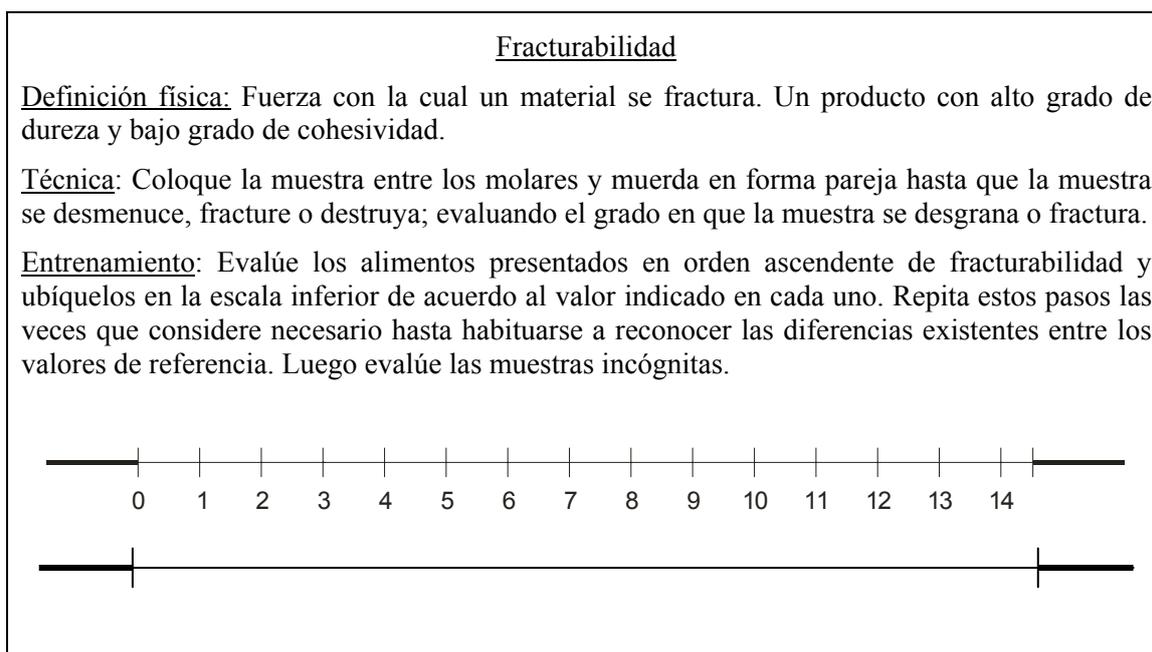


Figura 3-12: Planilla de entrenamiento para la escala de Fracturabilidad.

### 3.10.2.3. Evaluación de muestras de referencia y muestras incógnitas

Esta etapa del entrenamiento se realizó en cabinas individuales de evaluación sensorial. Los alimentos de referencia se presentaron en vasos plásticos color blanco de 150 ml con su valor correspondiente impreso en el frente de los mismos. Las muestras a evaluar se presentaron en vasos plásticos color blanco de 150 ml codificadas con números de tres dígitos al azar. Se utilizó agua mineral para el enjuague de la boca y galletitas sin sal como neutralizante.

Se realizaron 9 sesiones de entrenamiento en las que se evaluaron 2 escalas por sesión a fin de limitar la duración a una hora para evitar la fatiga de los evaluadores. Se utilizaron escalas semiestructuradas con tres anclas (Tabla 3-6). Se presentaron todas las muestras de referencia y además muestras incógnitas para evaluación con el objetivo de que los panelistas ubiquen correctamente las posiciones de las referencias y puedan relacionar la ubicación de las muestras evaluadas con dichas referencias. También se realizaron ejercicios en los cuales

los panelistas debían ordenar las muestras de referencia en orden creciente de la propiedad correspondiente.

El entrenamiento y evaluación de patrones de referencia de escala se alternó con la evaluación de muestras similares a las que luego se medirían con el propósito de familiarizar al panel con las características de las muestras a medir y también se midieron otros alimentos para monitorear el uso de las escalas. Se realizaron 4 sesiones de evaluación de dichas muestras utilizando escalas semiestructuradas con tres anclas y los alimentos correspondientes a las anclas como referencia. A continuación se detallan las muestras incógnitas que se utilizaron para cada escala:

**Dureza:** copos de maíz frescos Tres Arroyos, manzana fresca Grany Smith obtenida en el mercado local, tostada clásica con gluten Bimbo, pastilla de fruta Yapa, pasas de uva Sultanita Morena, galletita biscuit Tía Maruca, copos de maíz marca Tres Arroyos equilibrados a humedades relativas de 0,33 y 0,75, galletitas con avena y miel Melitas Bagley, galletitas Manon Terrabusi, aceitunas rellenas Nucete.

**Fracturabilidad:** copos de maíz frescos, manzana fresca, tostada clásica con gluten Bimbo, galletita biscuit Tía Maruca, copos de maíz marca 3 Arroyos equilibrados a humedades relativas de 0,33 y 0,75, galletitas con avena y miel Melitas Bagley, galletitas Manon Terrabusi.

**Cohesividad:** gomitas de fruta Mogul, gomitas de fruta Dori, pastilla de fruta Yapa, pasas de uva Sultanita Morena, peras deshidratadas Carrefour, bombón de fruta artesanal La Cabaña, queso pategrás Ilolay, caramelos masticables Sugus, anillos frutales Mogul.

**Adhesividad:** queso crema marca Tholem, queso crema Mendicrim, miel con fructosa, dulce de leche repostero La Serenísima.

El aprendizaje de las escalas finalizó cuando las evaluaciones de los resultados mediante análisis de varianza mostraron que el efecto de los jueces no era significativo.

### **3.10.2.4. Desarrollo de una escala de crocancia**

La crocancia es una propiedad muy importante en la aceptación de los alimentos tipo *snack* y especialmente en los copos de maíz. Hasta el momento no se encontró publicada en la bibliografía una escala con alimentos de disponibilidad en el país para medir esta propiedad, por lo tanto se decidió desarrollar una escala de crocancia para realizar las mediciones.

Para el desarrollo de la escala se realizaron sesiones en mesa redonda en las que se discutieron las definiciones y metodologías publicadas en la bibliografía para seleccionar la más adecuada a las muestras en estudio.

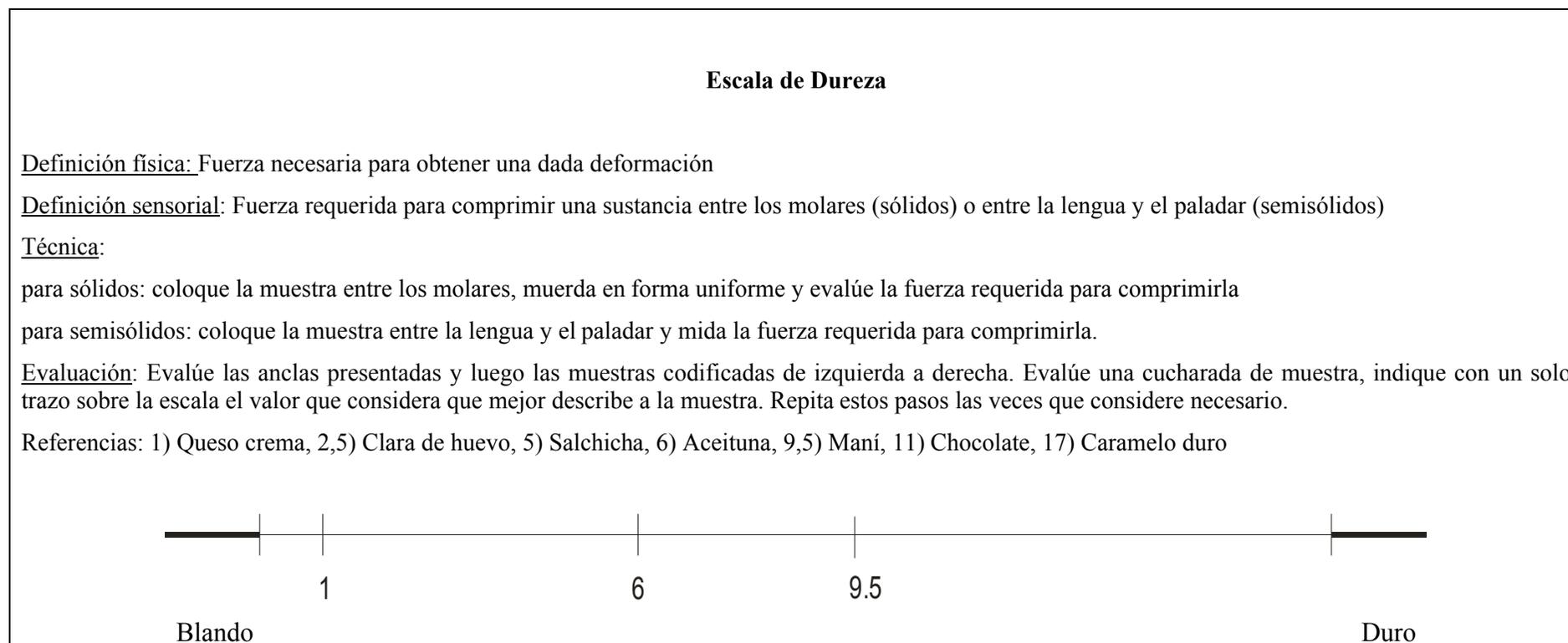
En las siguientes sesiones se presentaron los alimentos que constituyeron las referencias de la escala: barra de cereal Quaker de manzana, galletita cracker Club Social Clásica (Kraft Foods), copos de maíz Kellogg's (Kellogg's), cereal de desayuno Multi Cheerios (Nestlé), tostada Tostadita (Greguar). Estos alimentos se seleccionaron debido a su similitud con las muestras a evaluar y en base al tipo de alimentos utilizados en las escalas de medición de crocancia descritas en (Meilgaard y col., 1999). El siguiente paso fue el ordenamiento de las muestras en orden creciente de crocancia de acuerdo a la definición provista. Luego del ordenamiento el panel definió las distancias relativas entre las muestras sin definir una puntuación. Finalmente se definió la puntuación correspondiente a cada muestra de referencia.

### **3.10.3. Evaluación sensorial de copos de maíz**

Una vez superada la etapa de entrenamiento intensivo en las escalas de textura se midió la textura sensorial de los copos de maíz con diferente contenido de agua preparados según se

indicó en la sección 3.2. Las evaluaciones se realizaron en cabinas individuales. Las muestras se presentaron por duplicado en orden aleatorio en vasos plásticos de 150 ml codificados al azar y se utilizaron escalas semiestructuradas con anclas acompañadas de los alimentos de referencia correspondientes a dichas anclas. Todas las mediciones se realizaron sobre el mismo lote de copos de maíz a fin de evitar la variación introducida por el proceso de producción. Como neutralizante se utilizó agua mineral. Se midieron dos muestras por sesión y para cada muestra se evaluaron las propiedades de dureza, fracturabilidad, cohesividad y crocancia. En la Tabla 3-6 se detallan las planillas presentadas a los jueces para la medición de las muestras. Cada juez debía indicar con un trazo sobre la escala el lugar que adjudicaba a la muestra. Luego se midió la distancia desde el origen de la escala para obtener el valor asignado. Se agregaron descriptores en los extremos de cada escala y se enumeraron todos los alimentos de referencia para ayudar a la memoria de los evaluadores. En la consigna de evaluación se indicó si debía tomarse la muestra con una cuchara o utilizar solo un copo de maíz para realizar la medición. Esto se decidió en función de la mejor manera de percibir cada propiedad por consenso del panel en mesa redonda. Los resultados se compararon utilizando análisis de varianza para determinar la homogeneidad del panel mediante el software InfoStat versión 2009, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Tabla 3-6: Planillas de evaluación sensorial de copos de maíz.



### Escala de cohesividad

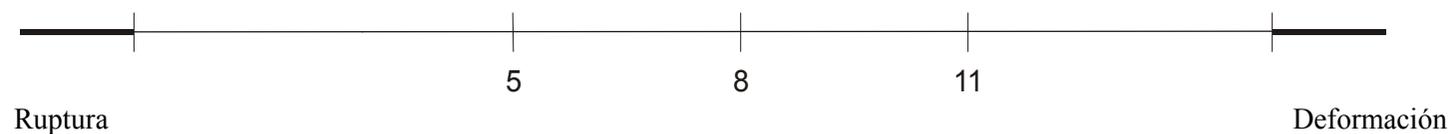
Definición física: Grado en el cual un material puede ser deformado antes de su ruptura.

Definición sensorial: Grado en el cual una sustancia es comprimida entre los dientes antes de su ruptura.

Técnica: Coloque la muestra entre los molares, comprima y evalúe la cantidad de deformación alcanzada antes de la ruptura.

Evaluación: Evalúe las anclas presentadas y luego las muestras codificadas de izquierda a derecha. La cantidad de muestra a utilizar es un copo. Indique con un solo trazo sobre la escala el valor que considera que mejor describe a la muestra. Repita estos pasos las veces que considere necesario.

Referencias: 1) Budín, 5) Queso holandá, 8) Caramelo frutifru, 11) Gomita mogul, 12) Caramelo sugus, 15) Chicle



### Escala de fracturabilidad

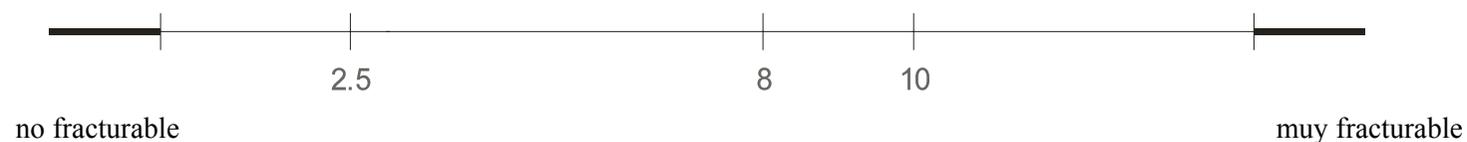
Definición física: Fuerza con la cual un material se fractura. Un producto con alto grado de dureza y bajo grado de cohesividad.

Definición sensorial: grado en el cual una muestra se desmenuza, rompe o fractura.

Técnica: Coloque la muestra (1 copo de maíz) entre los molares y muerda en forma pareja hasta que la muestra se desmenuce, fracture o destruya; evaluando la fuerza con la cual el alimento se aparta de los dientes.

Evaluación: Evalúe las anclas presentadas y luego las muestras codificadas de izquierda a derecha, indique con un solo trazo sobre la escala el valor que considera que mejor describe a la muestra. Repita estos pasos las veces que considere necesario.

Referencias: 1) Budín, 2,5) Tapita de alfajor, 5) Criollitas, 8) Melitas, 10) Tostada, 12) DRF, 14.5) Caramelo duro



### Escala de Crocancia

Definición sensorial: Un evento sonoro percibido como agudo, claro y rápido. Evaluado con los incisivos y los labios abiertos.

Técnica: coloque la muestra entre los incisivos, muerda el producto con los labios abiertos y evalúe la intensidad del sonido luego de la primera mordida utilizando en lo posible la misma fuerza para morder todos los alimentos de la escala

Evaluación: Evalúe las anclas presentadas y luego las muestras codificadas de izquierda a derecha, indique con un solo trazo sobre la escala el valor que considera que mejor describe a la muestra. Repita estos pasos las veces que considere necesario.

Referencias: 1) barra de cereal; 5) galletita; 10) cornflakes Kellogg's; 12) Cheereos; 17) tostada



Con el propósito de predecir la variación de las propiedades sensoriales estudiadas con el contenido de agua de los copos de maíz se realizó un modelado matemático a partir de los valores promedio de los atributos de dureza, fracturabilidad, crocancia y cohesividad en función del contenido de agua de las muestras. Para el atributo dureza se utilizó la ecuación lorentziana descrita en la sección de propiedades mecánicas (ecuación 3-15). Para los atributos fracturabilidad y crocancia se utilizó una modificación de la ecuación de Fermi que fue propuesta por Harris y Peleg (1996) para propiedades que presentan un salto en función del contenido de agua (ecuación 3-19). Para cohesividad se realizó una modificación de la ecuación de Fermi para seguir el sentido ascendente de la variación de la propiedad al aumentar el contenido de agua (ecuación 3-20).

$$y = \frac{y_0 + kx}{1 + e^{\frac{x-x_c}{b}}} \quad \text{Ecuación 3-19}$$

$$y = \frac{y_{\max}}{1 + e^{\frac{x_c-x}{b}}} \quad \text{Ecuación 3-20}$$

Donde:

$x$ : contenido de agua en g/100gMS

$y$ : valor de la propiedad sensorial

$y_0$ : valor de dicha propiedad extrapolado a contenido de agua cero

$y_{\max}$ : valor máximo cuando la modalidad sensorial aumenta con el ca.

$x_c$ : contenido de agua crítico donde:

$$y = \frac{y_0 + kx_c}{2} \text{ para la ecuación 3-19, e } y = \frac{y_{\max}}{2} \text{ para la ecuación 3-20}$$

$b$ : es un término relacionado con la forma del escalón que se produce alrededor de  $x_c$

Los datos se analizaron con el software GraphPad Prism versión 4 para Windows, (GraphPad Software, San Diego California USA). El ajuste de dichos modelos se ponderó como fue descrito previamente en la sección 3.9.

### **3.11. Análisis de color y apariencia mediante un sistema de visión computarizada**

#### **3.11.1. Medición del color**

Las mediciones de los parámetros de color se realizaron analizando las imágenes obtenidas a partir de un sistema de visión computarizada. Este sistema está compuesto por una cámara digital marca Canon modelo Power Shot A70 (Canon Inc., USA) conectada a una computadora equipada con el software de adquisición de imágenes Canon Zoombrowser (Canon Inc., USA). La muestra se colocó en una cabina de iluminación difusa cuyo interior está pintado de color gris Munsell 7. Se utilizó un iluminante estándar D65 (6500 K) el cual está diseñado para simular la luz diurna (Lawless y Heymann, 1998).

Las muestras se colocaron en un soporte, dispuestas en una capa de 2 cm de altura de manera que el color no fuera afectado por el fondo. Las imágenes se tomaron a 45° ya que este ángulo es el más apropiado para observar la reflexión difusa responsable del color (Francis y Clydesdale, 1975) (Figura 3-13). La distancia del centro de la muestra al objetivo fue de 36 cm. Se fijaron los siguientes parámetros para la toma de imágenes: velocidad de obturación 1/8 segundos, modo macro, enfoque automático, apertura de  $f=8$  y sensibilidad ISO 50. La resolución utilizada fue 2048 x 1536 puntos. Las fotografías se tomaron por triplicado, y se analizaron con el software Adobe PhotoShop v.7 (Adobe Systems). Este programa posee herramientas que permiten el tratamiento de muestras irregulares seleccionando solamente el área de interés para la medición y excluyendo el fondo y áreas con

defectos de iluminación o no representativas (sombras, etc.). Esto permitió obtener el color promedio del área analizada en alimentos con superficies heterogéneas (Pedreschi y col., 2007).



Figura 3-13: Sistema de visión computarizada para la adquisición de imágenes.

A partir de los histogramas de distribución de color de las áreas seleccionadas se obtuvieron los parámetros característicos de cada color y se convirtieron al sistema CIELAB mediante las ecuaciones descriptas por Yam y Papadakis (2004).

También se calculó el ángulo de tono ( $h'_{ab}$ ) mediante las ecuaciones 3-21 a 3-25, según fueron descriptas por Luo y col. (2001).

$$h'_{ab} = \tan^{-1} \left( \frac{b'}{a'} \right) \quad \text{Ecuación 3-21}$$

$$b' = b^* \quad \text{Ecuación 3-22}$$

$$a' = (1 + G)a^* \quad \text{Ecuación 3-23}$$

$$G = 0,5 \left( 1 - \sqrt{\frac{C_{ab}^{*7}}{C_{ab}^{*7} + 25^7}} \right) \quad \text{Ecuación 3-24}$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Ecuación 3-25}$$

Donde:

$L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ : son las coordenadas cromáticas en el espacio CIELAB.

Además se calculó la función de saturación métrica ( $S_{uv}$ ) la cual se ha reportado como adecuada para seguir el desarrollo de pardeamiento, para ello se utilizaron las ecuaciones 3-26 a 3-31 (Pereyra González y col., 1999).

$$S_{uv} = 13 \sqrt{(u' - u'_n)^2 + (v' - v'_n)^2} \quad \text{Ecuación 3-26}$$

$$u' = \frac{4X}{(X + 15Y + 3Z)} \quad \text{Ecuación 3-27}$$

$$v' = \frac{9Y}{(X + 15Y + 3Z)} \quad \text{Ecuación 3-28}$$

Las relaciones entre las coordenadas cromáticas X, Y y Z y  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  se establecieron según las siguientes ecuaciones:

$$L^*_{ab} = 116 \left( \frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} - 16 \quad \text{Ecuación 3-29}$$

$$a^* = 500 \left[ \left( \frac{X}{X_n} \right)^{1/3} - \left( \frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} \right] \quad \text{Ecuación 3-30}$$

$$b^* = 200 \left[ \left( \frac{Y}{Y_n} \right)^{1/3} - \left( \frac{Z}{Z_n} \right)^{1/3} \right] \quad \text{Ecuación 3-31}$$

Donde:

$u'_n = 0,1978$ ;  $v'_n = 0,4684$ ;  $X_n = 95,02$ ;  $Y_n = 100$  y  $Z_n = 108,82$ , son los valores correspondientes al iluminante D65 y a un ángulo de observador de 2°.

### **3.11.2. Calibración del sistema de adquisición de imágenes**

El sistema de visión computarizada se calibró utilizando como referencia un espectrocolorímetro Minolta CM-508d (Minolta Co. Ltd., Japón). Se utilizaron cincuenta tarjetas de cartón de diferentes colores, sin brillo. El rango de color de los patrones se eligió de manera que sus valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  incluyeron a los obtenidos a partir de las muestras. Dichas tarjetas se midieron con el espectrocolorímetro utilizando las siguientes condiciones: ángulo de observador: 2°, iluminante: D65, componente especular excluida. Se utilizó un espesor suficiente para que la medición no fuera afectada por el fondo. Además se fotografiaron las tarjetas en la cabina de iluminación estandarizada utilizando un iluminante D65. Para ajustar el balance de grises se utilizó una tarjeta gris estándar marca Kodak con 18 % de reflectancia que equivale a un valor del  $L^*=50$  como fuera descrito por Briones y Aguilera (2005). Se determinó el color por análisis de imágenes como fuera descrito en la sección 3.11.1 y luego se calibró el sistema corrigiendo los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  mediante una regresión lineal para que coincidan con los del espectrocolorímetro. Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados fueron promediados.

### **3.11.3. Medición de la translucidez.**

Para estudiar el efecto del fondo sobre el color de las muestras, estas se colocaron dispuestas en una monocapa sobre fondo blanco y fondo negro. Se tomaron imágenes y se calculó el valor de  $L^*$  para cada fondo siguiendo la técnica de análisis descrita anteriormente en la sección 3.11.1. A partir de estos datos obtenidos sobre fondos blanco y negro se calculó la opacidad de las muestras como la relación entre el valor de luminosidad obtenido con fondo

negro y con fondo blanco según la ecuación 3-32. Además se calcularon los parámetros K y S de la teoría de Kubelka-Munk definidos por las ecuaciones 3-33 a 3-40.

$$Opacidad = \frac{L^*_{fondo\ negro}}{L^*_{fondo\ blanco}} \quad \text{Ecuación 3-32}$$

$$\frac{K}{S} = k \times C \quad \text{Ecuación 3-33}$$

Las ecuaciones usadas para calcular la relación K/S son las siguientes:

$$a = \frac{1}{2} \left[ R + \left( \frac{R_0 - R + R_g}{R_0 \times R_g} \right) \right] \quad \text{Ecuación 3-34}$$

$$b = (a^2 - 1)^{1/2} \quad \text{Ecuación 3-35}$$

$$R_\infty = a - b \quad \text{Ecuación 3-36}$$

$$K / S = \frac{(1 - R_\infty)^2}{2 \times R_\infty} \quad \text{Ecuación 3-37}$$

$$S = \frac{1}{b} \operatorname{arctgh} \left[ \frac{(1 - a \times R_0)}{b \times R_0} \right] \quad \text{Ecuación 3-38}$$

$$K = S(a - 1) \quad \text{Ecuación 3-39}$$

$$T_i = e^{-K} \quad \text{Ecuación 3-40}$$

Donde:

S: es el coeficiente de dispersión

K: es el coeficiente de atenuación

C: es la concentración de pigmento

k: es una constante

R: es la reflectancia de la muestra con fondo blanco

R<sub>0</sub>: es la reflectancia de la muestra con fondo negro

$R_g$ : es la reflectancia de la placa blanca

$R_\infty$ : es la reflectividad a un espesor infinito

$T_i$ : es la transmitancia interna de la muestra

$R$ : puede estar representada por cualquiera de los valores triestímulo, X, Y, Z o bien por  $L^*$ ,  $a^*$  o  $b^*$ .

### 3.12. Medición de distancias por análisis de imágenes.

Con el objetivo de medir el tamaño de las estructuras observadas en las imágenes de microscopía electrónica, como por ejemplo gránulos de almidón, se realizaron mediciones de distancias o áreas mediante el software de licencia libre IMAGE J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Los valores de distancia obtenidos en *pixeles* fueron calibrados de forma tal de obtener los parámetros de interés en centímetros, para lo cual se utilizó un patrón de magnitud conocida incluido en la imagen y mediante la secuencia de comandos *analyze*, *calibrate* se trazó una línea entre los límites de la referencia y de esta manera se transformó la medida en pixeles en una en distancia (por ejemplo 100  $\mu\text{m}$ ). En el caso de las micrografías se utilizó como patrón la línea de escala que se imprime automáticamente en cada una. Para realizar mediciones sobre las micrografías se analizaron al menos 30 elementos en cada sistema para realizar los cálculos y los resultados se promediaron.

### 3.13. Microscopía electrónica de barrido ambiental

Se analizó la microestructura de las muestras provenientes de las diferentes etapas del proceso de producción industrial de copos de maíz por microscopía electrónica de barrido. Se utilizó un microscopio Philips XL 30 FEG ESEM equipado con sistema de espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDAX). En el modo ambiental la temperatura de la cámara fue de 20 °C, el vacío de 0,9 Torr y la energía del haz de electrones fue de 20 Kv. En estas condiciones las muestras pudieron ser analizadas sin preparación alguna. Para lograr cortes de

las muestras de mayor humedad como los *grits* cocidos y las hojuelas sin tostar se utilizó nitrógeno líquido para congelarlas y luego se fracturaron.

### **3.14. Microscopía de luz polarizada**

Con el objetivo de observar la pérdida de cristalinidad de los gránulos de almidón que se produjo durante la cocción en las muestras de sistemas modelo cocidos en el laboratorio se observaron al microscopio bajo luz polarizada y se colocó un segundo polarizador (analizador) en el objetivo para observar las estructuras birrefringentes. Las muestras se conservaron liofilizadas hasta su análisis. Las muestras finamente molidas se suspendieron en agua destilada (al 0,1% p/v) y se observaron en un microscopio Zeiss Axioskop 2 (Carl Zeiss AG, Jena, Alemania). Las imágenes se tomaron mediante una cámara digital (Zeiss) incorporada al microscopio y se procesaron con el software Axio Vision.

### **3.15. Medición de espesor de las muestras**

El espesor de las muestras se midió utilizando micrómetro Teclock (Teclock Corporation, Japón) con una precisión de 0,01 mm. Debido a la irregularidad de las muestras de *grits* crudos y cocidos, laminados y copos de maíz, se midieron 30 muestras realizando 6 mediciones en cada una totalizando 180 mediciones de cada uno de los cuatro tipos de muestras. Luego se calculó el promedio y la desviación estándar.

### **3.16. Contenido de furfurales por HPLC.**

El contenido de furfurales se determinó por cromatografía líquida de alta presión en fase reversa (RP-HPLC) según el método descrito por Ait Aneur, (2007). Las muestras fueron finamente molidas y se realizó una extracción en agua con el agregado de ácido tricloroacético (calidad analítica, Merck) en proporción 40 %p/v para precipitar las proteínas.

La mezcla se agitó en vórtex y luego se centrifugó a 3000 xg durante 30 minutos, se llevó a un volumen final de 10 ml con agua destilada. La extracción se realizó por duplicado. Luego los extractos se filtraron utilizando filtros de 0,2  $\mu\text{m}$  directamente a viales de 2 ml y se precintaron. Los furfurales se separaron en un cromatógrafo Waters modelo Alliance (Waters Corporation, Milford Massachussets, USA) equipado con bomba cuaternaria, detector UV-Vis de arreglo de diodos, horno de columna termostaticado y muestreador automático. Se utilizó una columna C<sub>18</sub> Xbridge (Waters) de 2,1 mm de diámetro interno y 100 mm de longitud con un diámetro de partícula de 3,5  $\mu\text{m}$ . La temperatura de la columna se mantuvo a 25 °C. Se utilizó una fase móvil compuesta por acetonitrilo (ACN) y agua (grado HPLC, Merck) en una relación ACN-H<sub>2</sub>O 5%-95% respectivamente a un flujo de 0,2 ml/min. El volumen de inyectado fue de 10  $\mu\text{l}$ . Los furfurales se monitorearon a 284 nm y se identificaron por comparación del tiempo de retención con estándares de furfural, metilfurfural y 5-hidroximetilfurfural (Sigma-Aldrich, Argentina) solubilizados en fase móvil. Se construyó una curva de calibración utilizando diferentes concentraciones de los estándares mencionados (Figura 3-14). Las muestras se analizaron por triplicado, se promediaron los resultados y se expresaron en  $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$  en base seca.

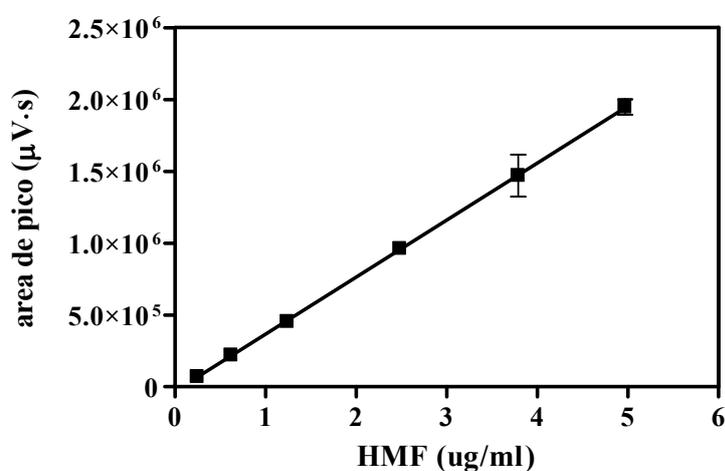


Figura 3-14: Curva de calibración de hidroximetilfurfural por HPLC.

### 3.17. Extracción y cuantificación de compuestos fluorescentes

Durante el desarrollo de la reacción de Maillard se forman compuestos fluorescentes (Baisier y Labuza, 2002). En la matriz del alimento el total de productos fluorescentes está compuesto por aquellos que están libres y por los que están ligados a proteínas (Delgado-Andrade y col., 2006). Para determinar el total de compuestos fluorescentes presentes, las muestras se sometieron a una hidrólisis con pronasa E de *Streptomyces griseus* (Sigma-Aldrich), ~4 unidades/mg sólido (una unidad hidroliza la caseína para producir un color equivalente a 1,0  $\mu\text{mol}$  (181  $\mu\text{g}$ ) de tirosina por minuto a pH 7,5 a 37 °C medido por método de Folin-Ciocalteu. La pronasa es una mezcla de al menos tres actividades proteolíticas que incluyen una serin proteasa extracelular (Rufián-Henares y col., 2006).

Se utilizó una concentración de enzima de 0,375 mg/ml y 125 mg de muestra finamente molida en un volumen final de 5 ml de *buffer* borato de sodio 0,1 M de pH 8,2 (Delgado-Andrade y col., 2008). Las muestras se incubaron a 40 °C durante 48 h con agitación continua por duplicado. Luego se separó el sobrenadante por centrifugación a 12000 xg durante 15 minutos a 4 °C y se filtró en filtros de 0,2  $\mu\text{m}$  (Agilent Technologies). Previo a la medición de fluorescencia los extractos se diluyeron con buffer fosfato de sodio 0,25M a pH 7 en forma tal que la absorbancia fuera menor que 0,1 a la longitud de onda ( $\lambda$ ) de excitación utilizada (340 nm). Esto es para evitar el efecto de filtro interno, ya que algunos pigmentos absorben a la  $\lambda$  de excitación de los compuestos fluorescentes (Skoog, 2001). Las mediciones de los espectros de emisión de fluorescencia se realizaron en un espectrofluorómetro (Quanta Master, PTI – Photon Technology International, Brunswick, NJ, USA). Las mediciones se realizaron en celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Se utilizó un ancho de banda de excitación de 2 nm y de emisión de 4 nm. Se obtuvieron los espectros de emisión en el rango de 300 a 600 nm y se corrigieron por la respuesta del detector en función de la longitud de onda.

Para cuantificar los compuestos fluorescentes se los expresó en equivalentes de quinina. El sulfato de quinina disuelto en medio  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1 N (P. A. Merck) presenta un máximo de emisión a 540 nm cuando se lo irradia entre 280 y 380 nm (Matiacevich, 2008). En la Figura 3-15 se muestra la curva de calibración obtenida.

La intensidad máxima obtenida del espectro de emisión fue calculada aplicando la ecuación 3-41 (Matiacevich y Buera, 2006).

$$UF = \frac{(UF_x - b) \cdot d \cdot v}{m \cdot g} \quad \text{Ecuación 3-41}$$

Donde:

$UF$ : es la intensidad de fluorescencia medida en  $\mu\text{g}$  de quinina/gMS,

$UF_x$ : es la medida de intensidad de fluorescencia obtenida para cada fracción soluble, corregida por el factor de sensibilidad del instrumento a la  $\lambda$  de medición,

$d$ : es el factor de dilución,

$b$ : es ordenada al origen de la curva de calibración realizada con sulfato de quinina,

$m$ : es la pendiente de dicha la curva de calibración,

$v$ : es el volumen de extracción

$g$ : es la masa seca de la muestra utilizada en la extracción.

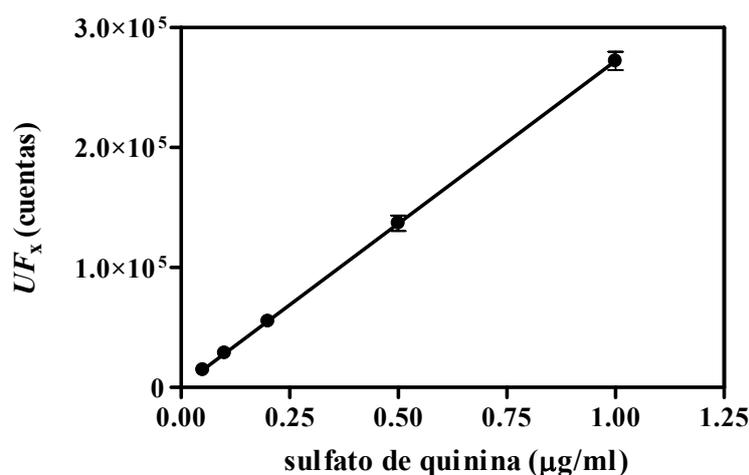


Figura 3-15: Curva de calibración para la cuantificación de fluorescencia como concentración de quinina. El estándar de quinina se preparó en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1N y se realizaron diluciones adecuadas para obtener intensidades de fluorescencia en el mismo rango de las muestras.  $R^2$ : 0.9999.

### **3.18. Generación de pigmentos pardos**

Para medir el grado de desarrollo de pigmentos producidos por la reacción de Maillard se evaluó el color pardo de los extractos, que se prepararon según el método descrito en el punto anterior, midiendo la absorbancia a 420 nm (Kato y col., 1986; Baisier y Labuza, 1992). Los resultados se corrigieron por la masa seca de muestra utilizada. Para ello se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS Shimatzu 1620 equipado con cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

### **3.19. Fluorescencia de superficie**

Las muestras molidas se conservaron liofilizadas hasta su utilización. Para evitar los efectos producidos por las irregularidades de la superficie, las muestras se comprimieron en pastillas de 1 cm de diámetro y 3 mm de espesor utilizando una prensa hidráulica (Paul Weber) a una presión de 100 Kg·cm<sup>-2</sup>. Se aplicó vacío durante la compresión para mejorar la compactación de las muestras. Se determinó el espectro de fluorescencia de superficie utilizando un espectrofluorímetro Ocean Optics con un filtro de excitación de 340nm (Edmund). Esta longitud de onda ha sido usada ampliamente en la determinación de fluorescencia de compuestos de Maillard (Ferrer y col., 2000; Matiacevich y col., 2005). El haz de excitación se hizo incidir sobre la superficie con un ángulo de 45° (Figura 3-16) y se capturó la emisión por retrodispersión mediante una fibra óptica R400-7-VIS/NIR (Ocean Optics). Esta geometría evita los efectos de reflexión directa del haz de excitación y la reflexión generada por el color de la muestra. Las medidas se realizaron por triplicado y se procesaron con el software OOIBase 32 (Ocean Optics).

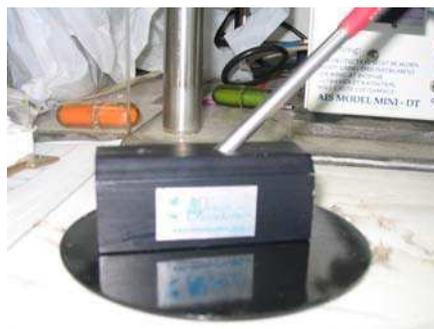


Figura 3-16: Dispositivo de medición de fluorescencia de superficie con geometría de excitación y medición de la emisión a 45°.

### 3.20. Contenido de carboximetilisina

El contenido de CML fue evaluado mediante una técnica de enzimoimmunoanálisis (ELISA) competitivo comercial (MicroCoat Biotechnologie GmbH, Bernried, Germany) (Birlouez-Aragón y col., 2005). El ensayo se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante. En esta técnica se utilizaron microplacas recubiertas con estreptavidina a las que se une un conjugado de biotina-BSA-CML. La CML de la muestra compite con la CML fijada en las microplacas por su unión a un anticuerpo monoclonal de ratón anti-CML (4G9; Alteon Inc., Ramsey, NJ, USA) conjugado con peroxidada del rábano picante. El color se desarrolló utilizando ABTS (2,2'-azino-di-[ácido 3-etilbenzotiazolin-sulfónico]) y peróxido de hidrógeno y se leyó a 405 nm. La concentración de CML se determinó mediante una curva de calibración con 6-(Ncarboximetilamino) caproato como la que se muestra en la Figura 3-17. La sensibilidad de la técnica fue de 5 ng CML/mL, con una variación inter ensayo menor al 5 % e intraensayo menor al 4 %. Las muestras se analizaron por duplicado y los resultados se expresaron como número de epitopes de CML en ng/mg de proteínas.

Previo a la realización del ensayo de ELISA las muestras fueron sometidas a hidrólisis con proteinasa K (Roche Applied Science) para descubrir los epitopes ocultos de acuerdo a

las instrucciones del ensayo. Las muestras se incubaron con la enzima durante dos horas a 37 °C y luego se inactivó a 80 °C durante 10 minutos.

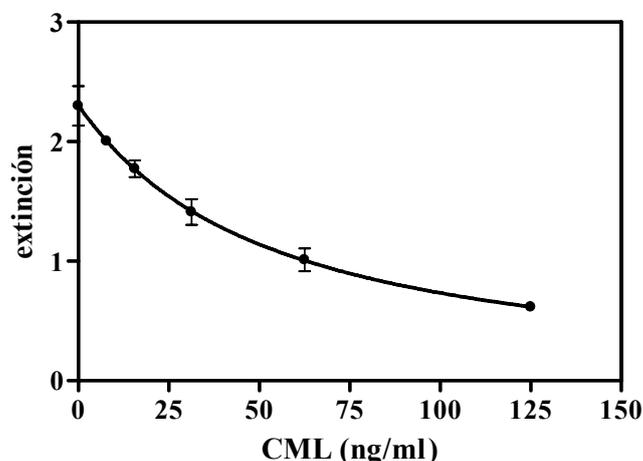


Figura 3-17: curva de calibración de CML. Se indican los promedios de los replicados. Las barras de error representan la 95 % confianza.

### 3.21. Determinación de compuestos volátiles durante el almacenamiento

Para determinar la evolución de los compuestos volátiles provenientes de la reacción de Maillard y de la oxidación de ácidos grasos se realizó un experimento de almacenamiento utilizando copos de maíz provistos por el fabricante local. Se utilizaron dos tipos de copos elaborados en la misma planta y bajo el mismo procedimiento cuya única diferencia fue el agregado o no de extracto de malta durante la etapa de formulación.

Los copos se retiraron de su envase y se almacenaron protegidos de la humedad y expuestos a dos tipos de radiación, luz natural y luz ultravioleta generada con un tubo marca Philips de 254 nm y con una potencia radiante de  $1,69 \pm 0,03 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ . La potencia de la luz UV se midió con un radiómetro modelo 13PEM001 (Melles Griot). Se tomaron muestras a los 60 y 120 días de almacenamiento. Como control se utilizó una muestra del mismo lote para cada formulación con menos de 20 días de almacenamiento en su envase original.

Luego del almacenamiento las muestras fueron molidas y los compuestos volátiles se analizaron por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas.

Para el muestreo y concentración de los volátiles se utilizó un sistema de purga y trampa marca Tekmar modelo LSC2000 – (Type k trap o Tyoe J trap) (Teledyne Tekmar, Ohio, USA). En este sistema de purga y trampa los compuestos volátiles se extrajeron de la muestra mediante calentamiento y haciendo pasar una corriente de gas inerte para luego concentrarlos en un adsorbente. Luego los compuestos se liberaron del adsorbente por calentamiento y fueron inyectados en el cromatógrafo gaseoso para su análisis.

Las muestras se pesaron y se colocaron en viales de 10 ml con tapa a rosca y contratapa de teflón. Los parámetros del sistema para la purga fueron 40 °C y 8 minutos, como gas portador se utilizó helio. La desorción se realizó a 225 °C durante 8 minutos.

Se utilizó un cromatógrafo gaseoso marca Hellwet Packard modelo HP 5890 series II equipado con un espectrómetro de masas HP 5972. El equipo se operó mediante el software HP Chemstation G1701BA versión B.01.00 capaz de adquirir cromatogramas graficando abundancia de iones en función de tiempo (EICP: Extracted Ion Current Profile) e integrar las señales. Las muestras se separaron en una columna capilar RTX-624 (RESTEX – 60 m x 0,25 mm x 1,4 micrones). Las condiciones de la corrida fueron las siguientes: split vent: 20 mL/m, temperatura del inyector: 250 °C, temperatura del detector: 250 °C. Horno: temperatura inicial: 50 °C, tiempo inicial: 2 m, rampa: 10 °C/min, temperatura final: 230 °C, tiempo final: 8 m. Detector: barrido de 35 a 350 uma, usando 70 eV de energía de ionización en el modo de impacto electrónico. Para la comparación de los espectros de masa se utilizó la librería EPA/NIST/NIH Mass Spectral Library Versión 1.7a.

Se utilizó fluorobenceno como estándar interno. La cuantificación se realizó corrigiendo la señal (área de pico) del analito ( $A$ ) por la del estándar interno ( $E_i$ ) y la masa de la muestra

utilizada ( $m$ ) para obtener el área de pico corregida ( $A_c$ ) según la ecuación 3-42. Los resultados de los replicados fueron promediados.

$$A_c = \frac{A}{Ei m}$$

Ecuación 3-42

# **4. Resultados y discusión**

## 4.1. Caracterización de las propiedades físicas y aspectos supramoleculares del material.

### 4.1.1. Composición de las muestras utilizadas

En la Tabla 4-1 se detalla la composición de los copos de maíz comunes y azucarados provistos por el fabricante local según lo informado por la misma empresa. Estas muestras fueron utilizadas para la caracterización de las propiedades físicas y aspectos supramoleculares y el estudio sensorial de la textura.

Tabla 4-1: Composición de copos de maíz según fue provista por el fabricante. Los valores están expresados en cantidad en 100 g de muestra.

	Copos de maíz comunes	Copos de maíz azucarados
Azúcares totales	6,1 g	36 g
Proteínas	6,6 g	5,2 g
Grasas totales, de las cuales	1,0 g	0,7 g
Grasas saturadas	0g	0,2 g
Grasas trans	0g	0 g
Grasas monoinsaturadas	0,3 g	0,2 g
Grasas poliinsaturadas	0,5 g	0,3 g
Fibra Alimentaria	3,2 g	2,6 g

En la Tabla 4-2 se muestran los resultados del estudio de la composición proximal de las muestras tomadas en las distintas etapas de la producción industrial de copos de maíz: materia prima o *grit* (G), etapa de cocción y temperado donde se obtiene el *grit* cocido (GC); etapa de laminado que produce la hojuela (GL) y finalmente luego del tostado se obtiene el

copo de maíz (CM). Debido a las importantes diferencias en el contenido de agua de estas muestras los resultados se expresaron en g/100g materia seca (%bs) para su comparación. El incremento en el contenido de cenizas en el *grit* cocido es atribuible al agregado de sal en el jarabe de cocción.

Tabla 4-2: Composición de las muestras tomadas en las distintas etapas del proceso industrial. Los resultados están expresados en porcentaje sobre la materia seca (% bs). Media (desviación estándar).

<b>Muestra</b>	<b>proteínas</b>	<b>lípidos totales</b>	<b>cenizas</b>	<b>amilosa</b>	<b>almidón</b>	<b>contenido de agua</b>
<i>grit</i>	8,0 (0,3)	0,9 (0,05)	0,2 (0,02)	27,1 (0,6)	87 (0,9)	13 (0,5)
<i>grit</i> cocido	7,6 (0,3)	0,8 (0,05)	2,3 (0,2)	24,5 (0,1)	86 (1,5)	29 (0,6)
laminado	7,6 (0,4)	0,8 (0,05)	2,3 (0,2)	24,7 (0,2)	87 (1,5)	25 (0,5)
copo de maíz	7,5 (0,3)	0,7 (0,05)	2,1 (0,2)	25,7 (0,2)	87 (1,5)	4 (0,2)

La composición del *grit* depende de la variedad de maíz utilizada, como ya se ha mencionado, los maíces de tipo “flint” o duro son preferidos por la industria de los laminados (Eyherabide y col., 2004). La composición proximal del *grit* coincide con los valores reportados para la fracción del endosperma de maíz (Watson, 1987; Robutti y col., 2000). La composición de los copos de maíz (Tabla 4-2) es coincidente con los valores encontrados para copos y otros productos alimenticios de maíz (Hlebowicz y col., 2007; Padovani y col., 2007; Sumithra y Bhattacharya, 2008).

#### **4.1.2. Sorción de agua:**

En la Figura 4-1 (A-D) se muestran las isotermas de sorción de agua a 25 °C para las muestras tomadas en diferentes etapas del proceso de fabricación de los copos de maíz. Se estudiaron copos de maíz comunes (CMC) y azucarados (CMA), ambos ampliamente

comercializados en el mercado nacional. Los valores de contenido de agua se expresaron en %bs. Las muestras presentaron una isoterma de sorción de forma sigmoidea que se clasifica como de tipo II según la definición de Brunauer y col. (1940) y que es característica de la mayoría de los productos biológicos y componentes alimentarios. Los resultados obtenidos son coincidentes con los publicados por Sauvageot y Blond (1991) para copos de maíz. Se puede observar que para un dado valor de actividad de agua, la isoterma de los *grits* presenta mayor contenido de agua que las muestras provenientes de las distintas etapas del proceso de elaboración de los copos de maíz. Esto puede explicarse en base a las modificaciones que sufren las proteínas durante el tratamiento térmico, que les limita su capacidad de sorción. El *grit* gelatinizado (B) y el laminado (C) presentaron isotermas similares y en ambos casos se acentuó la forma sigmoidea si se lo compara con el *grit* crudo. La isoterma del copo de maíz (D) presentó una forma menos sigmoidea que las anteriores y contenidos de agua un poco más bajos para la misma humedad relativa en la zona de actividad de agua ( $a_w$ ) menor que 0,7. Teniendo en cuenta que el proceso de producción de copos de maíz implica procesos térmicos que producen transformaciones importantes en la materia prima (como se verá mas

*grit*

*grit* laminado

copo de maíz

fondo blanco

eden deberse a fenómenos físicos (cambios estructurales) o químicos (modificación molecular de las proteínas o el almidón). Las diferencias en la sorción de agua para los distintos tipos de muestras son menores a altas actividades de agua.

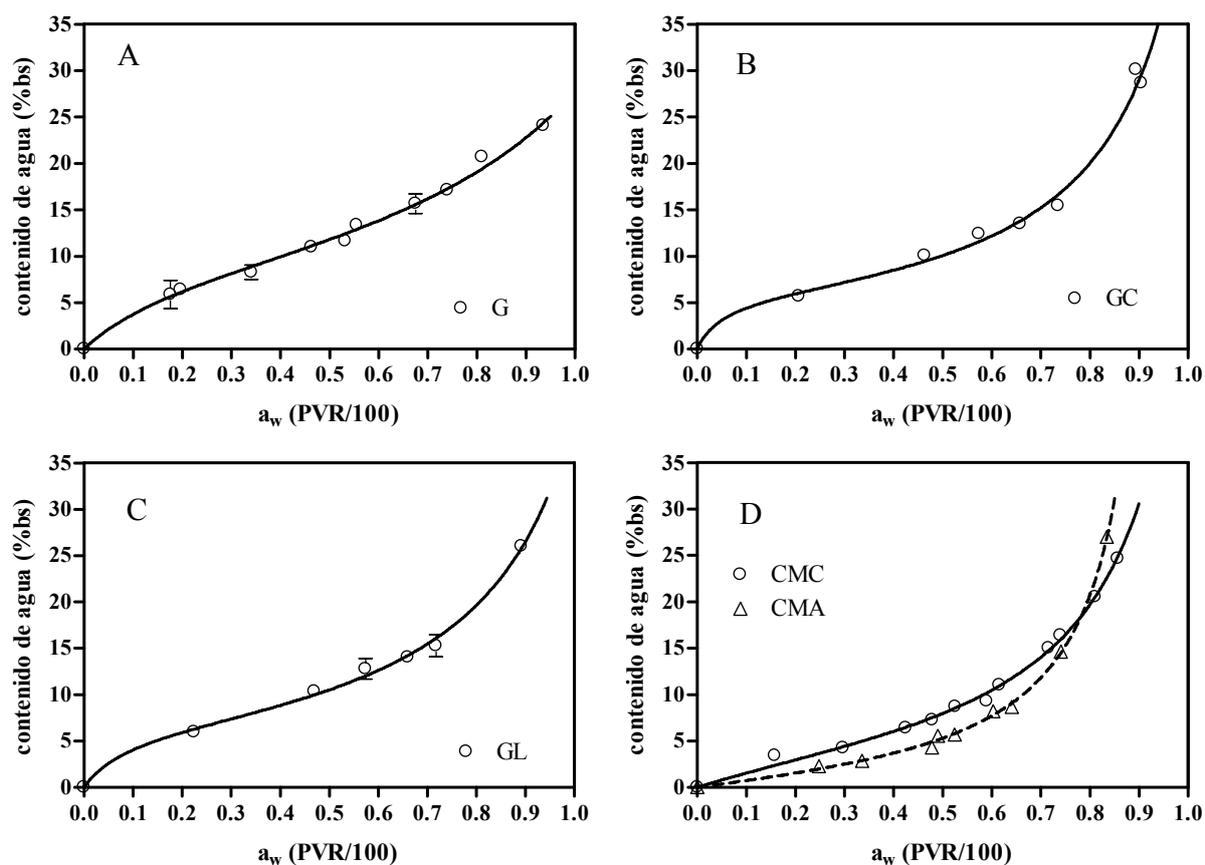


Figura 4-1: Isothermas de sorción de agua a 25 °C para las diferentes etapas de proceso: *grit* (G), *grit* cocido (GC), laminado (GL) y copo de maíz común (CMC) y azucarado (CMA). Las barras de error representan la desviación estándar (en los casos en que no son visibles se encuentran ocultas por el símbolo).

Los copos azucarados presentaron valores de contenido de agua menores a igual humedad relativa (Figura 4-1 D), en comparación con los copos no azucarados. Esto puede atribuirse a la presencia de sacarosa cristalina depositada en la superficie de los copos azucarados: los cristales de sacarosa contribuyen a la masa total del copo pero adsorben una cantidad muy baja de agua hasta que la humedad relativa alcanza valores de 80 % en donde ocurre su disolución (Karel, 1975). Un ejemplo de la isoterma de sorción de sacarosa cristalina puede verse en la Figura 4-2, en la que se compara además la isoterma para sacarosa amorfa. La sacarosa cristalina presenta una isoterma como la curva (1) en la que se observa muy baja adsorción de agua hasta que ocurre la disolución del azúcar a una  $a_w$  cercana a 0,85.

La sacarosa amorfa, por otro lado adsorbe más agua que la cristalina a bajas  $a_w$  (curva (2) en la Figura 4-2), y luego cuando cristaliza se comporta según la curva (1).

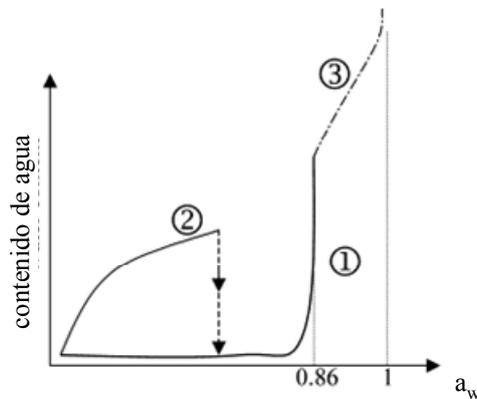


Figura 4-2: Forma general de las isotermas de sorción de sacarosa cristalina (1), amorfa (2) y su solución saturada (3) (Mathlouthi y Rogé, 2003).

La ecuación de GAB permite describir matemáticamente la dependencia del contenido de agua en función la actividad de agua en todo el rango estudiado (Van den Berg y Bruin, 1981). En la Tabla 4-3 se detallan los valores de ajuste para los parámetros de la ecuación de GAB. Los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) variaron entre 0,988 y 0,996 y los porcentajes de desviación de los valores de contenido de agua predichos respecto de los calculados fueron en general menores o iguales que 5 %, excepto para los CMA que fue de 10 %, lo cual refleja el buen valor predictivo de la ecuación empleada. El valor de contenido de agua límite de hidratación ( $m_0$ ), fue más alto para el *grit* (10 %bs) que para las muestras procesadas, las cuales presentaron valores de  $m_0$  de 6 a 6,8 %bs para las muestras sin agregado de azúcar y de 3,9 %bs para los CMA. En concordancia con esto, los valores de área superficial de adsorción para el agua ( $S_w$ ), calculados a partir de la humedad de monocapa, fueron más bajos para los copos azucarados (debido al efecto del azúcar cristalino que no adsorbe agua, como se explicara anteriormente, y los más altos para los *grits* por la presencia de proteínas nativas (Tabla 4-3). Los valores obtenidos para la constante  $k$  fueron cercanos a la unidad como

ocurre en muchos alimentos (Timmermann, 2003) excepto para el *grit* que presentó el valor más bajo (0,663).

Tabla 4-3: Parámetros de ajuste de la ecuación GAB para las isothermas de sorción de agua de los sistemas estudiados (error estándar).

parámetro	<i>grit</i>	<i>grit cocido</i>	<i>grit laminado</i>	copos de maíz comunes	copos de maíz azucarados
$m_0$ (%bs)	10 (1)	6,0 (0,4)	6,8 (0,4)	6,2 (0,4)	3,9 (0,4)
$S_w$ (m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> )	355 (35)	213 (14)	241 (14)	220 (21)	140 (14)
$K$	0,663 (0,03)	0,89 (0,01)	0,83 (0,02)	0,90 (0,01)	1,07 (0,02)
$C$	7,5 (1,3)	21 (16)	13 (6)	2,9 (0,5)	2,2 (0,6)
R <sup>2</sup>	0,9880	0,9904	0,9894	0,9959	0,9919
%E	3	5	4	5	10

Los valores de ajuste para la ecuación de GAB obtenidos en este trabajo se compararon con los encontrados en la bibliografía para productos derivados de cereales los cuales se tabularon en la Tabla 4-4. Los datos encontrados publicados por otros autores están en el orden de los obtenidos en este trabajo, las diferencias pueden explicarse en base a diferencias en la composición y grado de procesamiento de los alimentos utilizados. Se puede observar, por ejemplo, que para almidón de maíz a 30 °C se obtuvieron valores más bajos de  $m_0$  que los correspondientes al *grit* (Peng y col., 2007), lo que se debió la diferencia en el material (en el trabajo de Peng se emplea almidón purificado) y también al efecto del aumento de temperatura que provoca la disminución de los valores de  $m_0$  y  $C$ . El menor valor de  $m_0$  el caso de los *snacks* de maíz (Palou y col., 1997), puede atribuirse fundamentalmente a su mayor contenido de aceite, con respecto a los copos de maíz.

Tabla 4-4: parámetros de ajuste para la ecuación de GAB encontrados en la bibliografía para productos derivados de cereales.

material	$m_0$	$C$	$k$	referencia
almidón de maíz (30 °C)	4,5	14,2	0,85	(Peng y col., 2007)
maíz amarillo dentado (25 °C)	7,4	34,6	0,75	(Samapundo y col., 2007)
arroz	13,6	25,4	0,44	(Sablani y col., 2009)
semolina comercial (25 °C)	8,3	11,5	0,76	(Furmaniak y col., 2009)
<i>snack</i> de maíz	3,7	7,23	0,95	(Palou y col., 1997)

### 4.1.3. Sorción de nitrógeno

En la Tabla 4-5 se muestran los resultados del volumen de monocapa ( $V_m$ ) y el área superficial específica ( $S_N$ ) para las muestras de las distintas etapas del proceso industrial calculadas a partir de las isotermas de adsorción de nitrógeno a las que se ajustó la ecuación de BET linealizada (ecuación 3-4).

Tabla 4-5: Área de sorción de nitrógeno y volumen de monocapa calculados según la ecuación de BET para las etapas del proceso industrial de producción de copos de maíz. (Desviación estándar).

muestra	$V_m$ (cm <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> )	$S_N$ (m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> )
<i>grit</i>	0,018 (0,001)	0,076 (0,005)
<i>grit</i> cocido	0,040 (0,002)	0,174 (0,010)
<i>grit</i> laminado	0,014 (0,001)	0,062 (0,004)
copo de maíz	0,026 (0,002)	0,112 (0,006)

Si se comparan los valores de superficie específica para la sorción de agua (Tabla 4-3) con los correspondientes para nitrógeno se observa que el área para agua es mucho mayor, indicando que las superficies de estos materiales tienen una mayor afinidad por el agua.

Diferencias similares fueron reportadas por Hellman y Melvin (1950) para almidón de maíz y por Maroder (2008) para semillas de trigo. Dado que la molécula de  $N_2$  es más pequeña que la del agua, no se trata de problemas estéricos. El agua tiene una fuerza impulsora adicional, dada por la energía de los enlaces puente de hidrógeno que es capaz de establecer con los sitios polares de los materiales y por lo tanto penetra más profundamente que las moléculas de nitrógeno en el material y se une a una mayor cantidad de puntos de sorción (Lechuga, 2010). Justamente por este motivo, los valores de superficie específica para adsorción de nitrógeno ( $S_N$ ) fueron más sensibles al proceso industrial que la superficie para adsorción de agua ( $S_w$ ).  $S_N$  aumentó luego de la gelatinización del almidón en la cocción, probablemente por los cambios superficiales que se generan al producirse la pérdida de cristalinidad. Luego de la compactación producida por el laminado  $S_N$  disminuyó y aumentó nuevamente en el producto final luego del tostado, al producirse el ampollado de la superficie. Estos cambios están relacionados entonces con el grado de compactación a nivel molecular o microscópico (pérdida de cristalinidad) y a nivel macroscópico (compactación). Al ser la adsorción de agua un fenómeno más intensivo, debido a las fuerzas mencionadas, es menos dependiente de estos factores

#### **4.1.4. Propiedades térmicas y movilidad molecular.**

Los componentes de los copos de maíz que determinan la estructura característica y las transiciones térmicas son almidón gelatinizado y proteínas, cuyas transiciones se aprecian mejor sobre muestras hidratadas. Los lípidos y azúcares, aunque se encuentran en cantidades menores, influyen sobre estas transiciones. En la Figura 4-3 se muestran los termogramas obtenidos para copos de maíz comunes y azucarados con contenidos de agua (c.a.) de 6,6 y 4,8  $gH_2O/100g$  muestra (%bt), respectivamente. Las principales transiciones térmicas

observadas son la transición vítrea ( $T_g$ ), un evento endotérmico cercano a los 50 °C y, en los copos de maíz azucarados, la fusión y simultánea caramelización de la sacarosa.

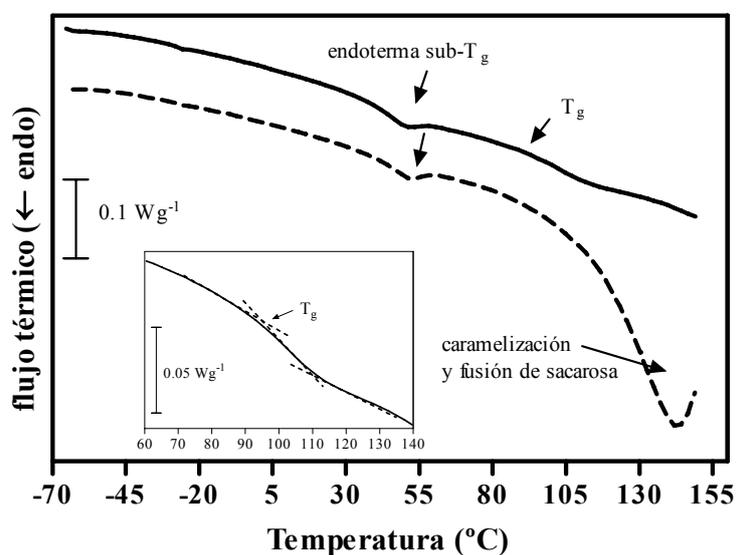


Figura 4-3: Termogramas de CMC (—) CMA (---) para contenidos de agua de 6,6 y 4,8 (%bt), respectivamente. Las transiciones se indican con flechas. En el inserto puede verse una ampliación de la transición vítrea para CMC.

#### 4.1.4.1. Transición vítrea.

Se determinó la temperatura de transición vítrea de las muestras tomadas en las distintas etapas de producción industrial de copos de maíz con diferentes contenidos de agua. La temperatura de inicio (“onset”) de la transición vítrea en las muestras analizadas, ( $T_g$ ), decreció a medida que aumentó el contenido de agua, como en todos los sistemas de alimentos. La Figura 4-4 muestra algunos de los termogramas obtenidos para los distintos sistemas estudiados. En los casos en que la  $T_g$  estaba superpuesta al evento endotérmico ubicado alrededor de 50 °C, la transición se midió en un segundo barrido realizado inmediatamente después del primero (Bizot y col., 1997; Lim y col., 2001), el evento irreversible desapareció y la  $T_g$ , al ser reversible, pudo ser observada. En los copos de maíz azucarados la  $T_g$  no se pudo observar porque se encontró superpuesta por los eventos endotérmicos descritos en la (Figura 4-3). Cabe destacar que en el caso particular del *grit*,

como el almidón se encuentra en estado nativo semicristalino, dicha  $T_g$  correspondió a las zonas amorfas.

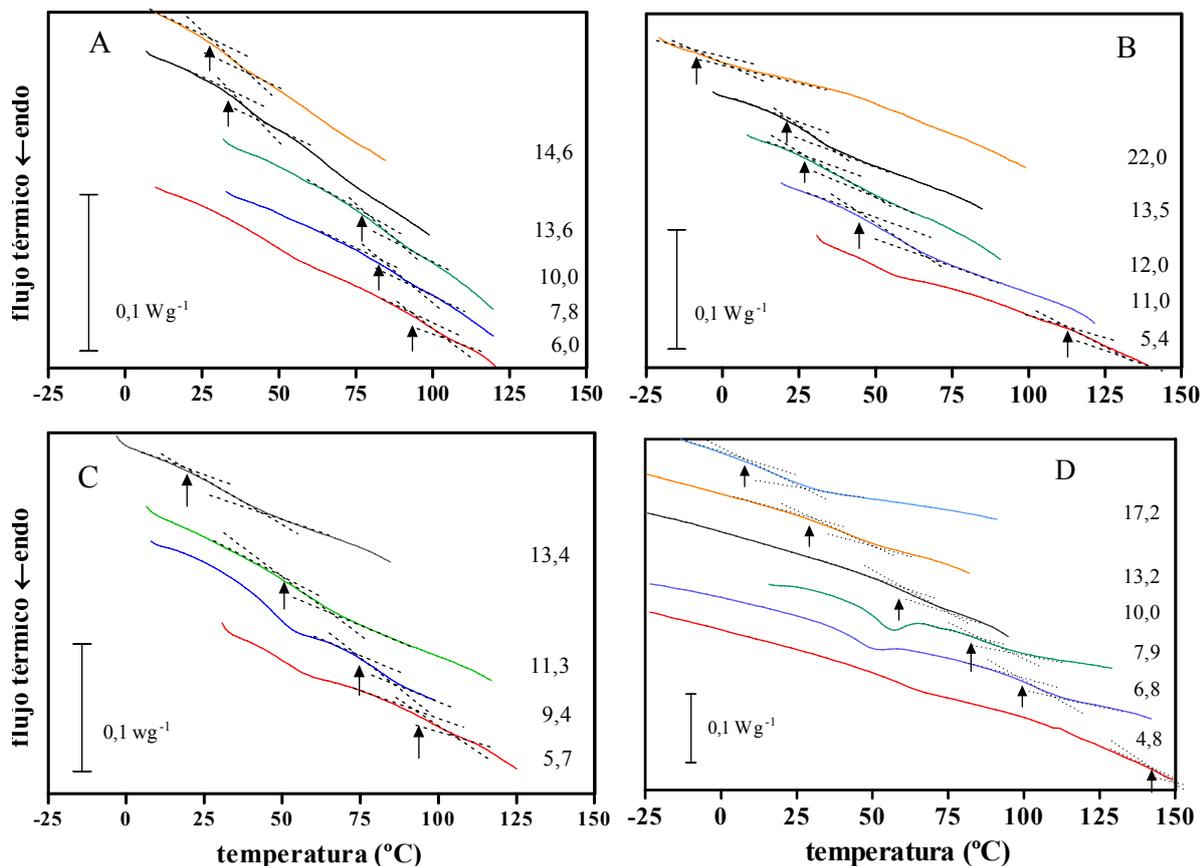


Figura 4-4: Ejemplos de los termogramas obtenidos para *grits* (A), *grits* gelatinizados (B), *grits* laminados (C) y copos de maíz comunes (D). El inicio de la transición vítrea se indica con una flecha, el contenido de agua en base total se indica a la derecha de cada curva.

En la Tabla 4-6 se detallan las temperaturas de transición vítrea medidas para todos los sistemas estudiados en función del contenido de agua expresado en gH<sub>2</sub>O/100g muestra.

Tabla 4-6: Temperaturas de inicio de la transición vítrea de los sistemas estudiados para cada contenido de agua. Media (desviación estándar).

sistema	contenido de agua (%bt)	T <sub>go</sub> (°C)	ΔC <sub>P</sub> (Jg <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )
<i>grit</i>	6,0 (0,1)	94 (5)	0,07 (0,03)
	6,8 (0,1)	91 (4)	0,07 (0,04)
	7,8 (0,1)	85 (3)	0,10 (0,04)
	10,0 (0,1)	77 (4)	0,12 (0,04)
	12,0 (0,2)	47 (2)	0,10 (0,03)
	13,6 (0,2)	34 (2)	0,14 (0,02)
	14,6 (0,2)	28 (1)	0,15 (0,05)
	18,8 (0,3)	13 (1)	0,18 (0,03)
<i>grit cocido</i>	5,4 (0,1)	117 (6)	0,10 (0,02)
	11,0 (0,1)	45 (2)	0,19 (0,03)
	12,0 (0,1)	28 (1)	0,05 (0,01)
	13,5 (0,3)	21 (1)	0,16 (0,02)
	22,0 (0,3)	-8 (1)	0,04 (0,01)
<i>grit laminado</i>	5,7 (0,1)	94 (4)	0,08 (0,01)
	9,4 (0,1)	75 (4)	0,16 (0,02)
	11,3 (0,1)	52 (3)	0,19 (0,02)
	13,4 (0,1)	19 (2)	0,21 (0,02)
copo de maíz	4,8 (0,1)	143 (3)	0,08 (0,01)
	6,8 (0,1)	101 (1)	0,11 (0,02)
	7,9 (0,2)	83 (2)	0,11 (0,02)
	8,3 (0,1)	84 (3)	0,10 (0,02)
	10,0 (0,1)	59 (2)	0,16 (0,02)
	11,0 (0,1)	56 (2)	0,20 (0,03)
	13,2 (0,2)	28 (3)	0,21 (0,03)
	14,0 (0,2)	27 (1)	0,21 (0,03)
17,2 (0,3)	8 (2)	0,31 (0,05)	

#### 4.1.4.1.a. Modelado de los datos de T<sub>g</sub> en función del contenido de agua

Para describir los efectos de agua en la transición vítrea de los *grits* y de los copos de maíz se aplicó la ecuación de Gordon y Taylor (G-T) (Gordon y Taylor, 1952), ecuación 4-1.

$$T_g = \frac{W_1 T_{g1} + kW_2 T_{g2}}{W_1 + kW_2}$$

Ecuación 4-1

Dónde  $T_{g1}$  y  $T_{g2}$  son las temperaturas de inicio de las transiciones vítreas de los sólidos amorfos y del agua pura respectivamente,  $W$  es la fracción en masa de cada componente (subíndice 1 para los sólidos y 2 para el agua) y  $k$  una constante que caracteriza el efecto de un segundo componente (en este caso el agua) sobre la  $T_g$ . Si el valor de la relación  $T_{g1}/T_{g2}$  es alto (la  $T_g$  del segundo componente es mucho menor de la del primero)  $k$  también lo es, y el segundo componente tendrá un mayor efecto sobre la  $T_g$  del primero (Katkov y Levine, 2004). La ecuación de G-T fue originalmente desarrollada para sistemas binarios pero ha sido extendida a sistemas más complejos como los alimentos, considerando el conjunto de los componentes sólidos del alimento (componente 1) y al agua (componente 2) (Chen y Yeh 2001; Cuq y col. 2003; Sandoval y col. 2009).

Las ecuaciones de Kwei (2002) (ecuación 4-2) y de Couchman y Karasz (1978) (C-K) (ecuación 4-3), también pueden utilizarse para predecir el efecto del agua sobre la transición vítrea.

$$T_g = \frac{W_1 T_{g1} + k W_2 T_{g2}}{W_1 + k W_2} + q W_1 W_2 \quad \text{Ecuación 4-2}$$

Donde los parámetros  $T_{g1}$ ,  $T_{g2}$ ,  $k$ ,  $W_1$  y  $W_2$  tienen el mismo significado que en la ecuación de Gordon y Taylor. El parámetro “ $q$ ” es una constante empírica que mide la desviación del modelo de la teoría aplicada a sistemas homogéneos agua-polímero (Cuq e Icard-Vernière, 2001).

$$T_g = \frac{W_1 \Delta C_{p1} T_{g1} + W_2 \Delta C_{p2} T_{g2}}{W_1 \Delta C_{p1} + W_2 \Delta C_{p2}} \quad \text{Ecuación 4-3}$$

En la ecuación de C-K,  $\Delta C_p$  es la variación en la capacidad calorífica que se produce al atravesar la transición vítrea para cada componente. El subíndice (1) se utiliza para los sólidos

y (2) para el agua. Couchman y Karasz (1978) propusieron que el valor de  $k$  podía ser estimado a partir de la siguiente fórmula:

$$k_{C-K} = \frac{\Delta C_{p2}}{\Delta C_{p1}} \quad \text{Ecuación 4-4}$$

Para todas las ecuaciones se utilizaron los valores  $T_g$  y  $\Delta C_p$  para el agua más aceptados, siendo  $\Delta C_p$  de  $1,94 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$  (Katkov y Levine, 2004) y  $T_{g2}$  de 138 K para la transición vítrea (Jouppila y Roos, 1997, Chen y col., 2000). Las temperaturas se expresaron en K.

El valor de  $\Delta C_{p1}$  es muy difícil de obtener experimentalmente por dos motivos: los polímeros de alto peso molecular presentan valores de  $\Delta C_p$  muy bajos y más aún cuando están deshidratados. Por otro lado, a las altas temperaturas a las que ocurre la transición vítrea en polímeros de alto peso molecular en ausencia de agua el material se descompone antes de que pueda observarse la transición. Las transiciones vítreas observadas se presentaron en un amplio rango de temperatura y la variación en la capacidad calorífica ( $\Delta C_p$ ) fue pequeña como ocurre generalmente para polímeros complejos y de alto peso molecular como el caso del almidón (Biliaderis y col., 1986, Zeleznak y Hosenev, 1987; Roos y col., 1996).

En la Tabla 4-7 se describen los parámetros de ajuste comparados de las ecuaciones de G-T, C-K y Kwei para copos de maíz y *grits*. A partir de las ecuaciones de G-T y C-K pudo determinarse un valor para la transición vítrea del copo de maíz seco, que fue de 254 °C (que, como se expresó previamente, no pudo medirse experimentalmente debido a la descomposición térmica de la muestra). Para los copos de maíz tanto los valores de  $T_{g1}$  como de  $k$  fueron mayores al aplicar la ecuación de Kwei en comparación con las otras. Se han reportado diferencias en el mismo sentido cuando se compararon los valores obtenidos para muestras de arroz con dichas ecuaciones (Cuq y Icard-Vernière, 2001). El valor de  $R^2$  para la ecuación de Kwei es algo mayor para copos de maíz, debido a que el término adicional

( $qW_1W_2$ ) permite un mejor ajuste a los valores medidos. Los valores de  $T_{g1}$  y  $k$  obtenidos aplicando la ecuación de G-T a los *grits* (176 °C) fueron menores que los de los copos de maíz. Para ambos tipos de muestras los valores de los parámetros obtenidos para la ecuación de Kwei presentaron un elevado error relativo, principalmente el parámetro  $q$ .

Tabla 4-7: Parámetros de las ecuaciones de G-T, C-K y Kwei para  $T_{g0}$  de copos de maíz. Medias (error estándar).

	Ecuación	$T_{g1}$ (°C)	$k$	$\Delta C_{p1}$ (J·g <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup> )	$Q$	$R^2$
Copos de maíz	Gordon y Taylor	265 (12)	9,3 (0,6)			0,9896
	Couchman Karasz	265 (12)		0,209 (0,013)		0,9896
	Kwei	326 (33)	14,2 (2,5)		177 (65)	0,9937
<i>Grits</i>	Gordon y Taylor	166 (9)	4,5 (0,4)			0,9739
	Couchman Karasz	166 (9)		0,427 (0,039)		0,9739
	Kwei	152 (24)	2,9 (2,9)		-168 (386)	0,9751

En general, para aplicar la ecuación de Couchmann y Karasz se parte de conocer los valores de  $\Delta C_p$  de ambos componentes. En nuestro caso, debido a las dificultades experimentales para conocer  $\Delta C_p$  del sólido seco, se aplicó la ecuación dejando el valor  $\Delta C_{p1}$  como variable de ajuste. Como se ve en la Tabla 4-7, los valores de  $\Delta C_{p1}$  obtenidos mediante este método fueron bastante mayores que lo esperado para sistemas de componentes de alto peso molecular (Biliaderis y col., 1986; Zeleznak y Hosoney, 1987).

Alternativamente, el valor de  $\Delta C_{p1}$  se puede estimar graficando el valor experimental de  $\Delta C_{p1}$  en función del contenido de agua, y luego extrapolando a cero. En la Figura 4-5 se observa una gráfica de  $\Delta C_p$  para los copos de maíz y los *grits* en función del contenido de

agua. Los valores de  $\Delta C_p$  para los *grits* fueron menores que para los copos debido a que poseen menor proporción de material amorfo. Esto permitió, realizar una estimación que arrojó un valor de  $\Delta C_{p1}$  de  $0,01 \pm 0,02 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  para copos de maíz y  $0,02 \pm 0,02 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  para *grits*. El amplio intervalo de confianza de estos valores, provocado por el bajo valor de  $\Delta C_p$  característico del material en cuestión, hizo que no se puedan informar diferencias significativas en los valores de  $\Delta C_{p1}$ . De todos modos los valores obtenidos para ambos tipos de muestras, son mucho menores que los arrojados por la ecuación de C-K, lo que confirma que la ecuación 4-4 no es adecuada para describir el comportamiento experimentalmente observado. Existen otros casos informados en los que la ecuación de Couchmann y Karasz no da resultados coincidentes al intentar calcular el  $\Delta C_p$  del sólido amorfo (Orford y col., 1990; Roos y Karel, 1991c; Buera y col., 1992).

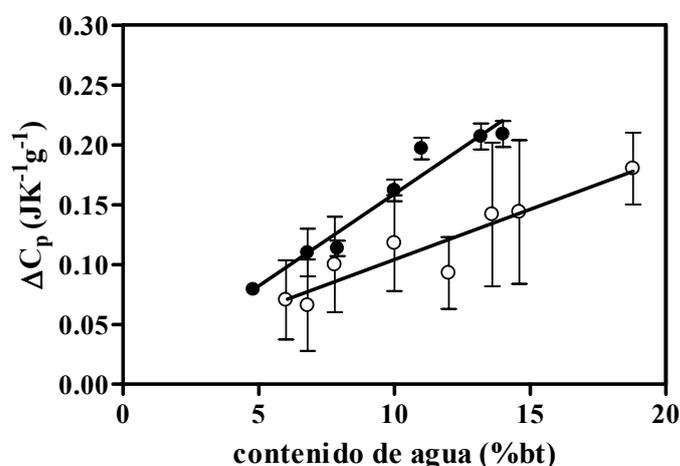


Figura 4-5: Variación de la capacidad calorífica ( $\Delta C_p$ ) al atravesar  $T_g$  en función del contenido de agua. Copos de maíz (●), grits (○). Las barras de error representan la desviación estándar.

Del análisis de los datos obtenidos en esta sección surge que la aplicación de la ecuación G-T es la más adecuada para describir el comportamiento de los sistemas estudiados en esta tesis con respecto al contenido de agua. En la Figura 4-6 se muestran los valores experimentales de  $T_g$  vs. fracción de sólidos y las curvas de ajuste a la ecuación de G-T para

*grit* y copo de maíz. Las curvas representadas a partir del ajuste presentan una buena coincidencia con los valores experimentales.

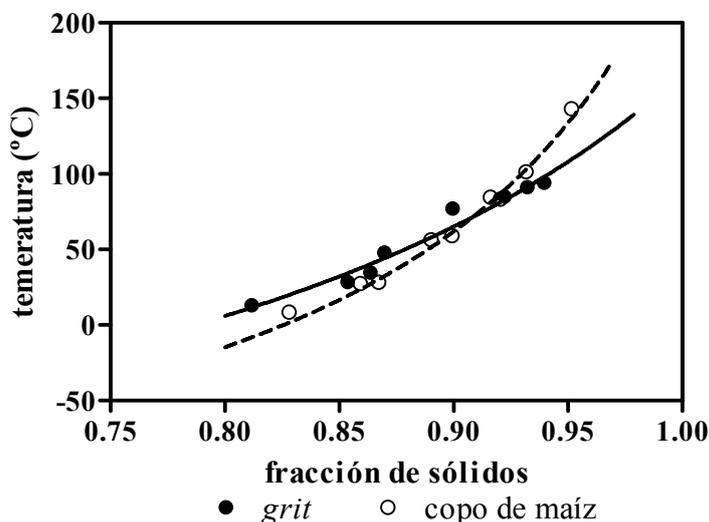


Figura 4-6: Curvas de  $T_g$  en función del contenido de agua (expresado como fracción de sólidos totales) ajustadas por la ecuación de Gordon y Taylor. *Grit* (—), copo de maíz (----).

Con el fin de comparar los resultados obtenidos con los reportados en la bibliografía, en la Tabla 4-8 se enumeran algunos valores de  $T_{gl}$  y  $k$  para almidones y proteínas de cereales con sus respectivas citas. Los almidones presentaron valores de  $T_{gl}$  mayores que las proteínas. El valor hallado para los copos de maíz se encuentra en el orden de los informados para almidón de maíz amorfo (Jouppila y Roos, 1997; Zhong y Sun, 2005) y es mayor que el de zeínas. Si bien zeínas y almidón no son los únicos componentes del copo de maíz, estos resultados están de acuerdo con que el almidón es el componente mayoritario. El valor de  $T_{gl}$  obtenido para el *grit* por G-T fue cercano al informado para sémola de trigo (Cuq e Icard-Vernière, 2001). El valor de  $k$  obtenido para copos de maíz por G-T (9,3, Tabla 4-7), fue mayor que los publicados para almidones y proteínas de reserva, que son los principales componentes del *grit*. El valor de  $k$  obtenido para el *grit* fue muy similar a los informados para sus componentes, almidón de maíz y zeínas, (Roos y Karel, 1991b; Jouppila y Roos, 1997; De Graaf y col., 2002).

Tabla 4-8: Valores de  $T_g$  del material seco y  $k$  de G-T publicados en la bibliografía.

Material	$T_{gl}$ (°C)	$k$	Referencia
cereales de desayuno extrudidos**	105*	3,8	(Sandoval y col., 2009)
almidón	243	5,2	(Roos y Karel, 1991b)
almidón de maíz amorfo	243	5,6	(Jouppila y Roos, 1997)
almidón de maíz amorfo	278	5,7	(Di Gioia y col., 1999; Zhong y Sun, 2005)
películas de almidón de maíz <i>waxy</i>	285	6,2	(Bizot y col., 1997)
semolina de trigo duro	162*	3,4	(Cuq e Icard-Vernière, 2001)
zeínas	164*		(Di Gioia y col., 1999)
zeínas		5,1	(De Graaf y col., 2002)
gluteninas		6,3	
gliadinas	121	3,6	
gluten	162	4,9	(Bengoechea y col., 2007)
gluten de trigo	128	3,9	(Toufeili y col., 2002)

\*Determinada como punto medio de la transición ( $T_{gm}$ ).

\*\* Compuestos de avena y arroz.

Las diferencias entre los valores correspondientes a los sistemas de componentes puros, en comparación con los productos de maíz, pueden explicarse teniendo en cuenta que estos últimos son matrices complejas que presentan varios componentes, cada uno de los cuales puede interactuar de manera diferente con el agua y con los otros constituyentes de la matriz. De esta manera el valor de  $k$ , que es una medida de la capacidad del agua de disminuir el valor de  $T_g$  de un dado material deshidratado, estaría influido por la composición, las modificaciones (de estructura, porosidad, etc.) producidas en los componentes de la muestra por el procesado, la interacción entre ellos (proteínas y almidón principalmente, y lípidos) y la forma en que dicha interacción modifica su relación con el agua.

Los resultados antes discutidos permiten afirmar que el producto terminado presenta una  $T_g$  mayor que el *grit* a bajos contenidos de agua y, como el efecto del agua en la reducción de la  $T_g$  es más pronunciado sobre el copo de maíz, a partir de contenidos de agua mayores a 10 %bt la  $T_g$  del *grit* es mayor que la del producto terminado. Esto se debe a que el *grit* tiene una estructura diferente a la del copo de maíz: en el *grit*, el almidón está en estado nativo, con su estructura granular y semicristalina conservada (Zobel, 1988). Las proteínas están formando una matriz que une fuertemente a los gránulos de almidón y a su vez estas proteínas pueden estar asociadas a lípidos de membrana (Wall y col., 1988). Por otro lado, en el copo, la matriz se ha transformado por el tratamiento térmico, el almidón ha sido gelatinizado y las proteínas desnaturalizadas, por lo tanto toda la matriz es amorfa y más susceptible de ser plastificada por el agua.

En la práctica se ha utilizado la ecuación de G-T para almidones nativos (Cuq e Icard-Vernière, 2001). Sin embargo, estrictamente la  $T_g$  que puede medirse corresponde a las zonas amorfas. La estructura del *grit* hace que sea difícil conocer el verdadero contenido de agua de la fase amorfa y por lo tanto la aplicación de las ecuaciones que describen la variación de la  $T_g$  con el contenido de agua deja de tener validez desde el punto de vista teórico. En nuestro caso dicho ajuste se utilizó para obtener una curva de  $T_g$  vs. contenido de agua que pueda utilizarse en la confección de los diagramas de estado y permita comparar la tendencia de estos datos respecto de los copos de maíz.

En algunas de las muestras de copos de maíz pudo detectarse un segundo cambio de capacidad calorífica a temperaturas menores que el primero y cuya temperatura de inicio disminuyó con el aumento del contenido de agua (Tabla 4-9). Su detección fue difícil debido a que el cambio de  $C_p$  fue muy pequeño. Esta posible  $T_g$  no pudo observarse en ninguna de las muestras de *grits* crudos (que no contienen azúcares agregados). Teniendo en

cuenta las temperaturas observadas y que los copos de maíz tienen un contenido de azúcares libres de 6 %, provenientes de su formulación y de descomposición del almidón (Tabla 4-1), es probable que se trate de una fase rica en azúcares. Bell y Touma (1996) informaron un valor de  $T_g$  de 13 °C para laminados de maíz con 9,2 %bt agua que contenían 7 % de azúcar. La determinación fue realizada por DSC modulante (ADSC), que puede ser más sensible que el DSC común que usamos en este trabajo.

Tabla 4-9: Temperatura de inicio de la  $T_g$  correspondiente a la fracción rica en azúcares detectada para copos de maíz. Media (desviación estándar).

Contenido de agua (%bt)	$T_g$ (°C)	$\Delta C_p$ ( $J \cdot g^{-1} \cdot K^{-1}$ )
4,8	79 (2)	$12 \times 10^{-3}$ (0,002)
6,8	20 (4)	$80 \times 10^{-3}$ (0,01)
10,0	-11 (3)	$26 \times 10^{-3}$ (0,002)
16,7	-50 (3)	0,142 (0,02)

#### 4.1.4.2. Agua congelada detectada por DSC

El estudio del contenido de agua mínimo para comenzar a observar congelación de la misma no sólo es importante para el procesamiento y conservación de productos congelados, si no que establece un límite en cuanto a la estabilidad de los materiales deshidratados, ya que indica las condiciones para las cuales comienza ser importante la movilidad molecular en el seno de la matriz. Cuando el contenido de agua fue suficientemente alto, después del enfriamiento hasta -70 °C, se observó en los termogramas la fusión del agua que había cristalizado durante dicho enfriamiento, como se observa en la Figura 4-7 dónde se muestran algunos termogramas como ejemplo.

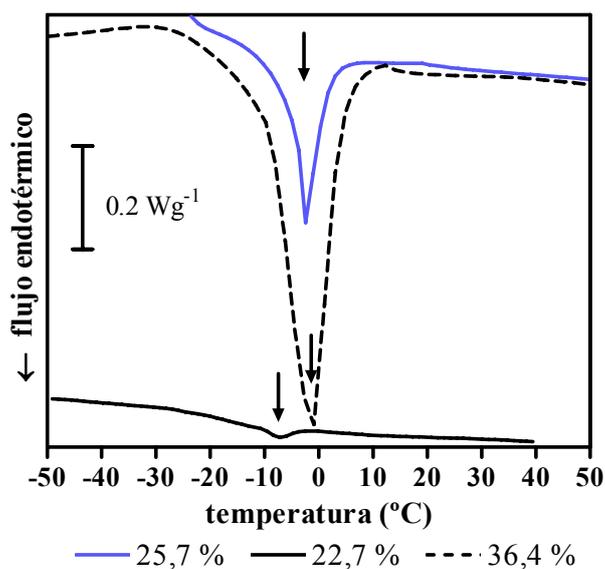


Figura 4-7: Termogramas donde se muestra el pico de fusión del agua que cristalizó durante el enfriamiento a -70°C para muestras de *grit* (línea azul) y CM (líneas negras), debajo de la gráfica se indican los contenidos de agua (%bt) de las muestras.

En la Tabla 4-10 se observan los contenidos de agua, temperaturas de inicio ( $T_{oF}$ ) y entalpía ( $\Delta H_F$ ) de fusión de agua para *grits* y copos de maíz en los que se detectó agua congelada después de enfriar a -70 °C.

Tabla 4-10: Temperaturas de inicio del pico de fusión para las muestras que presentaron agua congelada. Media (desviación estándar).

Sistema	Contenido de agua (%bt)	$T_{oF}$ (°C)	$\Delta H_F$ (J·g <sup>-1</sup> )
<i>grit</i>	26 (0,2)	-5 (2)	10,72 (0,7)
	36 (0,2)	-5 (2)	52,94 (3,7)
	53 (0,4)	-4 (2)	139,52 (9,0)
	69 (0,4)	-6 (2)	210,35 (10)
CMC	23 (0,2)	-13 (3)	1,42 (0,06)
	36 (0,3)	-10 (2)	44,05 (3,0)
	37 (0,4)	-11 (3)	48,49 (3,0)

Graficando la entalpía de fusión del agua congelada en función del contenido de agua y extrapolando a  $\Delta H_F = 0$  puede calcularse el contenido de agua al cual la movilidad es suficiente para que pueda congelar al enfriar. En Figura 4-8 se muestran los valores de  $\Delta H_F$  vs. contenido de agua para *grits* y copos de maíz, se encontró que el mencionado contenido de agua fue muy similar para los dos sistemas, 23,9 y 22,3 %bt para *grits* y CM respectivamente, que corresponde a 29 y 30 % (bs).

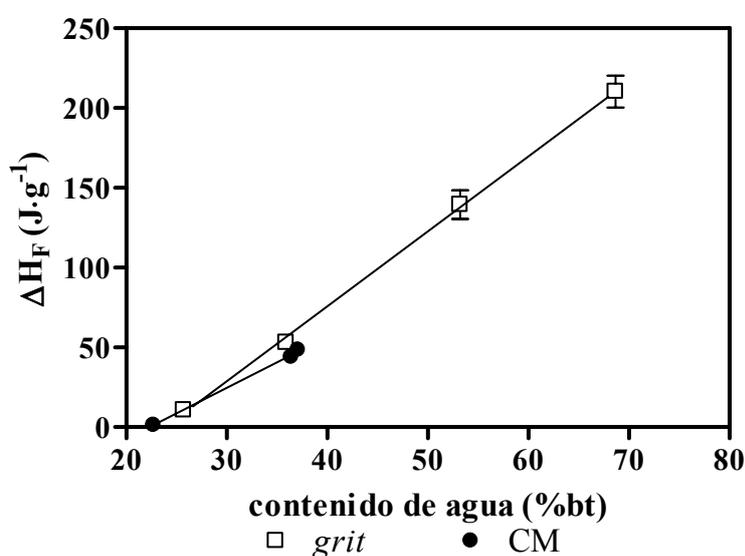


Figura 4-8: Entalpía de fusión del agua congelada luego de enfriar medida por DSC para *grit* crudo (*grit*) y copo de maíz (CM). Las barras de error representan la desviación estándar.

Es interesante notar que Roos y Karel (1991a; 1991e) y Roos (2010) informaron que en sistemas de azúcares, oligo y polisacáridos el contenido de agua al cual se verifica la presencia de agua congelada al enfriar a temperaturas sub-cero fue cercano a 20 % en todos los sistemas. Este valor corresponde por lo tanto al contenido de agua en la matriz máximamente crioconcentrada y tiene el interés práctico de ser un indicador de la movilidad del agua y del comienzo de su acción solvente. Los valores medidos en esta tesis (23,9 y 22,3 %) fueron muy cercanos a los reportados por los mencionados autores.

#### 4.1.4.3. Fusión de sacarosa

En los copos de maíz azucarados se observó una importante transición endotérmica que comenzó a temperaturas mayores los 70 °C con una pendiente muy suave que se fue haciendo más marcada a medida que se acercó al pico a los 141 °C (Figura 4-9). Basados en datos previos de la literatura (Bhandari y Roos, 2003) esta transición fue atribuida a la fusión de los cristales de sacarosa y su simultánea caramelización, esta última se evidenció al abrir las cápsulas y observar que las muestras se encontraban pardeadas. Para confirmar esto se agregó sacarosa cristalina a copos de maíz comunes en la misma proporción que presentan los azucarados y se realizó un experimento de DSC, en el mismo se observó un evento endotérmico con las mismas características que para los CMA (Figura 4-9).

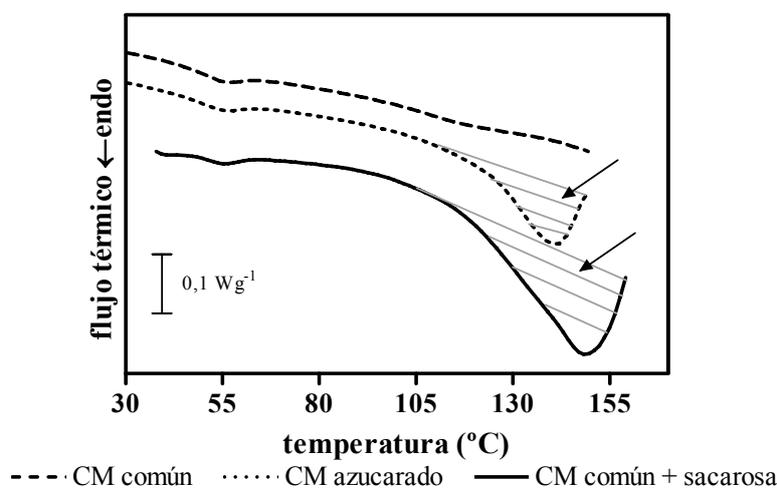


Figura 4-9: Termogramas de copos de maíz comunes, azucarados y copos comunes con agregado de sacarosa (36 %). El pico de fusión y caramelización se indica con una flecha

#### 4.1.4.4. Relajación entálpica

En los termogramas de los copos de maíz y de las muestras tomadas en los diferentes estados de proceso de producción (*grits* crudos (G), *grits* cocidos (GC) y laminados (GL)) se observó un evento endotérmico ubicado cerca de 50 °C (Figura 4-3) que desapareció en un

segundo barrido realizado inmediatamente después del primero, y reapareció luego de almacenar la muestra. Esta transición fue descrita por primera vez por Kalichevsky y col. (1992) y ha sido llamada “endoterma sub- $T_g$ ” debido a que fue observada a temperaturas inferiores a la transición vítrea. Este fenómeno ha sido atribuido a una interacción polímero-agua por Appelqvist y col. (1993), mientras que otros autores lo han descrito como un evento de relajación entálpica (Thiewes y Steeneken, 1997; Cuq e Icard-Vernière, 2001; Yu y Christie, 2001; Chung y col., 2004). Si bien este evento ha presentado interés desde el punto de vista de la investigación básica en polímeros, hay posiciones encontradas en cuanto a su explicación y se quiso profundizar en el conocimiento de su naturaleza y analizar sus potenciales aplicaciones tecnológicas como descriptor del proceso en sus distintas etapas.

En la Figura 4-10 se muestran, a modo de ejemplo, los termogramas de tres muestras de copos de maíz para graficar la relación de la mencionada endoterma y la  $T_g$ , estos resultados son representativos del resto de las muestras estudiadas. Se observa que la temperatura del pico de la endoterma no varía mucho al variar el contenido de agua, a diferencia de la  $T_g$ . De esta manera para las muestras de bajo contenido de agua, cuya  $T_g$  está a altas temperaturas, el fenómeno se observó como una endoterma sub- $T_g$  y alejado de esta (muestra con ca. 6,5 %bt). A medida que la transición vítrea se desplazó a temperaturas más bajas se superpuso a la endoterma y esta última se observó asociada a  $T_g$  como en el ejemplo de 12,3 %bt en la Figura 4-10. En el caso de la muestra con un c.a. de 17,4 %bt la  $T_g$  se ha desplazado a temperaturas aún más bajas y el pico endotérmico fue más ancho. Para contenidos de agua más altos que 23 %bt la endoterma no fue observable. Se puede relacionar este valor de contenido acuoso (que corresponde a 30 %bs) a aquel en el que aparece agua congelada después de enfriar (comúnmente llamada “libre”) como se discutió en la sección 4.1.4.2, y

donde la temperatura de inicio de gelatinización del almidón se encuentra en 77 °C (sección 4.1.4.5).

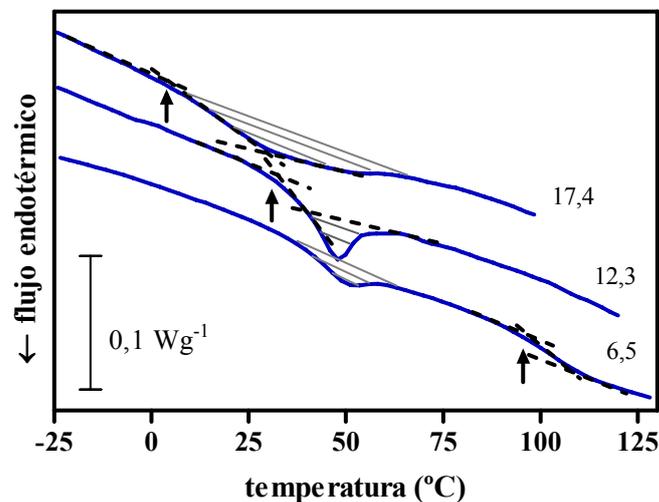


Figura 4-10: Termogramas de copos de maíz a tres contenidos de agua: 6,5; 12,3 y 17,4 (%bt) para mostrar la relación entre al pico endotérmico y la  $T_g$  (indicada con flechas).

#### 4.1.4.4.a. Recuperación de la relajación a distintas humedades y temperaturas.

Con el fin de determinar la naturaleza de la transición analizada en la sección anterior se condujeron estudios de DSC sobre muestras de copos de maíz con contenidos de agua de 5,1 y 10,7 (%bt). Se seleccionaron estos valores porque en ambos casos la transición es perfectamente visible. En el primero de ellos el contenido de agua es inferior al límite de hidratación ( $m_0$ ) y en el otro es superior al mismo. Estas muestras se sometieron a 70 °C durante 5 minutos para “borrar” la transición y luego se almacenaron a diferentes temperaturas ( $T_a$ ) durante distintos tiempos ( $t_a$ ) en los que se analizó su recuperación. En la figura Figura 4-11 se observa la variación de la entalpía al recuperarse la transición endotérmica ( $\Delta H$ ) luego de un tratamiento térmico a 70 °C durante 5 minutos y posterior almacenamiento (5, 7, 12 y 22 días) a diferentes temperaturas (4, 25 y 37 °C). Para la muestra con contenido acuoso de 10,7 (%bt) la entalpía aumentó al aumentar  $T_a$  para todos los tiempos

de almacenamiento estudiados. Para la muestra con menor contenido de agua (5,1 %bt) no se observó diferencia para 5, 7 y 12 días a las temperaturas estudiadas y se observó un leve aumento en  $\Delta H$  luego de 22 días de almacenamiento.

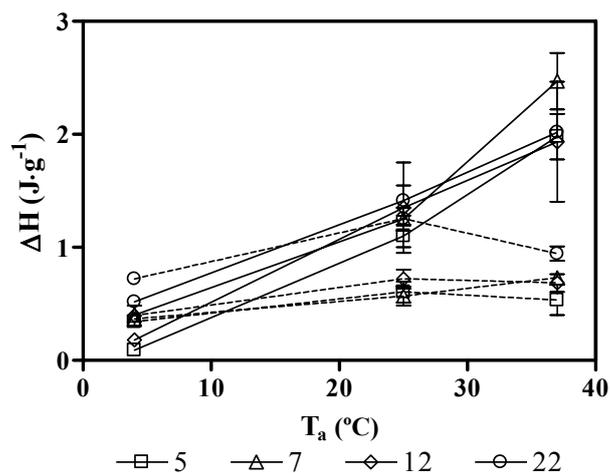


Figura 4-11: Entalpía de la endoterma en función de la temperatura de almacenamiento para los diferentes tiempos de almacenamiento en días. c.a. 10,7 % (—) y 5,1 % (---). Las barras de error representan la desviación estándar.

La temperatura de inicio ( $T_0$ ) también aumentó al aumentar la temperatura de almacenamiento (Figura 4-12) para todos los tiempos de almacenamiento estudiados.

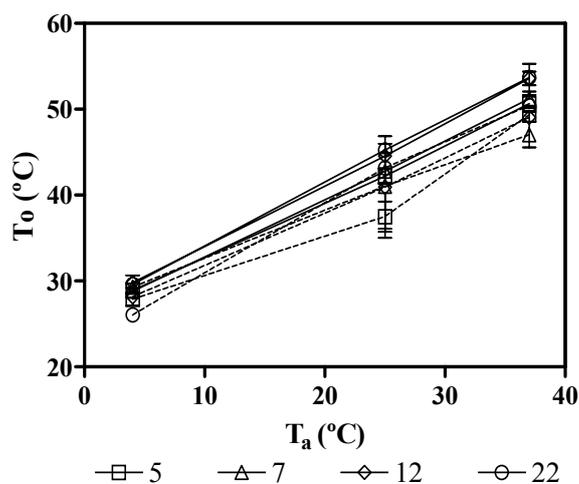


Figura 4-12: Temperatura inicio de la endoterma en función de la temperatura de almacenamiento para los diferentes tiempos de almacenamiento en días (5, 7, 12 y 22). c.a. 10,7 (%bt) (—) y 5,1 (%bt) (----). Las barras de error representan la desviación estándar.

En la Figura 4-13 se muestran los termogramas para la muestra con 10,7 (%bt) de agua y 5 días de almacenamiento para las tres temperaturas estudiadas. Puede observarse el mencionado aumento de la entalpía y el corrimiento de la temperatura de inicio que se producen al aumentar  $T_a$ . A la menor temperatura estudiada (4 °C) el pico es apenas visible en la escala de la Figura 4-13.

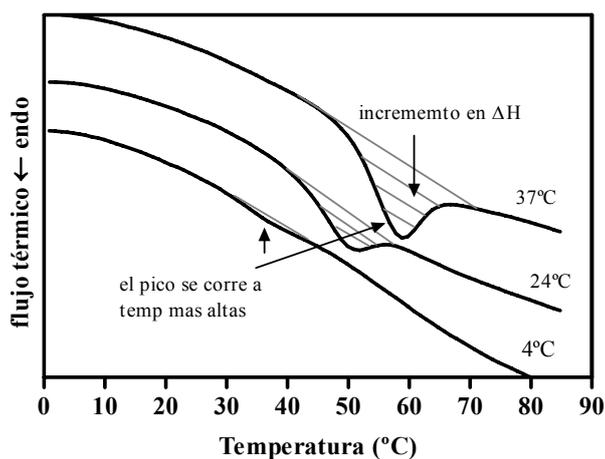


Figura 4-13: Termogramas obtenidos luego de 5 días de almacenamiento mostrando el aumento de la entalpía y el corrimiento del pico a mayores temperaturas al aumentar  $T_a$  para las tres temperaturas de almacenamiento utilizadas. Muestra con 10,7 gH<sub>2</sub>O/100g muestra.

En la Figura 4-14 se muestra la  $T_p$  en función del logaritmo del tiempo de almacenamiento. La gráfica presentó una relación lineal que fue significativa ( $p < 0,05$ ) para  $T_a$ : 25 y 37 °C, lo que está de acuerdo con lo descrito por otros autores respecto de relajaciones en polímeros (Hodge y Berens, 1981; 1982; Thiewes y Steeneken, 1997). De las 6 líneas mostradas en la Figura 4-14 solo 3 son rectas con pendiente significativamente distinta de cero (indicadas con \*), lo que indica la escasa variación de la  $T_p$  con el tiempo a pesar del cambio de entalpía, como se verá en la próxima sección.

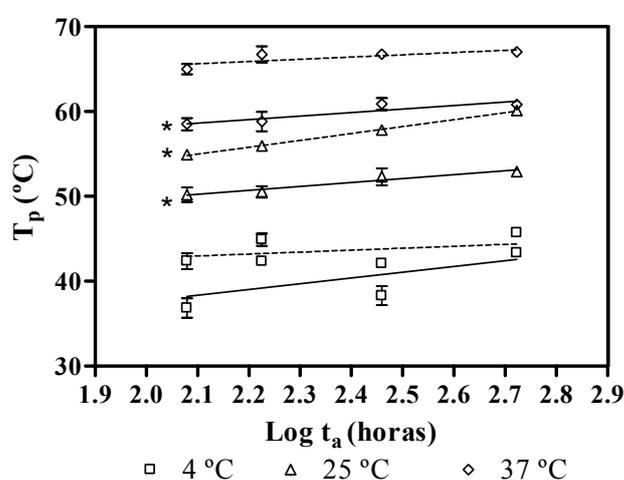


Figura 4-14:  $T_p$  como función lineal del Log del tiempo de almacenamiento para las diferentes  $T_a$ . (\*) indica pendiente  $\neq 0$ ,  $p < 0,05$ . c.a. 10,7 %bt (—) y 5,1 %bt (----). Las barras de error representan la desviación estándar.

Cuando se graficó la entalpía de la relajación en función del tiempo de almacenamiento (Figura 4-15 A y B) se observó que luego de 22 días la entalpía recuperada fue notablemente mayor en las muestras con un c.a. de 10,7 %bt (Figura 4-15 A) que para aquellas con 5,1 %bt de agua (Figura 4-15 B). Por otro lado, para las muestras con mayor contenido de agua (A) la entalpía recuperada se mantuvo relativamente constante, mientras que para las muestras con contenido de agua 5,1 %bt se observó un aumento apreciable entre los 12 y 22 días.

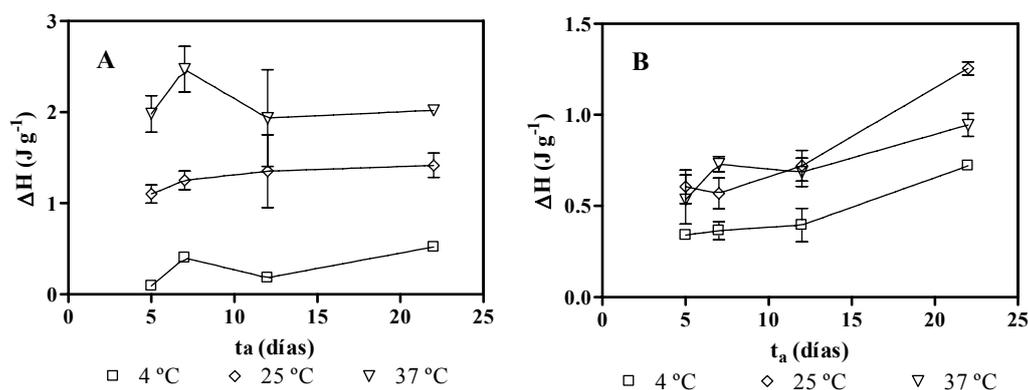


Figura 4-15: Entalpía en función del tiempo de almacenamiento. c.a.: 10,7 %bt (A) y 5,1 %bt (B). Las barras de error representan la desviación estándar.

Teniendo en cuenta que a 10,7 (%bt) de agua corresponde una  $T_g$  de 54 °C y a 5,1 (%bt) una de 132 °C la diferencia en la velocidad de la recuperación de la entalpía puede asociarse al valor de  $T_a - T_g$  y, por lo tanto, a la movilidad molecular de manera que al disminuir  $T_a - T_g$  la recuperación se hace más lenta. En la Figura 4-16 puede verse que este efecto se hace importante para valores de  $T_a - T_g$  mayores que -50 °C donde la recuperación de la entalpía aumenta al aumentar  $T_a - T_g$ .

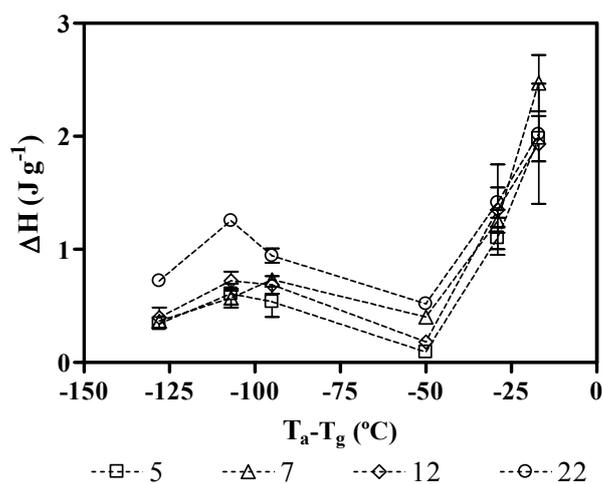


Figura 4-16: Entalpía recuperada luego del almacenamiento durante diferentes tiempos expresados en días en función de la diferencia entre temperatura de almacenamiento de la muestra y la transición vítrea ( $T_a - T_g$ ). Las barras de error representan la desviación estándar.

Podemos resumir las características de la endoterma sub- $T_g$  de la siguiente manera:

- Sólo es observable en muestras con contenido de agua menor que 23 % y ya no se observa cuando aparece agua congelada después de enfriar o en la zona de la isoterma de sorción correspondiente al agua con mayor movilidad,

- desaparece luego del calentamiento y reaparece al envejecer la muestra,

- la  $T_o$  de esa transición es independiente del contenido de agua de la muestra (por debajo de 23 %bt) y varía un poco cuando el evento en cuestión se superpone con la  $T_g$  (Figura 4-10),

- el  $\Delta H_p$  y la  $T_o$  aumentan al aumentar  $T_a$  y además  $T_p$  puede presentar una relación lineal con  $\text{Log } t_a$ ,

- A medida que  $T_a - T_g$  se acerca a cero aumenta tanto  $\Delta H_p$  como  $T_p$  indicando que la movilidad molecular tiene un papel importante en la recuperación de la endoterma sub- $T_g$ .

Estos hallazgos son coincidentes con la definición de una relajación entálpica (Hodge y Berens, 1981; 1982; Thiewes y Steeneken, 1997).

#### **4.1.4.4.b. Relajación entálpica en distintas etapas del proceso.**

Con el fin de entender los efectos del procesamiento sobre esta relajación, en vistas a sus potenciales aplicaciones como variable de proceso, la misma se estudió en muestras de las etapas de proceso industrial (*grit*, G; *grit* cocido, GC; *grit* laminado GL; copo de maíz, CM) acondicionadas con diferentes contenidos de agua.

En la Figura 4-17 se observa que en todos los sistemas la entalpía de la relajación entálpica aumentó al aumentar el contenido de agua alcanzando un máximo y no fue observable a contenidos de agua mayores que 23 (%bt). Además los materiales procesados (GC, GL y CM) presentaron una mayor entalpía de relajación que el *grit* crudo, y esto fue aún

más notorio para el producto terminado. La mayor relajación observada en estos materiales se puede atribuir a que en el *grit* el almidón se encuentra nativo y es parcialmente cristalino, y la fracción cristalina no relaja. El proceso de cocción produce una pérdida de la estructura del material y aumenta la proporción correspondiente a la fracción amorfa.

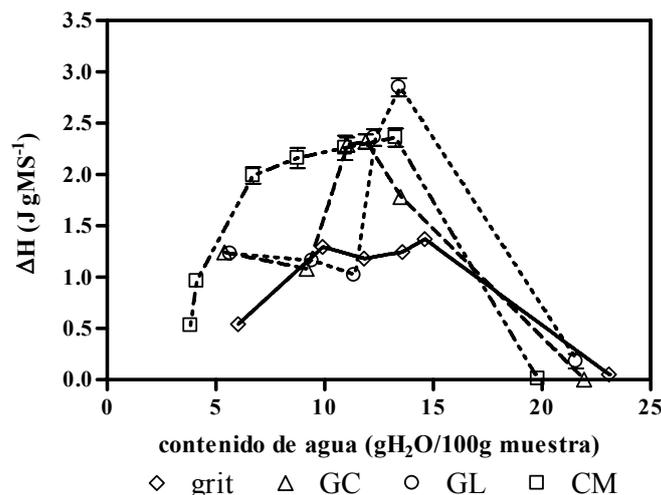


Figura 4-17: Variación de la entalpía de relajación para muestras del proceso industrial de producción de copos de maíz. Las barras de error representan la desviación estándar.

Se calculó además el índice de agudeza de pico como el cociente entre la entalpía y el ancho del pico (Figura 4-18). Este valor aumentó en forma continua para el CM, a partir de aproximadamente 11 %bt de c.a. para GC y GL y de 13 %bt para el *grit* hasta alcanzar un máximo, luego disminuyó debido a la desaparición de la transición a c.a. mayores que 23 %bt. Los mayores valores de agudeza se observaron en las muestras de copos de maíz y los menores para los *grits*.

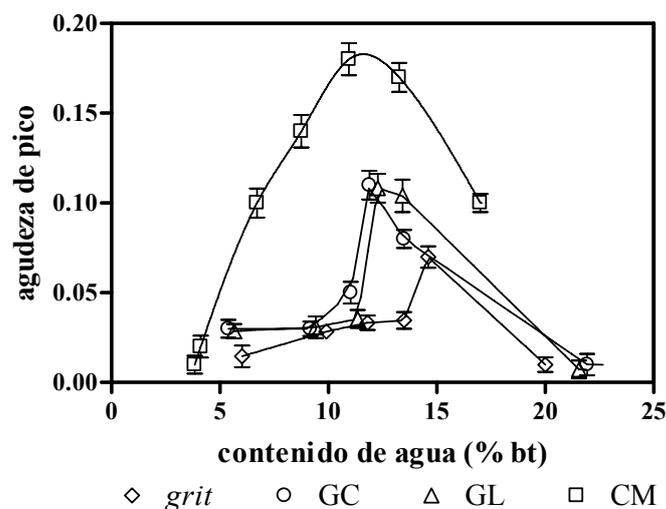


Figura 4-18: Índice de agudeza de pico para la relajación entálpica en las diferentes etapas del proceso industrial. Las barras de error representan la desviación estándar

De esta manera pudo establecerse que la forma del pico correspondiente a la relajación entálpica estuvo afectada por el procesamiento de la muestra. La relajación endotérmica se fue perfeccionando a medida que avanzó el proceso: los *grits* mostraron los menores valores de entalpía y de agudeza de pico, mientras que en las muestras procesadas los picos fueron más agudos y profundos (mayor entalpía).

#### 4.1.4.5. Gelatinización y retrogradación.

Cuando se analizaron muestras con contenido de agua mayor que 34 (%bt), preparadas por agregado de agua y equilibradas durante 24 h se observó una transición endotérmica cuya temperatura de pico varió entre 55 y 65 °C, dependiendo del tipo de muestra. Este evento se atribuyó a la gelatinización del almidón nativo para el *grit* crudo o del almidón retrogradado durante la humidificación de las muestras para GC, GL y CM. Cabe destacar que después de la cocción el almidón se encuentra totalmente gelatinizado. Esto se confirmó en las muestras cocidas en el laboratorio haciendo un experimento de DSC y observando la ausencia de pico

endotérmico de gelatinización cuando el tiempo de cocción fue mayor que 60 minutos como se discutirá en la sección 4.3.3.1.

Para representar lo que ocurre en el proceso industrial, en el que se cocina el *grit* entero humidificado, se determinó la temperatura de inicio gelatinización ( $T_{oG}$ ) en muestras de *grits* molidas y equilibradas a diferentes contenidos de agua.

En la Figura 4-19 se observa que  $T_{oG}$  disminuyó a medida que la muestra se humidificó comenzando desde un porcentaje de sólidos cercano a 90 % y luego permaneció relativamente constante a porcentajes de sólidos menores que 60 % (40 gH<sub>2</sub>O/100g muestra). A partir de ese valor el agua está en exceso y forma una fase separada del almidón que no ejerce un efecto importante sobre la temperatura de gelatinización. A contenidos de agua menores se necesita mayor temperatura para lograr la movilidad necesaria para fundir los cristales de almidón. Si el contenido de agua se reduce aún mas ocurre descomposición térmica antes de observar la gelatinización (Osella, 2002). La Figura 4-19 indica la mínima cantidad de agua requerida para realizar la cocción asegurando la gelatinización total del almidón, que en este caso es un exceso de agua con respecto al que marca la aparición de agua congelada luego de enfriar (sección 4.1.4.2). De hecho, en la cocción al vapor realizada en el laboratorio el contenido de agua final del producto fue de 45 gH<sub>2</sub>O/100g muestra en coincidencia con lo reportado por Chaunier y col. (2007). Fast (2000) reportó que pueden lograrse cocciones de *grits* para copos de maíz con contenidos de agua un poco más bajos (32 %) pero no menores que 27 %.

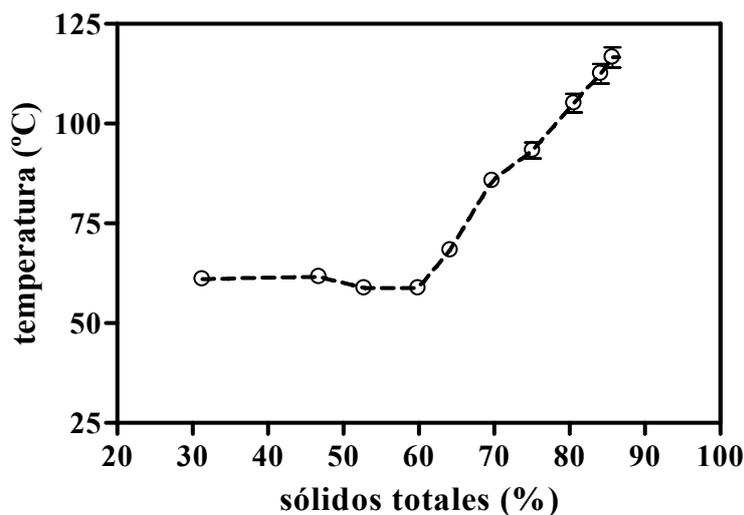


Figura 4-19: Temperatura de inicio de gelatinización para el almidón del *grit* crudo a diferentes contenidos de agua expresados como porcentaje de sólidos totales. Las barras de error representan la desviación estándar.

La temperatura de inicio de gelatinización para el almidón del *grit* crudo en exceso de agua ( $61,3 \pm 0,2$  °C) se encuentra en el rango publicado por Seetharaman y col. (2001) para maíces argentinos (media: 62,8 °C, rango: 13,7 °C). Para la temperatura de inicio de la gelatinización del almidón retrogradado éstos mismos autores publicaron una media de 40,2 °C y un rango de 2,9 °C lo cual fue algo menor que los valores encontrados en este trabajo ( $47 \pm 2$  °C). Esta diferencia, además del efecto de la variedad de maíz utilizado, es atribuible también a las modificaciones introducidas por el procesamiento ya que Seetharaman y col. trabajaron con almidones nativos purificados. En la Figura 4-20 se muestran los termogramas obtenidos para las cuatro etapas de proceso a tres humedades diferentes: la relajación entálpica, visible en las muestras de baja humedad (parte superior), deja de ser observable en las muestras con un contenido de agua de 23 %bt (centro) y en la parte inferior (agua en exceso) se observa la gelatinización del almidón.

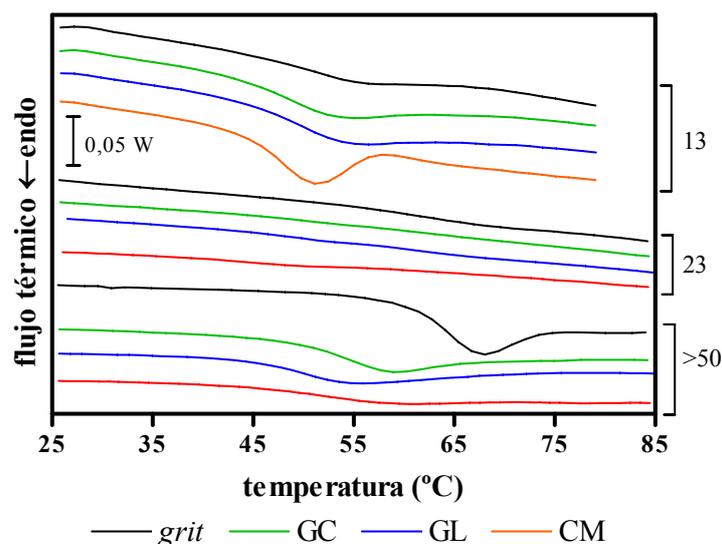


Figura 4-20: Termogramas de las etapas de proceso de producción de copos de maíz para tres contenidos de agua de aproximadamente: 13, 23 y >50 (%bt).

En la Figura 4-21 se grafica la entalpía de gelatinización en función del contenido de agua. Al aumentar el c.a. el pico fue más agudo y la entalpía aumentó. Las muestras previamente procesadas alcanzaron una entalpía máxima y constante a partir de contenidos de agua mayores que 50 (%bt), mientras que la entalpía del *grit* continuó aumentando hasta un contenido de agua de 69 (%bt). Para las muestras procesadas (GG, GL y CM) la cantidad de estructuras cristalinas producidas por la retrogradación fue menor que las existentes en el almidón nativo y, por lo tanto, se necesitó menor cantidad de agua para lograr su gelatinización completa y las entalpías fueron más bajas que para el almidón nativo del *grit*.

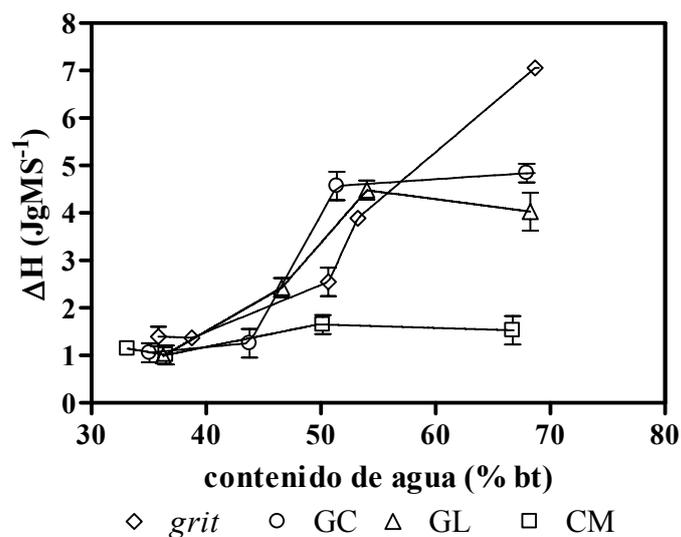


Figura 4-21: Entalpía de gelatinización del almidón nativo y retrogradado en función del contenido de agua. La entalpía se expresó por gramo de materia seca.

El índice de agudeza de pico de las muestras con contenido de agua mayor que 35 (%bt) (que en el caso de GC, GL y CM corresponde a la gelatinización de almidón retrogradado), aumentó al aumentar el contenido de agua. Cuando se analizó dicho índice en relación en las distintas etapas de procesamiento, se observó que las transiciones del almidón retrogradado tuvieron un comportamiento exactamente opuesto al de las transiciones entálpicas estudiadas en la sección previa: el valor de la agudeza del pico de gelatinización del almidón retrogradado disminuyó al avanzar el proceso de *grit* a GC, GL y CF (Figura 4-22).

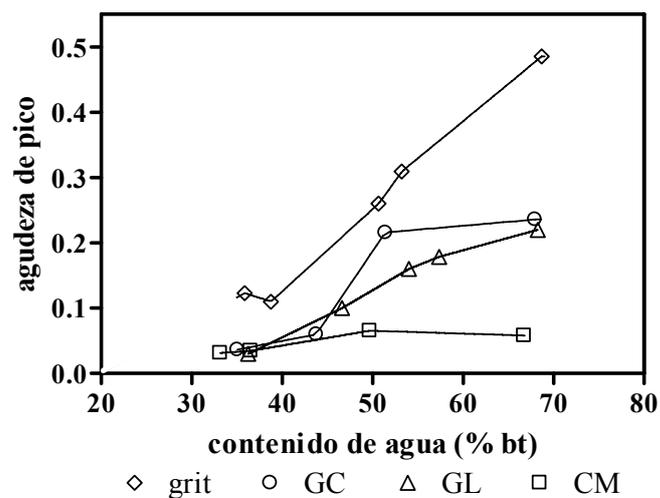


Figura 4-22: Índice de agudeza de pico para las muestras de alto contenido de agua. El error relativo en esta medición fue de un 6 %.

En la Figura 4-23 se observa la temperatura de inicio de la gelatinización ( $T_{oG}$ ) del almidón nativo (*grit*) o retrogradado (GG, GL, CM). Como es de esperarse dicha temperatura fue mayor para el *grit* que para las muestras procesadas. La temperatura de inicio de gelatinización del almidón retrogradado se mantuvo más o menos constante al aumentar el contenido de agua por encima de 35 (%bt).

Si comparamos las  $T_{oG}$  con la  $T_o$  de la relajación estudiada en la sección anterior se puede observar que las  $T_o$  más altas de la relajación entálpica coinciden con la  $T_{oG}$  del almidón retrogradado. Sin embargo, ambos eventos pueden diferenciarse por el contenido de agua al que son detectados, la relajación ocurre a contenidos de agua insuficientes para la gelatinización del almidón y, como se ha dicho, desaparece al aumentar el contenido de agua por encima de 25 % bt.

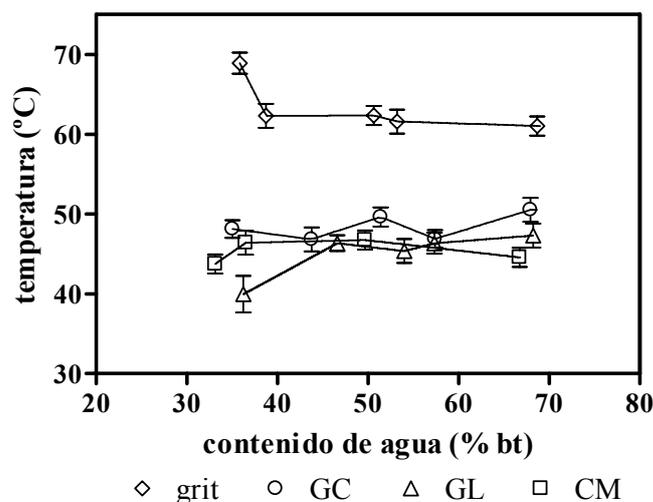


Figura 4-23: Temperatura de inicio de gelatinización en función del contenido de agua para las muestras con contenido de agua mayor a 35 (%bt) en las distintas etapas de proceso.

De esta manera, tanto las menores, temperatura de inicio y entalpía de gelatinización como la menor agudeza del pico pueden asociarse a la formación de cristales menos perfectos durante la retrogradación en las muestras sometidas a mayor procesamiento térmico. En comparación, las entalpías y la agudeza de los picos correspondientes a la relajación entálpica fueron mayores en las muestras más procesadas, lo que confirma que se trata de un evento ligado a las regiones amorfas. Esto confirma que en este tipo de materiales hay transiciones, más allá de  $T_g$ , asociadas con la fase amorfa.

#### 4.1.5. Movilidad molecular de protones por $^1\text{H}$ -RMN

A partir del estudio de los tiempos de relajación espín-espín en función del contenido de agua y la temperatura puede obtenerse información acerca de la movilidad de los protones que pertenecen a los sólidos y/o a al agua, dependiendo de la secuencia de pulsos empleada.

En la Figura 4-24 (A y B) se observan los valores de  $T_2$  obtenidos a partir del análisis del decaimiento libre de la inducción ( $T_{2\text{FID}}$ ) en función de la temperatura para copos de maíz

comunes (CMC) (A) y azucarados (CMA) (B) a diferentes contenidos de agua. El valor de  $T_{2FID}$  aumentó al aumentar el contenido de agua y la temperatura lo cual reflejó un aumento en la movilidad de los protones en los sólidos (Ruan, 1998) y en las moléculas de agua estrechamente asociadas a ellos. En las muestras de copos de maíz comunes con contenidos de agua de 11,0, 15,6 y 16,4 (%bs) se pudo observar un cambio de pendiente en la gráfica. Este cambio de pendiente ocurrió, en una dada muestra, a una temperatura cercana a la de su  $T_g$  medida por DSC (entre 7 y 10 °C superior a la temperatura de inicio de  $T_g$  predicho por la ecuación de G-T). En este experimento la muestra solo pudo calentarse hasta 80 °C porque a temperaturas más altas se produjeron apreciables pérdidas de humedad. Para las muestras con contenido de agua menor que 10 % la  $T_g$  está a temperaturas más altas que la experimentalmente accesible y por lo tanto no pudo ser medida.

En los sistemas más complejos como el caso de los copos de maíz azucarados (Figura 4-24 B) este cambio en la pendiente fue menos marcado, pero detectable. Esto pudo deberse a que el azúcar cristalizado redujo la proporción de material amorfo en peso. Adicionalmente, es probable que los componentes adicionales, como el azúcar que pudiera haber ingresado a la matriz vehiculizado en la solución de cobertura, hagan que la transición vítrea ocurra en un rango más amplio de temperatura y sea difícil de definir debido a la contribución de cada componente. Los valores de temperaturas de cambio de pendiente de  $T_{2FID}$  para los CMA no pudieron compararse con los valores de  $T_g$  obtenidos por DSC ya que, como se explicó anteriormente, no se pudieron determinar por este último método.

Como consecuencia de su conexión con la movilidad molecular, Lin y col. (2006) relacionaron las pendientes de las gráficas de  $T_{2FID}$  vs. temperatura debajo de  $T_g$  con la velocidad de los cambios producidos durante el almacenamiento. En dichos gráficos, una pendiente distinta de cero a temperaturas menores que la de transición indica que existe

movilidad a temperaturas inferiores a la de transición vítrea (Lin y col., 2006). Como se muestra en la Figura 4-24 (A y B), los copos de maíz comunes mostraron una pendiente positiva mayor que los azucarados por debajo de  $T_g$ , lo que indica que al aumentar la temperatura la movilidad de los protones aumentó más rápido en los CMC que en los CMA. De acuerdo con esto, podría pensarse que los copos de maíz comunes son más susceptibles a manifestar cambios por debajo de  $T_g$  que los azucarados.

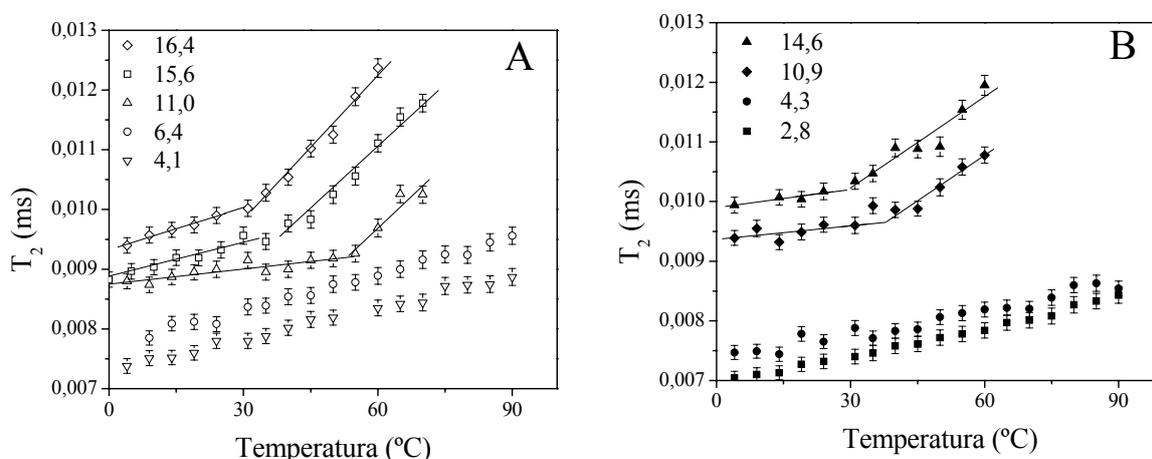


Figura 4-24: Relación entre  $T_{2FID}$  y temperatura para copos de maíz comunes (A) y azucarados (B) para diferentes contenidos de agua (%bs) que se indican junto al símbolo correspondiente.

A pesar de la probada movilidad molecular en el estado vítreo (Ablett, 1993), la menor movilidad observada en los CMA puede ser una consecuencia de la habilidad del agua de rellenar pequeñas cavidades, reforzada por el azúcar cristalizado en la superficie.

Las mediciones de tiempos de relajación mayores que el orden de decenas de microsegundos sufren la influencia de las inhomogeneidades del campo magnético. Por lo tanto, para determinar las poblaciones de protones correspondientes a tiempos de relajación mayores adecuadamente, se necesita utilizar una técnica de reenfoque. La medición de los tiempos de relajación espín-espín utilizando secuencias de pulsos permite medir constantes de

relajación mayores que la técnica FID. La aplicación de dichas secuencias permite re-enfocar la señal (eco) y hacer que el decaimiento de la misma solo dependa de la relajación y no de inhomogeneidades en el campo magnético. El eco de espín puede entonces utilizarse para diferenciar poblaciones de protones con diferente movilidad en función del contenido de agua y estudiar la relajación de los protones del agua que ocurre después de que los correspondientes a los sólidos y a las moléculas de agua asociadas a ellos hayan relajado.

Aplicando la secuencia de pulsos de eco de espín de Hahn (1950) se pueden obtener dos valores de constantes de relajación las cuales están relacionadas a los protones de los sólidos y del agua con diferente grado de interacción con el sólido.

En ambos sistemas CMC y CMA (Figura 4-25 A y B) el análisis de los resultados de la medición de  $T_2$  por ecos de espín de Hahn mostró que en las muestras con contenidos de agua de hasta 6,5 o 5,0 (%bs) sólo estaba presente una componente con un tiempo de relajación que varió de 25 a 30  $\mu$ s. Estos valores de contenido de agua están cerca del correspondiente al agua límite de hidratación ( $m_0$ ) obtenido a través de la ecuación de GAB (Tabla 4-3). Los menores tiempos de relajación (indicados como  $T_{2SHahn}$ ) correspondieron a los protones de los sólidos y del agua estrechamente relacionada con ellos (el valor de  $T_{2SHahn}$  fue diferente del de  $T_{2FID}$  debido a que fue obtenido por una técnica diferente). Cuando se encontraron dos poblaciones de protones las constantes de tiempo de relajación mayores fueron designadas como  $T_{2LHahn}$  y correspondieron a poblaciones de protones con mayor movilidad y por lo tanto con menor interacción con los sólidos como fueran descritas por Chen y col. (1997) y Choi y Kerr (2003).

A contenidos de agua de aproximadamente 13,5 %bs se observó un suave cambio en la pendiente del gráfico de  $T_{2SHahn}$  vs. c.a. en las muestras de CMC. A este contenido de agua la  $T_g$  de la muestra está cerca de la temperatura de operación de la celda de medición del equipo

de  $^1\text{H RMN}$  (que para este experimento fue de  $40\text{ }^\circ\text{C}$ ). Este cambio en la dependencia de  $T_{2\text{SHahn}}$  con el contenido de agua reflejó una mayor movilidad de los protones a medida que aumentó el contenido de agua pero fue menos pronunciado que el cambio de pendiente de la gráfica de  $T_{2\text{FID}}$  (Figura 4-24).

El aumento de los tiempos de relajación con el contenido de agua para las poblaciones de protones mas móviles también fue descrito por otros autores (Acevedo y col., 2008). A contenidos de agua mayores que el valor de  $m_0$  obtenido por la ecuación GAB se observó la aparición de una población caracterizada por un tiempo de relajación más largo ( $T_{2\text{LHahn}}$ ) cuya constante de relajación aumentó de 0,4 a 2,5 ms a medida que aumentó el contenido de agua. A partir de aproximadamente 1 ms los valores de  $T_{2\text{LHahn}}$  se hicieron constantes para CMC.

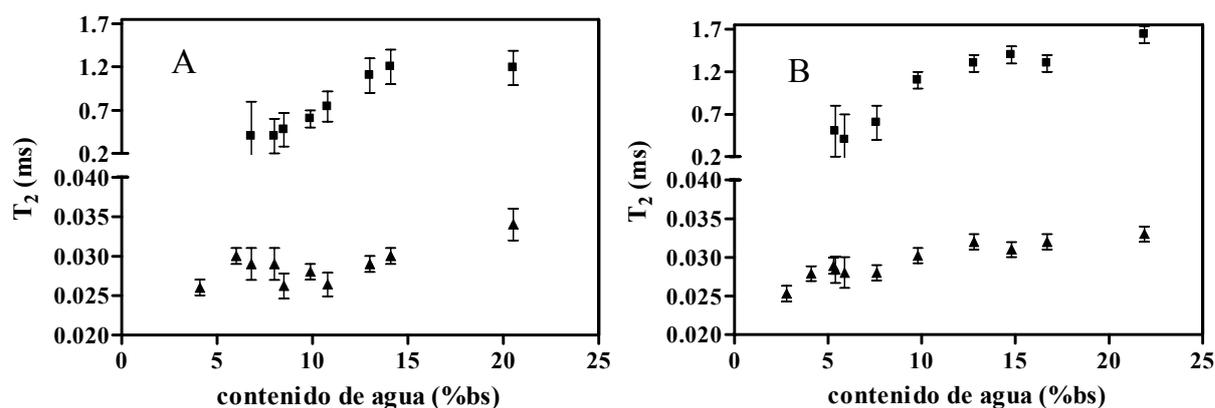


Figura 4-25: Constantes de relajación ( $T_2$ ) vs. contenido de agua para CMC (A) y CMA (B) medido por eco de espín de Hahn, las barras de error indican la DE.  $T_{2\text{S}}$  ( $\blacktriangle$ ): población con tiempos de relajación cortos.  $T_{2\text{L}}$  ( $\blacksquare$ ): población con tiempos de relajación más largos.

La intensidad de la señal de  $^1\text{H RMN}$  (“A” en las ecuaciones 3-9 y 3-10) que corresponde a una dada población de protones ofrece una estimación relativa de la cantidad de protones que contribuyen a esa población. En la Tabla 4-11 se detallan los valores de intensidad de la señal expresados como porcentaje del valor total de la señal para las

poblaciones de protones detectadas ( $A_1$  correspondiente a  $T_{2SHahn}$  y  $A_2$  que corresponde a  $T_{2LHahn}$ ). En el caso de  $T_{2LHahn}$  la intensidad de la señal aumentó con el contenido de agua, indicando un aumento en el número de moléculas de agua que contribuyen a ella. Concomitantemente disminuyó el porcentaje correspondiente a  $T_{2SHahn}$ .

Tabla 4-11: Intensidad de las señales de  $^1H$ -RMN correspondientes a las dos componentes del ajuste de la ecuación de decaimiento ( $A_1$  y  $A_2$ ) a los datos obtenidos por la técnica de eco de espín de Hahn para las muestras con diferente contenido de agua. Los valores se expresaron en porcentaje de la señal total. Media (desviación estándar).

muestra	contenido de agua (%bs)	$A_1$ (%)	$A_2$ (%)
CMC	2,5 (0,1)	100	
	4,1 (0,1)	100	
	6,0 (0,1)	100	
	8,5 (0,1)	91 (5)	9 (2)
	10,8 (0,1)	86 (3)	14 (2)
	13,8 (0,1)	81 (3)	19 (2)
	20,5 (0,2)	72 (1)	28 (1)
CMA	2,8 (0,1)	100	
	4,1 (0,1)	100	
	5,9 (0,1)	94 (2)	6 (2)
	9,8 (0,1)	78 (1)	22 (1)
	12,8 (0,2)	73 (1)	27 (1)
	14,8 (0,1)	69 (1)	31 (1)
	22,0 (0,3)	61 (1)	39 (1)

La secuencia de pulsos de Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) es capaz de detectar poblaciones de agua con mayor movilidad que la técnica de eco de espín con la secuencia de

Hahn. Como a través de la secuencia CPMG solo se puede determinar tiempos de relajación con valores mayores al primer tiempo de interpulso ( $\tau$ ) los protones de las moléculas de agua con fuerte interacción con los sólidos no son detectables por esta técnica (Ruan y Chen, 1998b). Por lo tanto, se empleó la secuencia CPMG para el análisis de muestras de copos de maíz con c.a. mayores que 25 %bs.

En la Figura 4-26 se observan los tiempos de relajación obtenidos por CPMG para copos de maíz comunes (A) y azucarados (B). Para muestras con contenidos de agua inferiores a 20 %bs (14 en el ejemplo) el ajuste del decaimiento de la señal solo pudo hacerse a través de un modelo monoexponencial, mientras que para contenidos de agua iguales o mayores que 25 %bs, los datos obtenidos por ecos de espín luego de aplicar la secuencia CPMG se ajustaron a través de un modelo con dos poblaciones de protones. Las muestras con un contenido de agua de 14%bs presentaron un  $T_2$  de  $0,9\pm 0,02$  ms para CMC y  $1,1\pm 0,01$  ms para CMA. Para los CMC con contenido de agua a partir de 25 %bs se observaron dos poblaciones de protones, una con un tiempo de relajación que fluctuó alrededor de los 0,5 ms y se mantuvo prácticamente constante al aumentar el contenido de agua ( $T_{2SCPMG}$ ), y otra cuyo tiempo de relajación aumentó continuamente desde 3 hasta 6,7 ms al aumentar el contenido de agua ( $T_{2LCPMG}$ ). Es interesante notar que a partir de un contenido de agua de 29 %bs (23 gH<sub>2</sub>O/100g muestra) se detectó agua congelada después de enfriar la muestra en el DSC. Para los CMA (B) a partir de un contenido de agua de 27 %bs se detectaron dos poblaciones de protones por CPMG, la más rápida presentó un tiempo de relajación de  $0,8\pm 0,04$  ms que aumentó a  $4,8\pm 0,06$  ms al aumentar el contenido de agua a 42 %bs. La segunda población presentó un  $T_2$  de  $4,7\pm 0,06$  ms para 27 %bs de agua que aumentó considerablemente al aumentar el contenido de agua a 42 %bs ( $54\pm 1$  ms). Este importante aumento puede explicarse por el efecto del agua sobre los cristales de sacarosa de la superficie de los copos.

Teniendo en cuenta que el efecto solvente del agua sobre la sacarosa cristalina se observa a actividades de agua superiores a 0,86 (Figura 4-2), que según la isoterma de sorción de los copos azucarados (Figura 4-1 D) este valor de  $a_w$  corresponde a contenidos de agua superiores a 40 %bs y que los cristales de sacarosa dejaron de ser visibles en las mencionadas muestras, puede asumirse que con un contenido de agua de 42 %bs estamos en la zona en que el agua disuelve los cristales y se forma una solución saturada en la superficie de los copos. Padua y Schmidt (1992) reportaron que los tiempos de relajación para los protones de soluciones de distintos azúcares aumentan con el aumento de la concentración de los mismos, y que cerca de la saturación el  $T_2$  se hace dependiente del azúcar empleado. Dichos autores encontraron un valor de 71 ms para soluciones de sacarosa con una concentración de 1,6  $g_{sacarosa}/g_{H_2O}$  (la solubilidad de la sacarosa es de 2  $g/g_{H_2O}$  (Gharsallaoui y col., 2008)). Por lo tanto, el aumento del tiempo de relajación observado en los CMA podría estar influido por la solubilización de la sacarosa cristalina de la superficie y por la contribución de los protones de esa solución saturada.

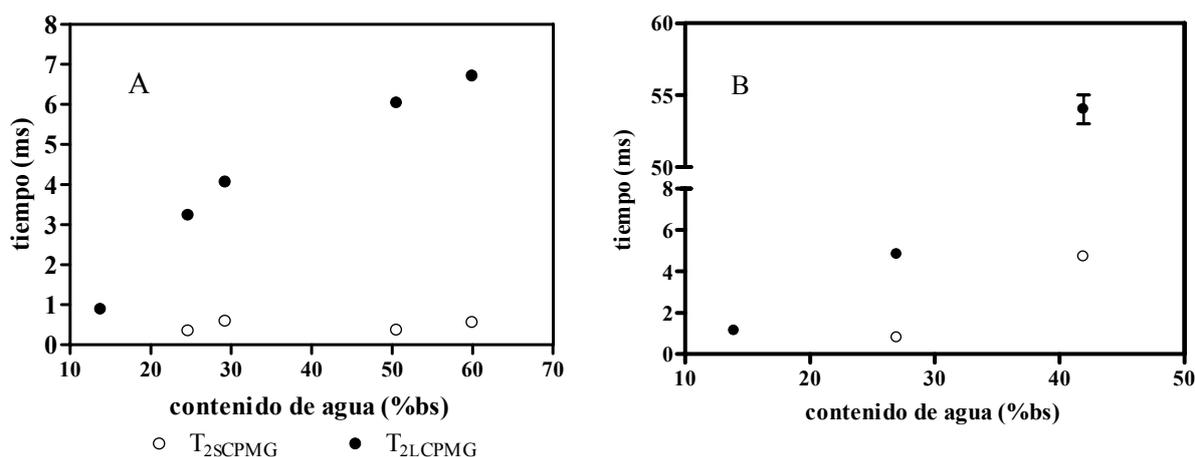


Figura 4-26: Tiempos de relajación determinados por CPMG para muestras con alto contenido de agua. A: copos de maíz comunes y B: azucarados. Se observa que para las muestras con una humedad de 14 %bs solo puede detectarse una población por esta técnica. Las barras de error se encuentran enmascaradas por los puntos debido a la escala.

En la Figura 4-27 se muestran las poblaciones de protones que pudieron determinarse por las diferentes técnicas de  $^1\text{H}$ RMN, dependiendo del contenido de agua de la muestra, como se discutió en esta sección. Se muestran los datos de copos de maíz comunes porque son representativos de las propiedades del material sin el efecto del azúcar agregado a la superficie. Se empleó una escala de tiempo logarítmica para poder mostrar todos los valores, que como vimos tienen diferencias de varios órdenes de magnitud, en un mismo eje. La zona I está delimitada por el valor de  $m_0$  determinado por la ecuación de GAB (6,2 %bs para CMC). En esta zona solo pudo observarse una única población de protones caracterizada por un tiempo de relajación de alrededor de  $8 \mu\text{s}$  determinado por FID o del orden de  $30 \mu\text{s}$  cuando se midió utilizando la técnica de eco de espín de Hahn ( $T_{2\text{SHahn}}$ ).

A partir de la zona II o de agua de “multicapa” se diferenciaron dos poblaciones de protones. Esta zona está delimitada entre contenidos de agua que en su valor inferior están cercanos al valor de  $m_0$  de GAB y en su valor superior a la zona de aparición de agua congelada luego de enfriar a  $-70 \text{ }^\circ\text{C}$  (determinada por DSC, a un contenido de agua de 29 %bs). En esta zona se caracterizaron dos poblaciones de protones:  $T_{2\text{SHahn}}$ , es la misma población, perteneciente a los sólidos y al agua íntimamente asociada a ellos, que se ve en la zona I y  $T_{2\text{LHahn}}$  que correspondería a los protones de la llamada agua de “multicapa”.

A partir de 29 %bs de agua se definió la zona III de la isoterma o de “agua libre”. En esta zona se hacen importantes los fenómenos de difusión y por lo tanto la técnica de eco de espín de Hahn no es la más adecuada para su estudio. Los valores de  $T_2$  para estas muestras se obtuvieron por la secuencia CPMG. El tiempo de relajación de la población caracterizada por el  $T_2$  más corto ( $T_{2\text{SCPMG}}$ ) se mantuvo relativamente constante en esta zona alrededor de 0,50 ms. Este  $T_2$  fue más corto que el medido a través del eco de espín de Hahn, esto pudo deberse al que el uso de técnicas diferentes de reenfoque produjo diferencias en la medición de una

misma población. El tiempo de relajación de la población con  $T_2$  más largos ( $T_{2LCPMG}$ ) aumentó hasta 6,7 ms al aumentar el contenido de agua hasta 60 %bs (37,5 gH<sub>2</sub>O/100g muestra). Esta población fue atribuida al agua más móvil o agua “libre”.

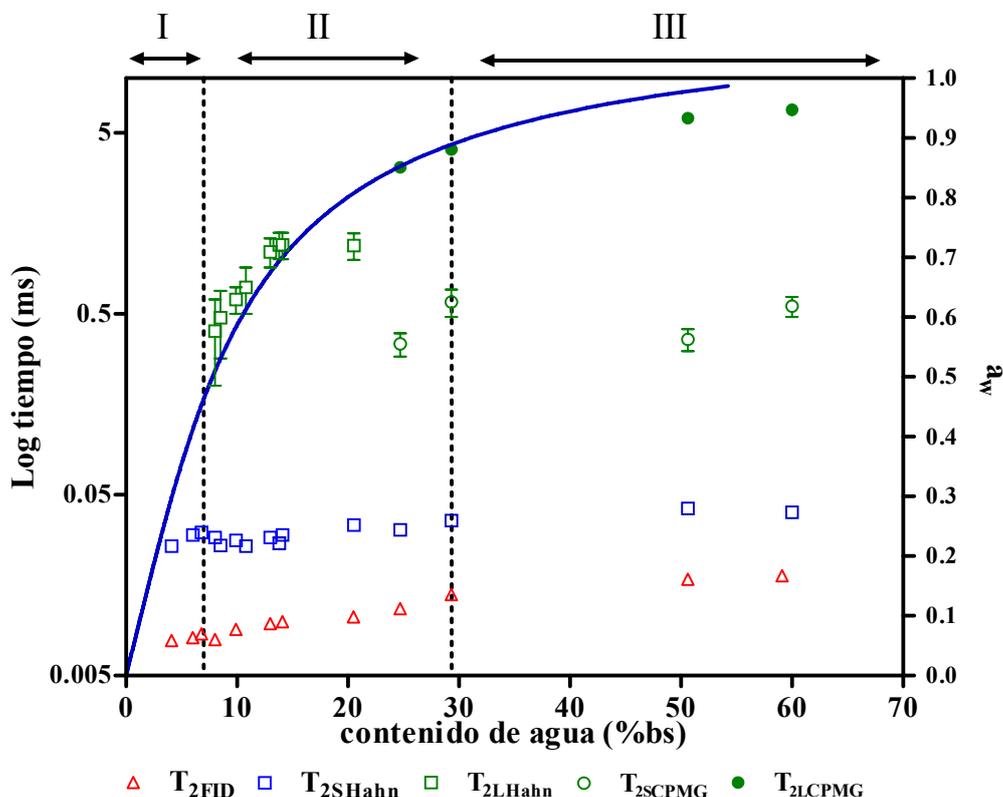


Figura 4-27: Poblaciones de protones detectadas por RMN comparadas con la isoterma de sorción ajustada por GAB (línea azul). Las líneas de punto delimitan las tres regiones de la isoterma: I: agua límite de hidratación, II: agua de movilidad intermedia, III: agua de mayor movilidad. El eje de tiempo se transformó a logaritmo para poder representar todos los valores en un mismo gráfico.

Es de hacer notar que en las últimas décadas se vienen cuestionando conceptos tales como “agua ligada”, “agua de monocapa”, “agua de multicapa” y “agua libre”, los cuales, si bien existe consenso sobre su relación con la isoterma de sorción de agua, no son estrictamente correctos y se desaconseja su empleo (Wolfe y col., 2002; Pal y col., 2004; Chinachoti y Vittadini, 2006; Sherwing y Labuza, 2006). Como se discutió en esta sección, el análisis de las poblaciones de protones con distintos tiempos de relajación permite distinguir con precisión las distintas zonas de la isoterma. Por lo tanto, en esta sección se ejemplifica

cómo el análisis por  $^1\text{H}$ -RMN representa una forma más adecuada de definir el estado de movilidad del agua y relacionarla con procesos tecnológicos y parámetros de calidad de los alimentos.

#### 4.1.6. Propiedades mecánicas

Se estudiaron los cambios en las propiedades mecánicas de los copos de maíz comunes (CMC) en función del contenido de agua mediante la prueba de compresión descrita en la sección 3.9.

Las características mecánicas de los copos de maíz comerciales provenientes de un envase recién abierto se observan en la Figura 4-28 en la que se representa una curva típica de fuerza (F) vs. distancia (d) para dicha matriz, representativa de las mediciones realizadas.

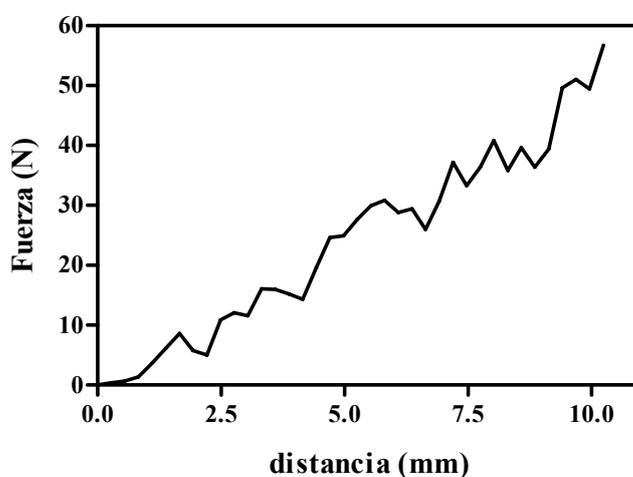


Figura 4-28: Curva típica de fuerza vs. distancia para copos de maíz comunes, muestra con un contenido de agua de 5,0 (%bs).

La curva mostró un comportamiento típico de este tipo de alimentos. Inicialmente se observó una zona no lineal debido a que la superficie de la muestra no es plana y se necesita algún tiempo para que el pistón tome íntimo contacto con la muestra. Además, en esta primera etapa se produce el acomodamiento de los copos de la superficie y expulsión del

aire entre ellos. Luego sigue una zona de incremento lineal de la fuerza donde la curva presenta un perfil aserrado. En esta zona se producen sucesivas rupturas y acomodamiento de los fragmentos bajo compresión. La acumulación de fragmentos bajo el pistón hizo que la fuerza aumente constantemente por compactación hasta que se detenga el émbolo de compresión.

El comportamiento representativo ante la compresión para copos de maíz con diferente contenido de agua (5,0 a 20,0 %bs) puede observarse en la Figura 4-29. La tensión aparente o esfuerzo ingenieril ( $\sigma_E$ ) y la deformación aparente ( $\epsilon_E$ ) fueron calculadas a partir de los datos de fuerza-distancia según las ecuaciones 3-11 y 3-12.

Al aumentar el contenido de agua (de 5,0 %bs a 15,1 %bs) se observó un incremento en la fuerza necesaria para comprimir la muestra y una reducción en el perfil aserrado de las curvas indicando una disminución en el número de fracturas producidas durante la compresión. Con un incremento aún mayor del contenido de agua (19,8 %bs) la fuerza necesaria para comprimir la muestra disminuyó y el perfil de las curvas se suavizó completamente.

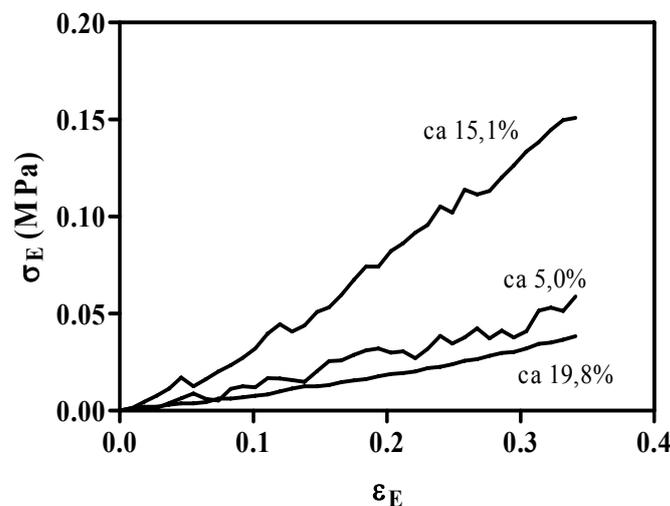


Figura 4-29: Curvas de tensión aparente (esfuerzo ingenieril) versus deformación aparente para copos de maíz comunes con diferente contenido de agua.

Con el propósito de evaluar cuantitativamente el efecto del contenido de agua en el perfil de las curvas de compresión, se utilizó un modelo de polinomio de tercer orden (ecuación 3-14) para caracterizar las mismas. En la Figura 4-30 se muestran de modo representativo las curvas de compresión y el modelo propuesto para 3 muestras de copos de maíz con diferente contenido de agua. Las muestras fueron elegidas por ser representativas del comportamiento general observado. La dispersión de los residuos de ajuste se utilizó como una medida del perfil aserrado de las curvas (Barret y col., 1992; Ulbricht y col., 1995; Gondek y Lewicki, 2006; Corradini y Peleg, 2008). A partir de un contenido de agua de 15 %bs las curvas se volvieron más suaves y con un perfil menos aserrado (Figura 4-30). De esta manera, el ajuste del modelo se fue incrementando y los residuos disminuyeron. Los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) fueron de 95,0 % para los contenidos de agua más bajos (5 a 8 %bs) y subieron a 99,9 % para las muestras de mayor humedad (17 a 20 %bs) indicando que entre el 95,0 % y el 99,9 % de la variación en el esfuerzo ingenieril fue adecuadamente caracterizada por dicho modelo.

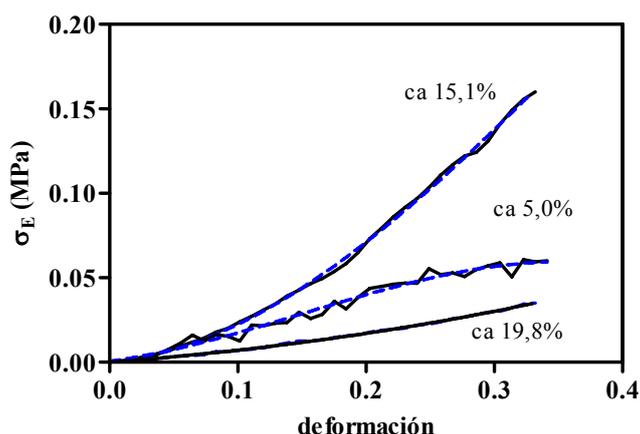


Figura 4-30: Curvas experimentales de compresión (—) y modelo polinómico de orden 3 (---) para muestras de copos de maíz con contenido de agua diferente, representativas de los comportamientos observados.

En la Figura 4-31 se muestra el cambio en los residuos de ajuste de las curvas de tensión de deformación en función del contenido de agua.

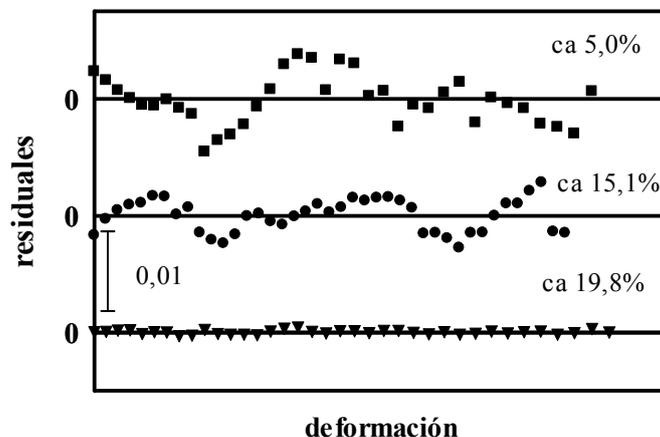


Figura 4-31: Residuos de ajuste de las curvas de fuerza versus deformación para tres contenidos de agua diferentes.

Adicionalmente, se calculó la desviación estándar de los residuales provenientes del ajuste del modelo seleccionado a las curvas de compresión. En la Figura 4-32 se representa dicha desviación estándar en función del contenido de agua de los copos de maíz. A humedades entre 5,0 % y 12,5 % se observó una tendencia al incremento en la dispersión de los residuos que puede explicarse por el aumento en la tensión de deformación, las curvas tienen mayor pendiente en el rango de humedades mencionado. Esto hace que la fuerza necesaria para lograr cada fractura sea mayor y por lo tanto aumente la magnitud de los saltos que se producen con la caída en la resistencia luego de la ruptura. A humedades mayores que 12,5 %bs, la dispersión de los residuos disminuyó rápidamente, en coincidencia con obtención de curvas de compresión más suavizadas. La pérdida del perfil irregular de las curvas de compresión indicó un cambio en el mecanismo de compresión; a bajos contenidos de agua predominó el comportamiento frágil de fractura mientras que a altos contenidos de agua podría ocurrir deformación plástica y aplastamiento de las paredes de las celdas de aire.

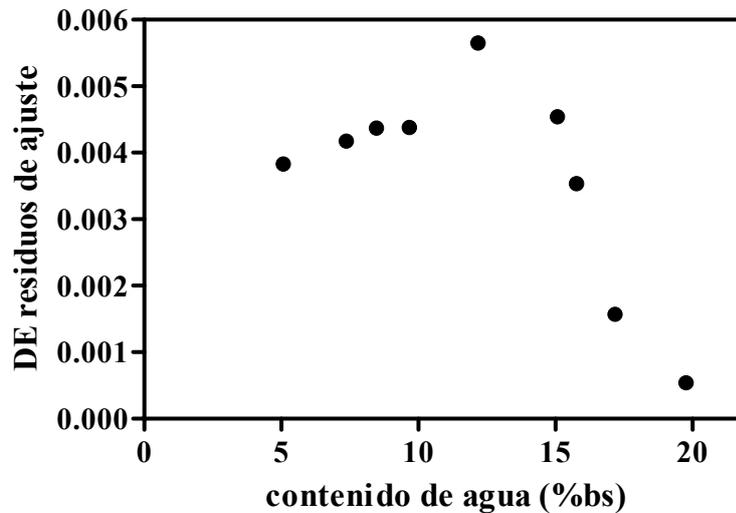


Figura 4-32: Desviación estándar de los residuos de ajuste del modelo polinómico de orden 3 a las curvas de tensión vs. deformación de muestras de copos de maíz con diferente humedad.

Los copos de maíz son sólidos de tipo celular, esto es, poseen una estructura porosa consistente en una matriz sólida, rodeada de espacios de aire (Gondek y Lewicki, 2006; Chaunier y col., 2007) tal como lo muestra una micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido del corte transversal de un copo de maíz (Figura 4-53, Pág. 4-221). Los sólidos celulares crujientes son difíciles de deformar pero se rompen fácilmente. El comportamiento mecánico de este tipo de materiales en función del contenido de agua ha sido explicado en detalle por Luyten y col. (2004). A contenidos de agua muy bajos los copos de maíz se comportan como sólidos frágiles y la deformación necesaria para la ruptura es muy pequeña. Al ser aplastados ocurren una serie de eventos de fractura sucesivos que involucran la deformación y fractura repetitiva de diferentes capas en el producto. De esta manera a medida que los copos son comprimidos el incremento en la fuerza va acompañado de subsecuentes eventos de fractura. Cada fractura conlleva una caída en la resistencia, la compresión continúa y la fuerza vuelve a aumentar para luego disminuir con la siguiente fractura (Figura 4-33). A medida que la compresión progresa los fragmentos se acomodan ocupando los espacios vacíos y la muestra se vuelve más difícil de comprimir.

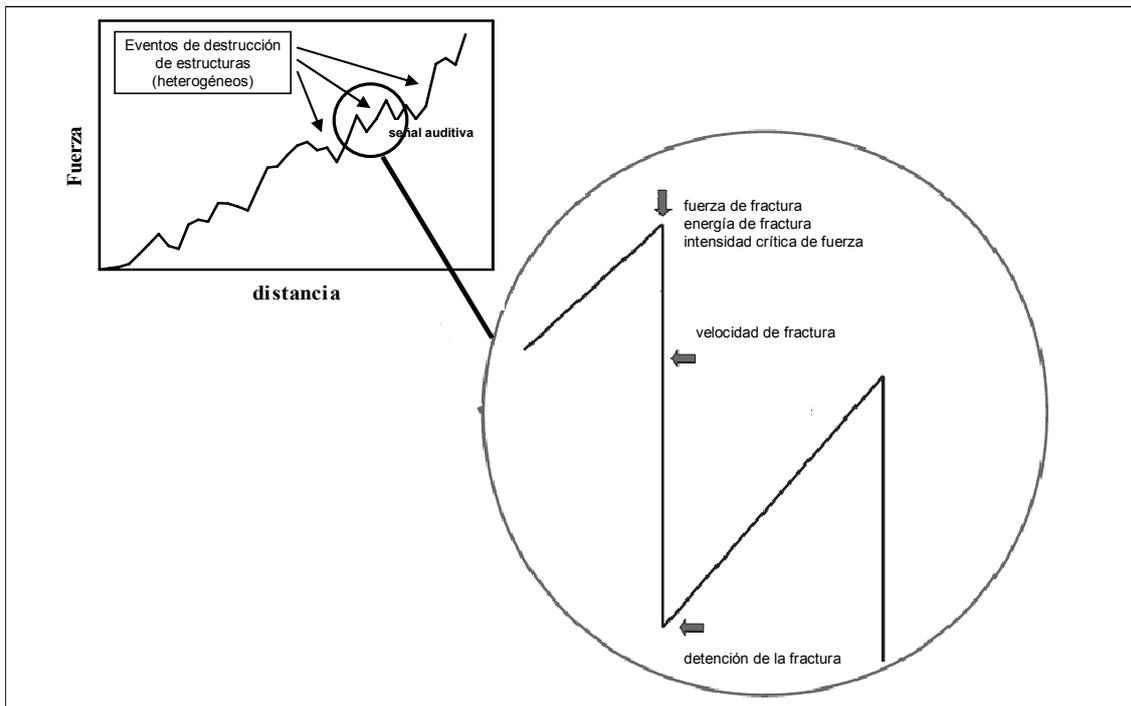
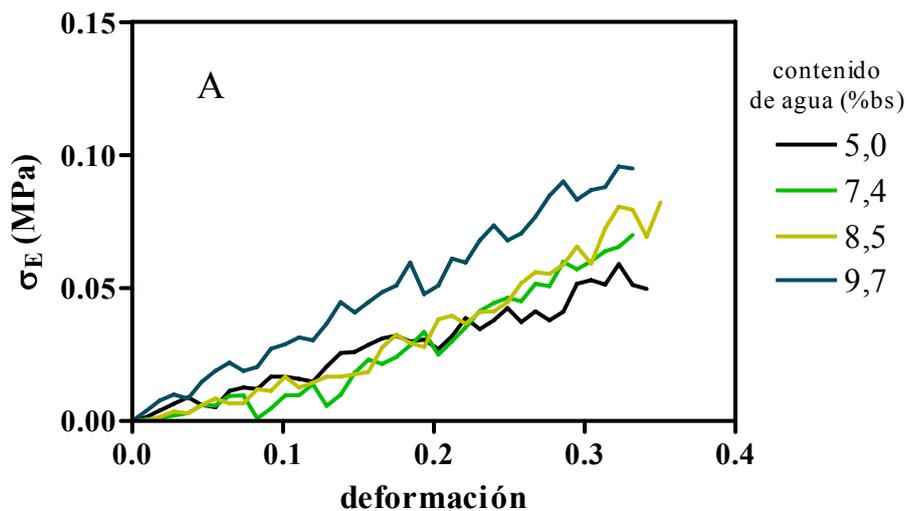


Figura 4-33: Curva teórica de fuerza vs. deformación para un material crocante, se muestran las diferentes propiedades. Uno de los eventos de fractura está ampliado. Los parámetros relevantes para cada evento se indican con flechas gruesas. Adaptado de Luyten y col. (2004).

En la Figura 4-34 (A y B) se muestra una curva de tensión vs. deformación para cada contenido de agua estudiado como ejemplo de las curvas obtenidas.



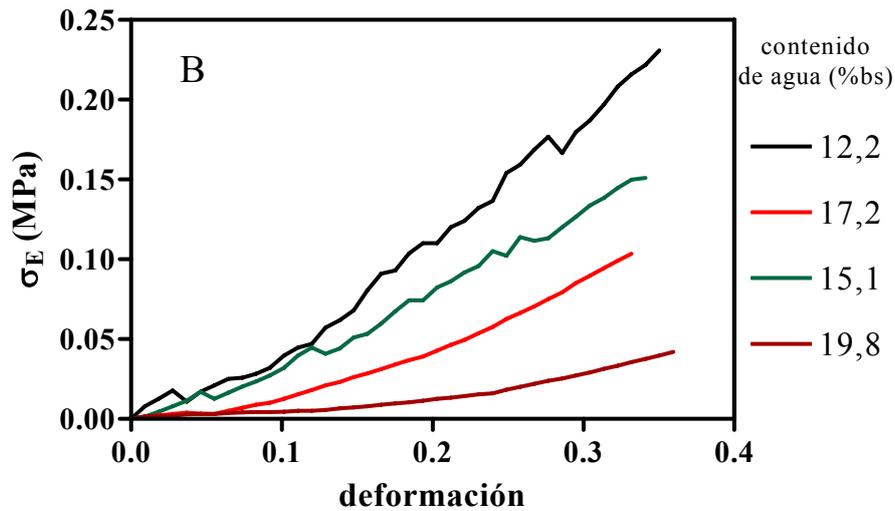


Figura 4-34: Curvas de tensión vs. deformación para copos de maíz con diferentes contenidos de agua expresados en base seca.

A partir de las curvas de compresión se midió la tensión que se alcanzó a la máxima deformación (tensión máxima,  $\sigma_E^m$ ) y se calculó el módulo de deformabilidad ( $E_d$ ) como la pendiente en la zona lineal de la curva (Rodríguez-Sandoval y col., 2008) tal como se describe en materiales y métodos (3.9), los valores obtenidos se muestran en la Tabla 4-12. En el cálculo de  $E_d$  para muestras de alimentos se consideró la deformación total, ésta incluye la deformación plástica y elástica hasta un valor prefijado, el cual depende de la muestra en estudio (Mohsenin y Mittal, 1977). La primera parte de la curva de compresión, que correspondió al acomodamiento de los copos de la parte superior y no a la compresión propiamente dicha, no se utilizó en el cálculo mencionado.

Tabla 4-12: Valores medios de  $\sigma_E^m$  y  $E_d$  y sus correspondientes desvíos estándar (DE) para copos de maíz a diferentes contenidos de agua.

Contenido de agua (%bs)*	$\sigma_E^m$ (MPa)	$E_d$ (MPa)
5,0 (0,1)	0,06 (0,01)	0,16 (0,04)
7,4 (0,1)	0,07 (0,004)	0,19 (0,05)
8,5 (0,2)	0,08 (0,01)	0,21 (0,05)
9,7 (0,1)	0,14 (0,02)	0,31 (0,05)
12,2 (0,1)	0,21 (0,03)	0,53 (0,15)
15,1 (0,2)	0,17 (0,01)	0,39 (0,13)
17,2 (0,1)	0,11 (0,02)	0,26 (0,08)
19,8 (0,2)	0,06 (0,01)	0,10 (0,03)

\* gH<sub>2</sub>O/100g materia seca

Los valores de  $\sigma_E$  a la máxima deformación fueron de 0,06 MPa para los copos de maíz más secos (5,0 %bs) y se incrementaron a medida que aumentó el contenido de agua hasta alcanzar un valor máximo de 0,21 MPa para la muestra con un c.a. de 12,2 %bs. Con posteriores incrementos en el contenido de agua la tensión máxima disminuyó para alcanzar valores de 0,06 MPa para un contenido de agua de 19,8 %bs. Los valores de  $E_d$  presentaron un comportamiento similar respecto del contenido de agua de la muestra. El valor máximo se encontró a un c.a. de 12,2 %bs y fue de 0,53 MPa.

Con el objetivo de describir el la variación de  $\sigma_E^m$  y  $E_d$  con el incremento del contenido de agua se ajustó una función lorentziana (Peng y Lu, 2005, Yang y col., 2010), la cual mostró ser la que exhibió un mejor ajuste a los datos experimentales (ecuación 3-15). En la Tabla 4-13 se detallan los parámetros de ajuste para cada función:  $A$  representa el valor máximo alcanzado por la función (0,2 MPa y 0,48 MPa para  $\sigma_E^m$  y  $E_d$  respectivamente),  $X_0$  en

este caso es el contenido de agua al que se produjo el máximo que fue cercano a 13 %bs,  $\gamma$  es una medida del ancho de la curva y  $b$  representa el valor mínimo o asintótico de la función lorentziana, para  $\sigma_E^m$  este valor fue muy cercano a cero y para  $E_d$  el intervalo del 95 % de confianza para  $b$  incluyó al cero indicando que ambas funciones alcanzan valores muy bajos tanto para contenidos de agua bajos como altos.

Tabla 4-13: Parámetros de ajuste a la ecuación lorentziana para  $\sigma_E^m$  y  $E_d$  (error estándar).

Parámetro	$\sigma_E^m$	$E_d$
$A$ (MPa)	0,20 (0,01)	0,48 (0,05)
$X_0$ (%)	12,9 (0,1)	12,8 (0,2)
$\gamma$ (%)	3,5 (0,5)	3,2 (0,7)
$b$	0,03 (0,01)	0,06 (0,05)
$R^2$	0,8786	0,6645
<i>bias factor</i>	1,01	1,10

El ajuste de los modelos se evaluó mediante el factor de sesgo o *bias*, como se ve en la Tabla 4-13 los valores fueron muy cercanos a uno indicando que la desviación de los valores predichos es pequeña. Además, cuando se observaron las gráficas de dispersión de los residuos de ajuste se encontró que los mismos estuvieron uniformemente distribuidos entorno a una horizontal sin presentar anomalías tales como distribuciones cónicas o en forma de herradura (Moore y McCabe, 1993).

En la Figura 4-35 se observa el comportamiento de la tensión a la máxima deformación en función del contenido de agua (%bs). El valor de  $\sigma_E^m$  incrementó al aumentar el contenido de agua, poniendo de manifiesto el efecto antiplastificante del agua, observándose un máximo

a un contenido de agua de 13 %bs. Al aumentar el contenido de agua más allá de este valor crítico se observó una disminución importante de  $\sigma_E^m$  debido al ablandamiento de la muestra.

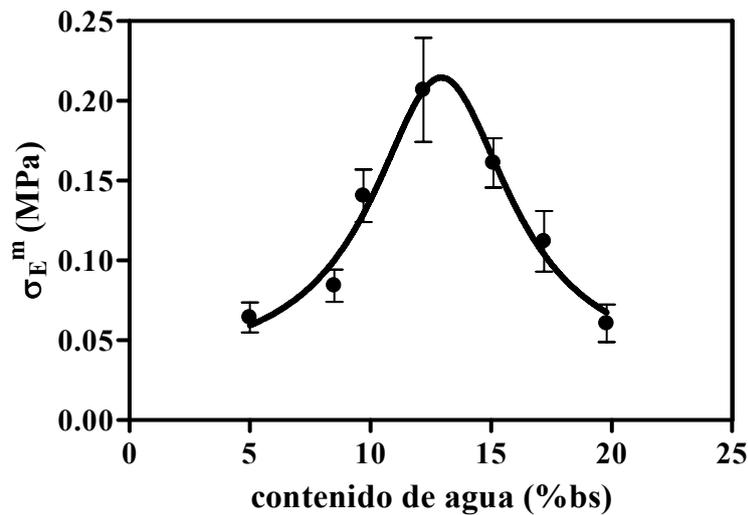


Figura 4-35: Tensión máxima  $\sigma_E^m$  (MPa) en función del contenido de agua (%bs) de copos de maíz. (●) puntos experimentales; (—) curva teórica según función lorentziana; (I) desvío estándar.

En la Figura 4-36 se muestra un gráfico del módulo de deformabilidad ( $E_d$ ) en función del contenido de agua de los copos de maíz. Se observó un comportamiento análogo al de  $\sigma_E^m$  en relación al contenido de agua presentando un máximo a un contenido de agua de aproximadamente 13 %bs, para luego disminuir marcadamente al aumentar el contenido de agua mas allá de este valor.

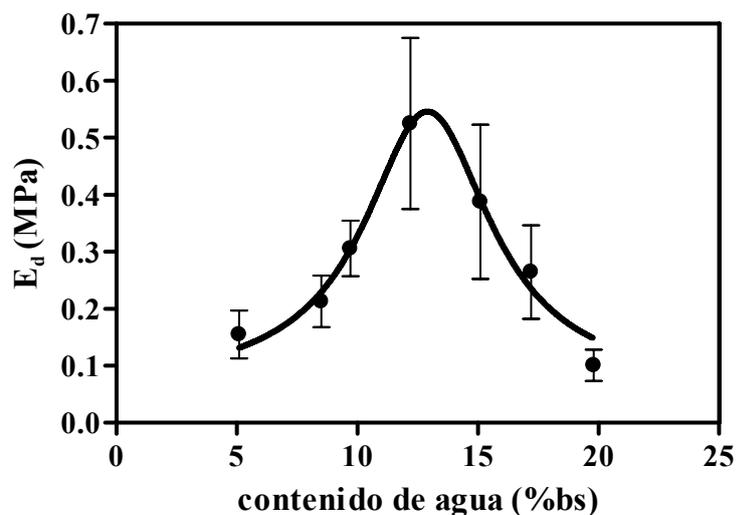


Figura 4-36: Variación de  $E_d$  en función del contenido de agua (%bs) de copos de maíz. (●) puntos experimentales; (—) curva teórica según función lorentziana; (I) desvío estándar.

Según lo discutido en la sección 4.1.4.1, dónde se estudiaron las temperaturas de transición vítrea ( $T_g$ ) para estos sistemas, un contenido de agua de 13 %bs se correspondió con una  $T_g$  de 46 °C. Teniendo en cuenta que las pruebas se llevaron a cabo a una temperatura ( $T$ ) de 25°C, el máximo de los valores de  $E_d$  y  $\sigma_E^m$  ocurrió mientras la muestra se encontró en la zona de estado vítreo a un valor de  $T-T_g$  de aproximadamente -21 °C.

En trabajos previos se ha observado el efecto antiplastificante del agua en alimentos de baja humedad. Lewicky y col. (2004) observaron que la respuesta a la deformación en alimentos sólidos (galletitas) está afectada por el contenido de agua y este puede llevar a efectos antiplastificantes y plastificantes dependiendo de la actividad del agua. Partanen y col. (2004) observaron una disminución en la movilidad molecular en películas de amilosa inducida por glicerol y evidenciada por mayores tiempos de relajación espín-red ( $T_1$ ) medidos por  $^1\text{H}$ -RMN a temperaturas inferiores a  $T_g$  y relacionaron esto con el efecto antiplastificante del glicerol. Martínez-Navarrete y col. (2004) observaron un incremento de la fuerza en el

punto de fractura a humedades intermedias para obleas. Por otro lado Gondek (2006) describió un aumento de la fuerza y la energía necesarias para compresión en copos de maíz al aumentar la actividad de agua, efecto que no se observó en copos de trigo. Mazumder y col. (2007) observaron el efecto antiplastificante del agua en el incremento de la fuerza máxima de compresión y el módulo de Young para productos extrudidos de maíz concomitantemente con una disminución en el número de picos de las curvas de compresión.

El suavizado de las curvas de deformación, el máximo del módulo de deformabilidad y el máximo de la tensión a la máxima deformación ocurrieron cuando el material estaba todavía en el estado vítreo indicando que además del estado físico hay otros mecanismos involucrados en la mecánica de la deformación como fuera discutido por Valles Pamies y col. (2000), Chaunier y col. (2005), Corradini y Peleg (2006) y Chanvrier y col. (2006).

La movilidad molecular de las pequeñas moléculas, como el agua, está determinada por la viscosidad local (a nivel molecular), en lugar de la viscosidad global (relacionada a la transición vítrea) (Chinachotti, 1997). De esta manera el agua puede llenar cavidades inter e intramoleculares, actuando como antiplastificante, de acuerdo con el comportamiento mecánico observado (Chang, 2000). Harris y Peleg (1996) y Peleg (2002) sugirieron que el agua adsorbida por un material de tipo celular puede ejercer un efecto antiplastificante sobre ciertas estructuras disminuyendo la posibilidad de propagación rápida de las fracturas y haciendo que la matriz se vuelva más cohesiva y por lo tanto se incremente su resistencia a la deformación.

### **4.1.7. Integración de resultados de las propiedades supramoleculares**

El análisis del comportamiento de las propiedades mecánicas y térmicas de materiales complejos como los copos de maíz puede complementarse con el estudio de la movilidad

molecular de los biopolímeros y del agua para permitir una interpretación adecuada y proveer herramientas para el diseño de procesos, formulación y almacenamiento de productos.

Los diferentes procesos a los que fue sometido el material durante la producción de copos de maíz modificaron sus propiedades de sorción del agua. El modelado de las propiedades de sorción de agua de las muestras estudiadas mediante la ecuación de GAB permitió calcular parámetros característicos e identificar los cambios producidos por el procesamiento.

Las diferencias en las propiedades térmicas en las distintas etapas del proceso industrial pudieron analizarse por DSC. El producto final presentó una menor  $T_g$  que la materia prima (*grit*) a bajos contenidos de agua. El modelo de Gordon y Taylor fue el más adecuado para describir la disminución de la  $T_g$  con el aumento del contenido de agua para estas muestras. Se encontró evidencia de una relajación entálpica en los productos estudiados que fue afectada por las etapas del proceso industrial y por el contenido de agua. El análisis de estas transiciones complementarias en función del envejecimiento y el contenido de agua podrían proveer información importante en relación al control de proceso en alimentos producidos a partir de almidón gelatinizado.

Los resultados de la medición de propiedades mecánicas en los copos de maíz indican que mientras  $E_d$  y  $\sigma_E^m$  presentaron un máximo en función del contenido de agua (efecto antiplastificante, la  $T_g$  decreció progresivamente con el aumento contenido de agua como es el comportamiento habitual. Por otro lado, a contenidos de agua bajos (correspondientes a una diferencia entre la temperatura de trabajo y la  $T_g$  de la muestra ( $T-T_g$ ) de  $-110$  °C) predominó el comportamiento frágil causado por la alta rigidez y baja resistencia a la ruptura de la matriz. Luyten y col. (2004) indicaron que los enlaces covalentes en las cadenas principales y laterales de los biopolímeros tienen lentos movimientos de desplazamiento vibracional

causando un incremento en la disipación de energía durante la deformación, que se manifiesta aún a contenidos de agua correspondientes al estado vítreo, y aumentan a medida que el contenido de agua aumenta. En concordancia con esto, según se observó en la sección 4.1.5, los tiempos de relajación  $^1\text{H-RMN}$  medidos por FID mostraron un aumento constante al aumentar el contenido de agua (Figura 4-24), lo que indica aumento de la movilidad molecular de los sólidos aún en estado vítreo. De este modo la información obtenida por medio de la técnica de  $^1\text{H-RMN}$ , que provee datos del movimiento a nivel molecular, puede facilitar la interpretación de las propiedades térmicas y mecánicas que dependen de las interacciones supramoleculares las cuales son relevantes en el entendimiento de la calidad de los productos laminados de maíz.

Por otro lado, a través de la medición de las propiedades mecánicas, se obtuvieron indicios de una reducción en la velocidad de propagación de las fracturas y un incremento en la energía total requerida para una dada deformación y por lo tanto se observó un aumento de la fuerza necesaria para una dada compresión (efecto antiplastificante) (Luyten y col., 2004; Pittia y Sacchetti, 2008). Este efecto pudo observarse hasta que el contenido de agua alcanzó un valor crítico de 13 (%bs), que en este experimento correspondió a un valor de  $T-T_g = -21$  °C. Con mayores incrementos en el contenido de agua, y a medida que  $T-T_g$  se acercó a cero, la movilidad molecular aumentó y el efecto plastificante se hizo evidente en las propiedades mecánicas con la disminución del módulo de deformabilidad,  $E_d$  y de la tensión a la máxima deformación,  $\sigma_E^m$ . Las muestras se tornaron menos elásticas y más deformables a medida que se incorporó agua a las estructuras celulares. Además las curvas de compresión mostraron menos fluctuaciones indicando una marcada disminución en la fractura frágil que fue reemplazada por un comportamiento dúctil con aplastamiento y deformación de las estructuras bajo la presión aplicada. En la fractura frágil existe muy poca deformación plástica

antes de la fractura. La grieta se propaga a muy alta velocidad (300 a 2000 m·s<sup>-1</sup>) por todo el material, una vez iniciado, el proceso de fractura se propaga espontáneamente. En cambio en la fractura dúctil existe una importante deformación plástica con alta absorción de energía antes de la fractura y esta última se propaga de forma relativamente lenta (Echevarria, 2003). De esta manera, cuando las muestras se encontraron a humedades cercanas y por encima de la correspondiente a la transición vítrea a la temperatura de trabajo, las propiedades térmicas y mecánicas mostraron un comportamiento acoplado (efecto plastificante).

Es de importancia resaltar que aunque generalmente el efecto de la disminución de la  $T_g$  con el contenido de agua se conoce como efecto plastificante del agua, es en las propiedades mecánicas donde este efecto se manifiesta. Las transiciones mecánicas y térmicas ocurren a nivel supramolecular pero se originan en fenómenos diferentes y son inducidas por un diferente rango de frecuencias de perturbación. De esta manera, las propiedades térmicas y mecánicas de los copos de maíz muestran un comportamiento diferente con el contenido de agua.

## **4.2. Análisis sensorial de la textura**

### **4.2.1. Selección de los candidatos para integrar el panel sensorial**

#### **4.2.1.1. Encuesta personal**

Se encuestaron 19 candidatos entre estudiantes de postgrado e investigadores con lugar de trabajo en el Departamento de Industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, 3 hombres y 16 mujeres de entre 27 y 50 años de edad. A partir de la encuesta personal fueron eliminados 5 candidatos por presentar alguna patología incompatible con el análisis sensorial (uso de prótesis dentales; etc.) o no disponer del tiempo necesario.

#### **4.2.1.2. Resultado de las pruebas de selección**

Los 14 candidatos seleccionados a partir de la encuesta inicial fueron sometidos a pruebas de reconocimiento de gustos básicos mediante la prueba de Jellinek (Jellinek, 1985), los que superaron esta prueba realizaron pruebas de triángulo secuencial y ordenamiento de textura según está descrito en la sección 3.10.1. Se realizó una explicación de la pruebas antes de su realización de manera que no hubiera dificultad en su entendimiento y realización. Doce candidatos superaron la prueba de gustos básicos y pasaron a la prueba de triángulo secuencial.

En la Figura 4-37 se detallan, a modo de ejemplo, los resultados de la prueba de triángulo secuencial para 6 candidatos, 3 aceptados y 3 rechazados. Las rectas definidas por las ecuaciones 3-17 y 3-18 marcan los límites de aceptación y rechazo. Cuando el valor de la suma acumulada de aciertos en función de la cantidad de pruebas realizadas cae en alguna las zonas mencionadas se define la inclusión o no en el panel. En la región entre las líneas se

encuentra la zona en que si el candidato cae debe continuar con la evaluación de triángulos. Si un candidato permaneció en esta zona al final del todas las pruebas de triángulo, no se lo consideró apto para integrar el panel. Al finalizar esta prueba quedaron seleccionados 9 candidatos.

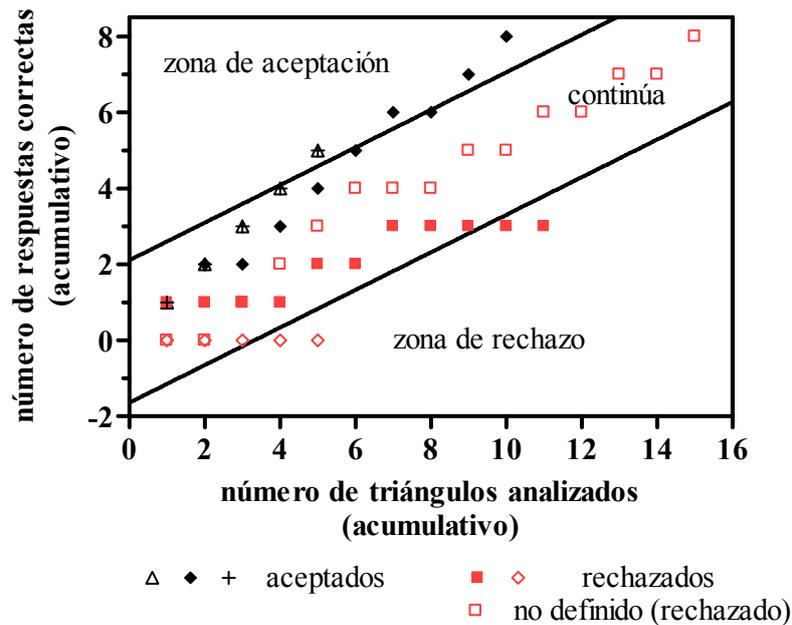


Figura 4-37: Resultados de la prueba de triángulo secuencial. Se muestran ejemplos de candidatos aceptados y rechazados.

Como prueba final se realizó la prueba ordenamiento de textura según fue descrita en la sección 3.10.1.1.d, los nueve candidatos ordenaron las muestras correctamente.

Para la integración de panel se seleccionaron los evaluadores que cumplieron con los criterios de aceptabilidad de todas las pruebas según fueron definidos en materiales y métodos.

Luego de la selección el panel quedó constituido por 9 miembros de los cuales tres fueron hombres y cinco mujeres con edades comprendidas entre los 27 y los 42 años.

### 4.2.2. Entrenamiento del panel

Durante el curso teórico los panelistas recibieron información sobre los conceptos básicos de textura y la forma en que estos se presentan durante la masticación de un alimento. Al finalizar el curso se logró la comprensión de las definiciones de las propiedades que iban a medir y las técnicas de medición.

Durante las sesiones de mesa redonda llevadas a cabo en el transcurso del entrenamiento se realizó el reconocimiento de las escalas de referencia para los atributos dureza, cohesividad, adhesividad al paladar y fracturabilidad, descritas en las tablas 3-2, 3-3, 3-4 y 3-5. Al final de esta etapa los panelistas lograron reconocer y medir cada atributo de textura en los alimentos presentados y su variación en la escala correspondiente. Además, se detectaron y resolvieron algunos inconvenientes y dificultades relacionadas con el uso de las muestras de referencia y escalas relacionadas, los cuales se describen a continuación.

Respecto de la escala de cohesividad, se detectó que la muestra de referencia con valor 10,0 en la escala (pasas de uva), presentó dificultades debido a la gran variabilidad en los productos presentes en el mercado. Paralelamente y como parte del entrenamiento el panel midió muestras de gomita frutal (marca Mogul-Arcor) obteniéndose un valor promedio de 11,0 en la escala de cohesividad. Este resultado coincidió con el valor publicado por Hough y col. (1994) para esta misma muestra. Por lo tanto, se decidió utilizar esta muestra como referencia debido a que se obtuvieron resultados reproducibles y acordes a lo reportado en bibliografía.

Durante las sesiones en mesa redonda se definió por consenso la cantidad de muestra a utilizar para realizar las mediciones de manera de lograr la mejor percepción posible de cada modalidad sensorial. De esta manera quedó establecido como metodología medir la dureza utilizando una cuchara de te conteniendo copos de maíz porque debido a la forma de hojuela

delgada, esta propiedad se percibía mejor mordiendo varios copos a la vez. El panel también decidió por consenso que las propiedades relacionadas a la forma en que se rompen los copos y el sonido que producen como la fracturabilidad, cohesividad y crocancia se midieran utilizando un solo copo.

Al evaluar la propiedad de adhesividad al paladar los jueces coincidieron en que los copos de maíz presentaban un valor muy bajo. Luego de discusión en mesa redonda se decidió no utilizar la mencionada escala porque no representó una propiedad relevante para este tipo de muestras.

Finalizada la etapa de reconocimiento en mesa redonda se pasó a trabajar en cabinas individuales de evaluación sensorial. En esta etapa se midieron muestras de copos de maíz de la misma marca que las que se utilizarían en la medición y otros alimentos según fue descrito en la sección 3.10.2.3. Los jueces fueron capaces de ordenar correctamente las referencias y lograron un criterio homogéneo en la evaluación de las muestras.

Al final del entrenamiento se logró la comprensión de las escalas y se establecieron los criterios definitivos para las evaluaciones.

### **4.2.2.1. Desarrollo de la escala de crocancia**

Como punto de partida del desarrollo de la escala se trabajó sobre la definición de la crocancia y el establecimiento de un método para su medición. En la primera sesión de entrenamiento de esta escala se analizaron las definiciones y técnicas descritas por Chauvin y col. (2008) y se concluyó que las más adecuadas para las muestras en estudio fueron las siguientes:

Definición: Un evento sonoro percibido como agudo, claro y rápido. Evaluado con los incisivos y los labios abiertos.

Técnica: coloque los productos entre los incisivos, muerda el producto y evalúe la intensidad del sonido luego de la primera mordida utilizando en lo posible la misma fuerza para morder todos los alimentos de la escala.

Para definir un valor de crocancia para cada referencia se partió de un valor de 14 para copos de maíz Kellogg`s sobre una escala de 0,0 hasta 17,0, según fuera definido por Meilgaard y col. (1999). Este valor se usó como una referencia orientativa y se permitió al panel modificarlo teniendo en cuenta que el método de producción puede ser distinto en otro país y por lo tanto las propiedades del alimento pueden diferir del utilizado originalmente por los autores. Para el entrenamiento y la medición de crocancia las muestras se presentaron a temperatura ambiente.

Como primer paso, el panel definió por consenso el ordenamiento de las muestras y la distancia relativa entre ellas. Luego asignó un valor de crocancia a cada muestra de referencia. Durante el desarrollo de la escala se presentaron muestras de copos de maíz con diferentes contenidos de agua (10, 18 y 24 %bs) para que los jueces se familiaricen con esta propiedad y puedan reconocerla en el mismo tipo de muestras que luego serían analizadas. Luego de 4 sesiones de entrenamiento se construyó la escala que se detalla en la Tabla 4-14.

Tabla 4-14: Composición final de la escala de crocancia desarrollada para ese estudio. Todas las muestras se midieron a temperatura ambiente.

<b>Valor</b>	<b>Producto</b>	<b>Marca</b>	<b>Muestra</b>
1,0	barra de cereal	Quaker de manzana	1 cm <sup>3</sup>
5,0	galletita <i>cracker</i>	Club social - Kraft	1 cm <sup>2</sup>
10,0	copos de maíz	Cornflakes - Kellogg's	1 unidad
12,0	aros de cereal	Cheerios - Nestlé	1 unidad
17,0	tostada	Tostadita - Greguar	1 cm <sup>2</sup>

#### **4.2.2.2. Calibración del panel**

El panel fue entrenado hasta que logró una comprensión clara de los conceptos de textura, estuvo adecuadamente familiarizado con las escalas y no encontró problemas en la medición de las referencias ni de muestras de copos de maíz utilizadas como entrenamiento.

Periódicamente se realizaron sesiones en mesa redonda de una hora de duración con el objeto de mantener el adecuado nivel de entrenamiento del panel evaluador. En cada sesión, se presentaron todos los alimentos de referencia correspondientes a las escalas utilizadas con su correspondiente valor indicado. Además se les dieron escalas para marcar la posición de cada muestra. De esta manera se pudo recordar la asociación de la sensación percibida con el puntaje asignado en la escala. Además se discutieron las dudas puntuales y dificultades que pudieran haber surgido y las mismas se resolvieron por consenso para lograr un criterio constante en la evaluación de las muestras.

### 4.2.3. Medición de las muestras

Se realizaron mediciones orales de los atributos de textura dureza, cohesividad, fracturabilidad y crocancia en copos de maíz provistos por una empresa productora local, los cuales fueron equilibrados a diferentes contenidos de agua según la metodología indicada en la sección 3.10.3.

En las Tablas 4-15 y 4-16 se muestra un resumen de los resultados del análisis de varianza para cada sesión. En todos los casos no se presentaron diferencias significativas entre los evaluadores. Se indica el contenido de agua de los sistemas medidos (tratamiento), la media y su desviación estándar para cada modalidad sensorial. A fin de controlar que la respuesta de los jueces fuera uniforme respecto de los tratamientos se realizaron sesiones de control en las que se incluyeron muestras con el mismo contenido de agua como control camuflado (indicadas con una llamada <sup>(1)</sup>) en las tablas para cada modalidad sensorial). Se observó que los valores medidos para dichas muestras fueron muy cercanos entre sí y no presentaron diferencia significativa indicando que el panel fue consistente en las mediciones.

Tabla 4-15: Resumen del análisis de varianza de los datos obtenidos en cada una de las sesiones de análisis sensorial para cohesividad y crocancia. Se muestra la media de los jueces y la desviación estándar para cada medición. En todos los casos no existió diferencia significativa entre los jueces.

Contenido de agua bs.	Media (DE)	Contenido de agua bs.	Media (DE)	F tratamiento	p tratamiento*	R <sup>2</sup>
<b>cohesividad</b>						
3,4	0,1 (0,2)	20,9	11,8 (2,6)	10818	0,0001	0,99
6,7 <sup>1</sup>	0,2 (0,3)	6,7	0,3 (0,3)	0,6	0,4593	0,53
6,9	0,1 (0,1)	12,3	1,3 (0,9)	26	0,0001	0,70
9,5	0,2 (0,2)	14,9	4,6 (2,2)	67	0,0001	0,88
17,1	10,2 (1,8)	25,6	11,9 (1,6)	7,3	0,0226	0,70
17,9	12,0 (1,4)	25,1	12,1 (1,7)	0,02	0,8891	0,64
28,5 <sup>1</sup>	12,1 (1,0)	28,5	12,4 (0,7)	1,3	0,2805	0,67
<b>crocancia</b>						
3,4	10,7 (0,8)	20,9	0,1 (0,1)	4216	0,0001	0,99
6,5	9,9 (0,8)	16,5	0,9 (0,7)	1170	0,0001	0,99
6,9	10,9 (0,8)	15,9	1,1 (0,9)	6187	0,0001	0,99
9,1	9,6 (1,0)	12,3	7,9 (0,6)	23	0,0004	0,72
17,1	0,6 (0,5)	25,6	0,2 (0,2)	13	0,0030	0,70
28,5 <sup>1</sup>	0.0 (0.0)	28,5	0,0 (0,0)	sd	sd	sd

\*Valores menores que 0,05 indican diferencia significativa

1: par de muestras utilizado como control camuflado

sd: demasiados valores iguales a cero para realizar los cálculos, se consideró que el valor de la propiedad es cero.

Tabla 4-16: Resumen del análisis de varianza de los datos obtenidos en cada una de las sesiones de análisis sensorial para dureza y fracturabilidad. Se muestra la media de los jueces y la desviación estándar para cada medición. En todos los casos no existió diferencia significativa entre los jueces.

Contenido de agua bs.	Media	Contenido de agua bs.	Media	F tratamiento	p tratamiento*	R <sup>2</sup>
<b>Dureza</b>						
3,4	7,1 (1,1)	20,9	7,7 (0,9)	15	0,0032	0,94
6,5	6,4 (1,2)	16,5	9,7 (2,0)	108	0,0001	0,94
6,9	7,8 (0,9)	12,3	7,4 (0,8)	2,3	0,1641	0,77
9,5	7,0 (1,2)	14,9	9,0 (2,2)	13	0,0030	0,72
17,1	9,6 (1,2)	25,6	6,7 (0,7)	167	0,0001	0,97
17,9	10,4 (1,29)	28,6	7,3 (1,0)	11	0,0086	0,62
25,5 <sup>1</sup>	6,9 (0,4)	25,5	7,0 (0,3)	0,02	0,8974	0,41
<b>Fracturabilidad</b>						
3,4	9,9 (0,8)	20,9	0,1 (0,1)	2608	0,0001	0,99
6,7 <sup>1</sup>	9,9 (0,3)	6,7	9,9 (0,5)	0,01	0,9088	0,67
6,9	9,8 (1,3)	15,4	3,5 (3,0)	205	0,0001	0,95
7,0	9,7 (1,4)	12,3	8,1 (1)	33	0,0001	0,84
9,5	9,3 (1,3)	14,9	2,2 (1,6)	219	0,0001	0,94
17,1	0,8 (0,5)	25,6	0,0 (0,0)	44	0,0002	0,88
28,5 <sup>1</sup>	0,0 (0,0)	28,5	0,0 (0,0)	sd	sd	sd

\*Valores menores que 0,05 indican diferencia significativa

1: par de muestras utilizado como control camuflado

sd: indica que el software no pudo realizar los cálculos porque muchos valores fueron iguales a cero. Se consideró que el valor de la propiedad es cero.

En las Figuras 4-38 y 4-39 se muestran la evolución medida de los atributos fracturabilidad y crocancia en función del contenido de agua de los copos de maíz junto con la curva de ajuste de la ecuación de Fermi propuesta por Harris y Peleg (1996) (ecuación 3-19) a los datos experimentales. Dado que los puntos experimentales siguieron una forma sigmoidea se decidió la utilización de dicho modelo. Ambos atributos presentaron, a bajas humedades, valores altos en la escala. Se observó una disminución importante al alcanzar un contenido de agua crítico y con subsiguientes aumentos del contenido de agua ambas propiedades se

redujeron a cero. El modelado matemático permitió calcular varios parámetros de interés para la descripción del comportamiento de las muestras: la pendiente inicial ( $k$ ) que indica el grado de variación de la propiedad estudiada con el aumento del contenido de agua en la zona de baja humedad, el valor extrapolado a contenido de agua cero ( $Y_0$ ), el contenido de agua crítico ( $x_c$ ) que está relacionado con el escalón donde ocurre una brusca disminución y el parámetro ( $b$ ) que está relacionado con cuan abrupto es el cambio, cuando  $b$  tiende a cero la función tiende a presentar un escalón recto (Harris y Peleg, 1996).

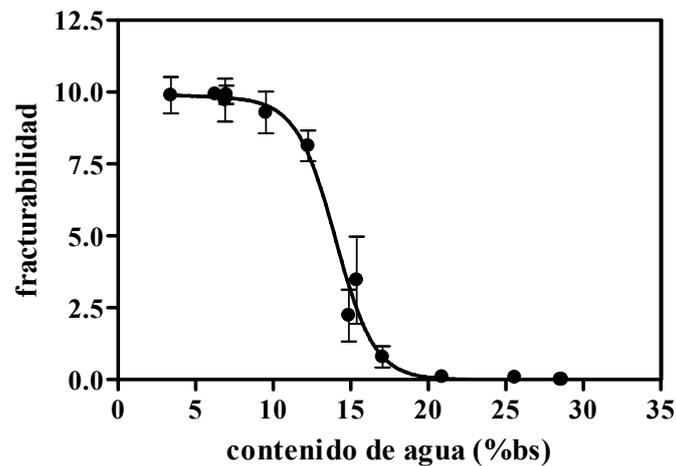


Figura 4-38: Valores de fracturabilidad de copos de maíz con diferente contenido de agua (%bs). (●): puntos experimentales; (—): predicción según modelo de Fermi; (I): barra de error representando los límites del 95% de confianza.

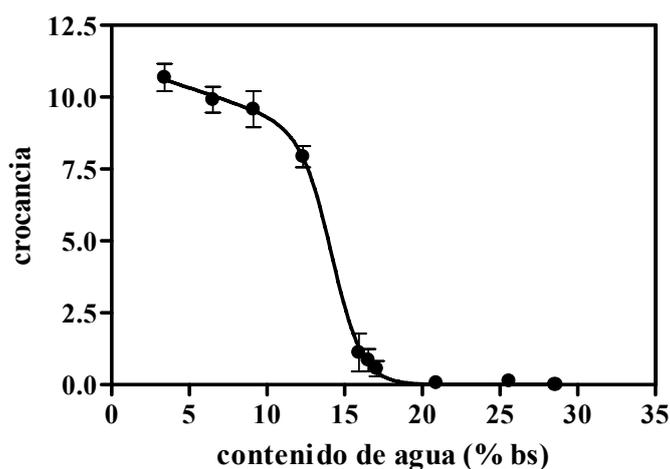


Figura 4-39: Valores de crocancia de copos de maíz con diferente contenido de agua (%bs). (●): puntos experimentales; (—): predicción según modelo de Fermi; (I): barra de error representando los límites del 95% de confianza.

Los parámetros del modelo para las modalidades fracturabilidad y crocancia se muestran en la Tabla 4-17. Para la fracturabilidad, el intervalo de error del valor de  $k$  incluyó al cero indicando que esta propiedad se percibió constante a bajos contenidos de agua. El valor de fracturabilidad extrapolado a contenido de agua cero ( $Y_0$ ) fue de 10,0; lo que ubica a las muestras en la zona de la muestra de referencia tostada Minitost (10,0). La pendiente inicial ( $k$ ) para crocancia fue negativa indicando que la disminución de la crocancia se pudo percibir a bajos contenidos de agua. El valor  $Y_0$  fue de 11,2, quedando entre los copos de maíz Kellogg's (10,0) y los aros de cereal (12,0). Cabe destacar que durante las sesiones los panelistas indicaron que percibían el producto fresco analizado como más crocante que los copos de maíz de referencia. El contenido de agua crítico fue de 14,0 y 14,2 %bs para fracturabilidad y crocancia respectivamente.

Tabla 4-17: Parámetros de ajuste del modelo de Fermi propuesta por Harris y Peleg (1996) (ecuación 3-19) para los atributos de fracturabilidad y crocancia (error estándar).

Parámetro	Fracturabilidad	Crocancia
$Y_0$	10,0 (0,7)	11,2 (0,3)
$k$	-0,01 (0,1)	-0,20 (0,04)
$X_C$ (%)	14,0 (0,3)	14,2 (0,2)
$b$	1,3 (0,17)	0,98 (0,08)
$R^2$	0,9233	0,9827

En la Figura 4-40 se muestra la evolución de la cohesividad de los copos de maíz con el contenido de agua y la curva de ajuste del modelo de Fermi, que en este caso fue modificado para poder ajustar una propiedad cuyo valor aumenta con el aumento del contenido de agua (ecuación 3-20). A bajas humedades (menores a 10 %bs) el valor de cohesividad de los copos de maíz fue cercano a cero lo cual coincide con el comportamiento frágil de este tipo de alimentos. Al aumentar el contenido de agua por encima de dicho valor se observó un aumento importante de la cohesividad que alcanzó un valor constante de 12,3, que es un poco superior al del caramelo Sugus (12,0), a contenidos de agua mayores que 20 %bs.

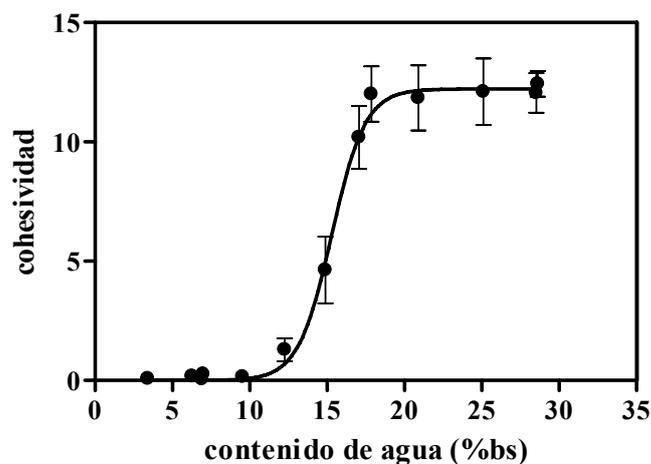


Figura 4-40: Valores de cohesividad de copos de maíz con diferente contenido de agua (%bs). (●): puntos experimentales; (—): predicción según modelo de Fermi modificado; (I): barra de error representando los límites del 95% de confianza.

En la Tabla 4-18 se detallan los parámetros de ajuste de la ecuación de Fermi modificada para seguir una función ascendente (ecuación 3-20) a los datos de cohesividad. El contenido de agua crítico fue de 15,3 %bs. El valor máximo y constante de cohesividad alcanzado fue de 12,2 para las muestras más húmedas analizadas y se obtuvo a partir de 22 % de agua.

Tabla 4-18: Parámetros de ajuste del modelo de Fermi modificado para valores que aumentan al aumentar el contenido de agua (ecuación 3-20) para datos de cohesividad (error estándar).

<b>cohesividad</b>	
$Y_{max}$	12,2 (0,2)
$X_C$ (%)	15,3 (0,1)
$b$	1,1 (0,1)
$R^2$	0,9504

En la Figura 4-41 se muestran los datos de dureza sensorial de los copos de maíz en función del contenido de agua y el ajuste de la ecuación lorentziana (ecuación 3-15). Se utilizó esta función porque permite describir datos que siguen un perfil de tipo campana. Esta modalidad sensorial presentó un máximo como las propiedades mecánicas, por lo tanto se utilizó el mismo modelo, y se observó que se pudieron ajustar con éxito los puntos experimentales. Las muestras con baja humedad fueron percibidas como de baja dureza (alrededor de 7). Al aumentar el contenido de agua, la dureza de los copos de maíz aumentó, presentando un máximo a contenidos de agua de 17 %bs, indicando que el efecto antiplastificante del agua pudo ser detectado sensorialmente. Cuando el contenido de agua se incrementó aun más, la dureza disminuyó, y el efecto plastificante se evidenció en un ablandamiento de la muestra.

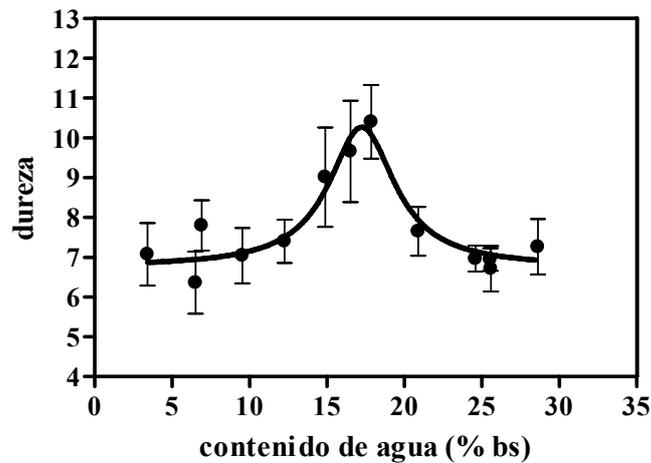


Figura 4-41: Valores de dureza de copos de maíz con diferente contenido de agua (%bs). (●): puntos experimentales; (—): predicción según función lorentziana; (I): barra de error representando los límites del 95% de confianza.

En la Tabla 4-19 se detallan los parámetros de ajuste de la ecuación lorentziana a los datos de dureza medidos por el panel entrenado. El valor máximo se observó a un contenido de agua de 17 %bs, valor muy cercano al correspondiente a la  $T_g$  a 25 °C (16 %). El valor asintótico de la función ( $b$ ) fue de 6,7, siendo esta la dureza mínima que el panel percibió en las muestras de baja y de alta humedad.

Tabla 4-19: Parámetros de ajuste de la ecuación lorentziana para valores que aumentan al aumentar el contenido de agua (ecuación 3-15) para datos de dureza (error estándar).

Dureza	
$A$	3,5 (0,4)
$X_0$ (%)	17,2 (0,3)
$\gamma$ (%)	2,6 (0,6)
$b$	6,7 (0,2)
$R^2$	0,4458

**Validación de los modelos propuestos para la evolución de los atributos sensoriales con el contenido de agua de los copos de maíz**

A fin de evaluar la calidad del ajuste obtenido se calculó el factor de sesgo (ecuación 3-16) que indica si un modelo predice, en promedio, valores mayores o menores a los experimentales, un modelo sin sesgo tiene un *bias factor* = 1 (Tabla 4-20). Los valores para fracturabilidad, crocancia y cohesividad fueron menores a 1 pero bastante cercanos indicando un buen ajuste de los modelos. A pesar del bajo valor de  $R^2$  (0,4458) la curva presenta un ajuste bastante cercano a los datos experimentales como indica el valor de *bias* y se puede observar en la Figura 4-41. Además cuando se observaron las gráficas de dispersión de los residuos de ajuste para todos los modelos se encontró que estaban distribuidos en forma aleatoria alrededor de 0 y no se presentaron formas o esquemas reconocibles como formas de cono o arco (datos no mostrados); indicadores de falta de homocedasticidad.

Tabla 4-20: Validación externa y porcentaje de error para los ajustes de las modalidades crocancia, fracturabilidad, cohesividad y dureza.

<b>modalidad sensorial</b>	<b><i>bias factor</i></b>
<b>Fracturabilidad</b>	0,94
<b>Crocancia</b>	0,98
<b>Cohesividad</b>	0,85
<b>Dureza</b>	1,06

En la Figura 4-42 se muestra un gráfico de araña dónde se representan todas las propiedades sensoriales evaluadas. Con el propósito de hacer al gráfico más claro se eligieron cuatro muestras con humedades representativas de los cambios observados. Los copos de maíz con bajo contenido de agua presentaron baja cohesividad, alta fracturabilidad, alta

crocancia y baja dureza, estas propiedades están de acuerdo con las características texturales deseadas para este tipo de alimentos. Los perfiles de las muestras con humedades de 3,4 y 6,9 (%bs) fueron muy similares. Al superar a un contenido de agua crítico de 10 %bs se produjo un cambio brusco en las características sensoriales de la muestra (fracturabilidad, cohesividad y crocancia), la respuesta a la mordida pasó de una fractura frágil a dúctil con pérdida total de la crocancia característica. Esto se evidencia en el cambio del perfil del gráfico de araña que se observa para muestras con contenidos de agua 17,1 % y 28,6 % comparadas con las de menor contenido de agua. A su vez la muestra se percibió como más dura al incrementarse el contenido de agua para luego ablandarse a contenidos de agua aún mayores.

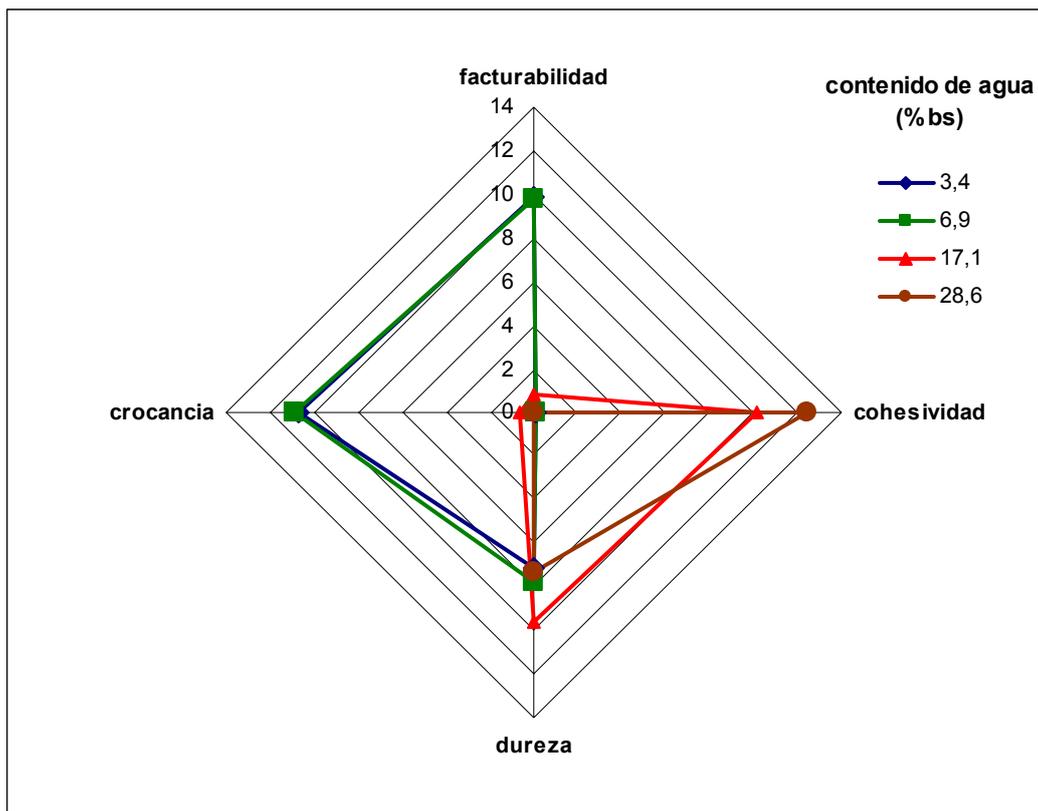


Figura 4-42: Gráfico de araña de las propiedades sensoriales de los copos de maíz para cuatro contenidos de agua representativos.

#### **4.2.4. Integración de resultados de textura sensorial y propiedades mecánicas**

En la Figura 4-43 se observa un esquema de la variación de las propiedades mecánicas y texturales de los copos de maíz en función del contenido de agua. En la parte superior del gráfico se indicaron las tres zonas de la isoterma de sorción según se definieron en la sección 4.1.5. Con el fin de presentar una idea de la relación entre el contenido de agua de una muestra y la transición vítrea se puede utilizar el valor de la diferencia entre la temperatura de trabajo ( $T$ ) y la temperatura de transición vítrea correspondiente al contenido de agua de la muestra ( $T-T_g$ ). Este valor representa la distancia en grados hasta que la muestra llegue a la transición vítrea, por lo tanto el contenido de agua correspondiente a una  $T_g$  a  $25^\circ$  (temperatura de trabajo) corresponde al valor  $T-T_g = 0$ . En el gráfico se indicaron los contenidos de agua que corresponden al agua límite de hidratación (6,2 %bs) ( $T-T_g = -95^\circ\text{C}$ ) determinada por el valor de  $m_0$  en la ecuación de GAB. El contenido de agua que corresponde a una  $T_g$  a la temperatura de trabajo ( $25^\circ\text{C}$ ) determinado por la ecuación de Gordon y Taylor (16 %bs) y finalmente el contenido de agua donde se observó la aparición de una tercera población de agua con mayor movilidad medida por  $^1\text{H-RMN}$  (25 %bs) ( $T-T_g = 38^\circ\text{C}$ ). A un contenido de agua de 29 %bs se observó la aparición de agua congelada después de enfriar por DSC.

A contenidos de agua inferiores que 6 %bs se observó la máxima fracturabilidad y crocancia, mínima cohesividad y baja dureza sensorial además de bajos valores de las propiedades mecánicas  $E_d$  y  $\sigma_E^m$ . En esta zona la muestra se encontró en las condiciones que corresponden al producto fresco.

Al aumentar el contenido de agua disminuyó la crocancia y  $E_d$  y  $\sigma_E^m$  comenzaron a aumentar. A contenidos de agua superiores a 10 %bs el incremento en dichos parámetros

mecánicos estuvo asociado a una disminución de la fracturabilidad y la crocancia y un aumento en la cohesividad además de un aumento en la dureza sensorial. Estos cambios se produjeron en la zona II de la isoterma cuando la muestra se encontraba aún en estado vítreo, dónde  $E_d$  y  $\sigma_E^m$  presentaron un máximo. A medida que el contenido de agua aumentó aún más y  $(T-T_g)$  se acercó a cero, se observó una disminución en  $E_d$  y  $\sigma_E^m$  y también en el perfil aserrado de las curvas de compresión. A contenidos de agua correspondientes al estado gomoso se alcanzó el valor máximo, constante de cohesividad mientras que la fracturabilidad y la crocancia disminuyeron a cero. Concomitantemente  $E_d$  y  $\sigma_E^m$  disminuyeron aún más y las curvas de compresión perdieron completamente el perfil aserrado. La dureza sensorial, por su parte, presentó el máximo desplazado hacia contenidos de agua un poco mayores que el correspondiente al máximo de  $E_d$  y  $\sigma_E^m$ , y también disminuyó cuando la muestra pasó al estado gomoso. La velocidad de deformación de las pruebas mecánicas y sensoriales no son coincidentes y esta diferencia pudo afectar la correlación entre los parámetros medidos con ambas técnicas además de variar el contenido de agua crítico al que se producen las transiciones (Castro-Prada y col., 2009).

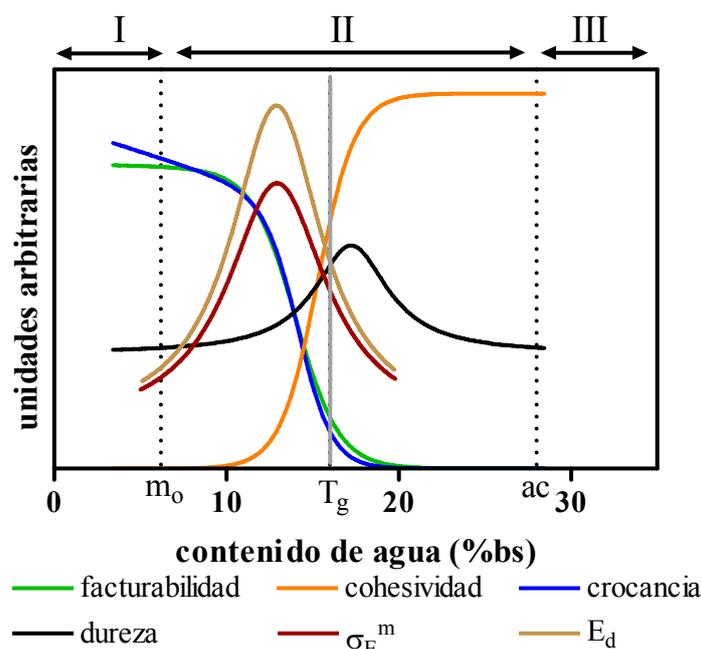


Figura 4-43: Esquema de la variación de las propiedades mecánicas y sensoriales de los copos de maíz en función del contenido de agua. Se indican las tres zonas de la isoterma de sorción con números romanos.  $m_o$ : agua límite de hidratación,  $T_g$ : contenido de agua correspondiente a una  $T_g$  de 25 °C,  $ac$ : agua congelada luego de enfriar a -50°C medida por DSC.

El efecto antiplastificante del agua ha sido asociado con distintos factores en diferentes estudios: una reducción del volumen libre (Anderson y col 1995, Vrentas y col 1998), interacciones polímero diluyente que crean impedimentos estéricos y disminuyen la movilidad de ciertos segmentos moleculares, el endurecimiento causado por la rigidez de las moléculas de plastificante asociadas a los grupos polares del polímero (Anderson y col, 1995) o incluso una disminución de la fricción (Simon y Plohen, 2000).

Existen varios factores relacionados a las propiedades de la matriz que influyen sobre el efecto antiplastificante. En general este efecto tiene lugar a contenidos de agua cercanos o mayores al correspondiente al agua límite de hidratación (o de monocapa determinada por la ecuación de GAB) y menores al que corresponde a la  $T_g$  a la temperatura de trabajo. Por lo tanto son importantes las interacciones agua-polímero tales como la formación de puentes hidrógeno con la matriz o la adsorción del agua a la superficie del polímero. La composición

del alimento es de importancia en cuanto a que los grupos funcionales presentes y su orientación espacial influyen en las interacciones con el agua (Lewicki, 2004). De esta manera los grupos altamente hidrofílicos, que unen fuertemente el agua, pueden desplazar el efecto antiplastificante a humedades mayores y los muy hidrofóbicos que muestran interacciones muy débiles pueden limitar la aparición de dicho efecto (Pittia y Sacchetti, 2008).

En este estudio el efecto antiplastificante estuvo asociado a un incremento en la cohesividad y una disminución en la fracturabilidad detectadas sensorialmente. Esto es coincidente con la explicación dada por algunos autores (Peleg, 2002, Pittia y Sacchetti, 2008) respecto que la interacción del agua con un polímero hidrofílico produce al principio un incremento en la movilidad que permite a las moléculas reorientarse frente a la presión. De esta manera se reduce la habilidad de las fracturas para propagarse y disminuye el comportamiento frágil haciendo que la matriz sea, como ya se ha comentado, más cohesiva y capaz de absorber mayor cantidad de energía mecánica. Subsiguientes incrementos en el contenido de agua producen mayores aumentos en la movilidad molecular y como consecuencia se produce el cambio hacia un comportamiento plástico frente a la compresión.

### **4.3. Aspectos visuales y propiedades físicas**

Se realizó un análisis de color y translucidez en muestras correspondientes a distintas etapas del proceso industrial de elaboración de copos de maíz y además, para analizar más a fondo los cambios provocados por el proceso de cocción, se estudiaron sistemas modelo preparados en el laboratorio. Para el análisis de translucidez las muestras se dispusieron en una capa sobre placas de color blanco o negro respectivamente y se obtuvieron las imágenes según fuera descrito en la sección 3.11.3. En todos los casos se utilizaron las herramientas de programa de análisis PhotoShop V7 (Adobe Systems) que permitieron seleccionar solamente el área de la muestra de interés, excluyendo el fondo y zonas sombreadas.

#### **4.3.1. Calibración del sistema de visión computarizada**

En la Figura 4-44 se muestran las gráficas de los valores de cada uno de los tres parámetros de color en el sistema CIELAB, obtenidos por análisis de imagen vs. los valores medidos con el colorímetro. Para la calibración se utilizaron 50 tarjetas de cartón. Dichas tarjetas son opacas y no presentaron fluorescencia detectable bajo luz ultravioleta con el sistema de visión computarizada utilizado.

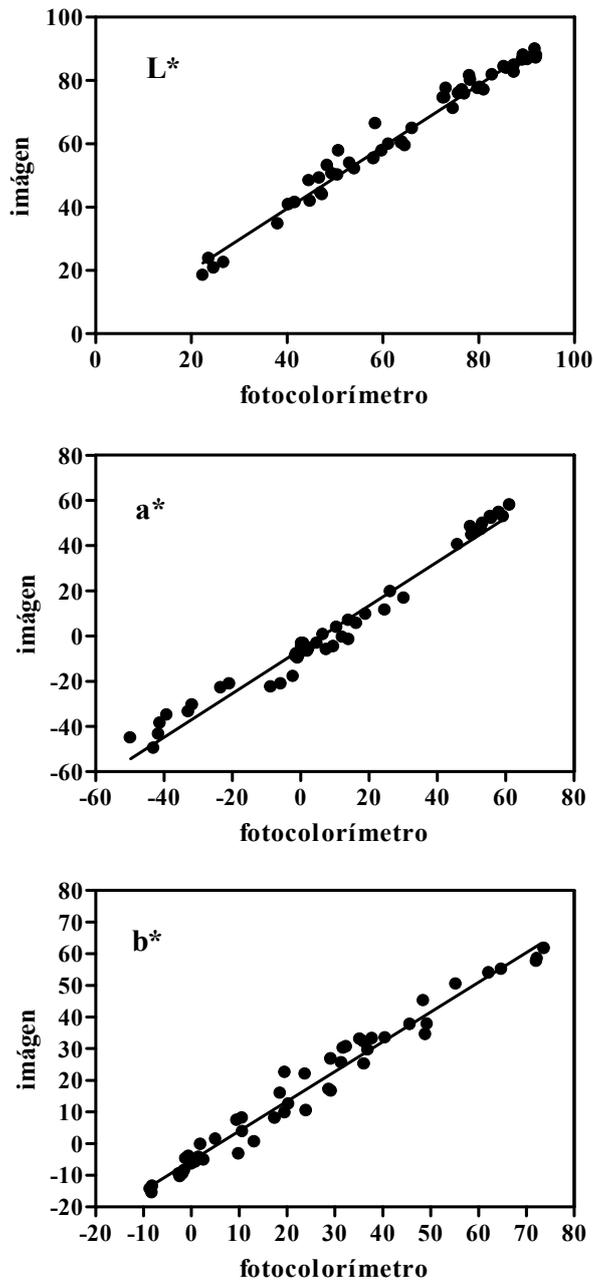


Figura 4-44: Correlación entre los valores medidos con el fotocolorímetro y por análisis de imágenes para los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .

En el rango de valores de trabajo se verificó una correlación lineal entre ambos métodos, y los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) fueron los siguientes:  $L^*$ : 0,9771,  $a^*$

0,9739 y  $b^*$ : 0,9711, las correlaciones fueron significativas ( $p < 0,001$ ) para los tres parámetros. Por lo tanto, los valores obtenidos a partir del análisis de imágenes se corrigieron aplicando las siguientes ecuaciones:

$$L^*_{\text{corregido}} = \frac{L^*_{\text{imagen}} - 0.4151}{0.977} \quad \text{Ecuación 4-5}$$

$$a^*_{\text{corregido}} = \frac{a^*_{\text{imagen}} + 5.974}{0.97} \quad \text{Ecuación 4-6}$$

$$b^*_{\text{corregido}} = \frac{b^*_{\text{imagen}} + 5.5162}{0.9405} \quad \text{Ecuación 4-7}$$

### 4.3.2. Cambios en distintas etapas del proceso industrial

#### 4.3.2.1. Cambios de opacidad y microestructura

En la Figura 4-45 se observan las imágenes que ejemplifican el efecto del color del fondo sobre la luminosidad de las muestras tomadas en diferentes etapas del proceso industrial, *grit* crudo (G), luego de la cocción (GC), laminado (GL) y copo de maíz (CM). Dichas muestras fueron dispuestas en una capa sobre fondo blanco y fondo negro respectivamente. Las muestras que estaban sobre fondo negro se percibieron como más oscuras que las que estaban sobre fondo blanco y este efecto fue más notorio en el *grit* laminado.

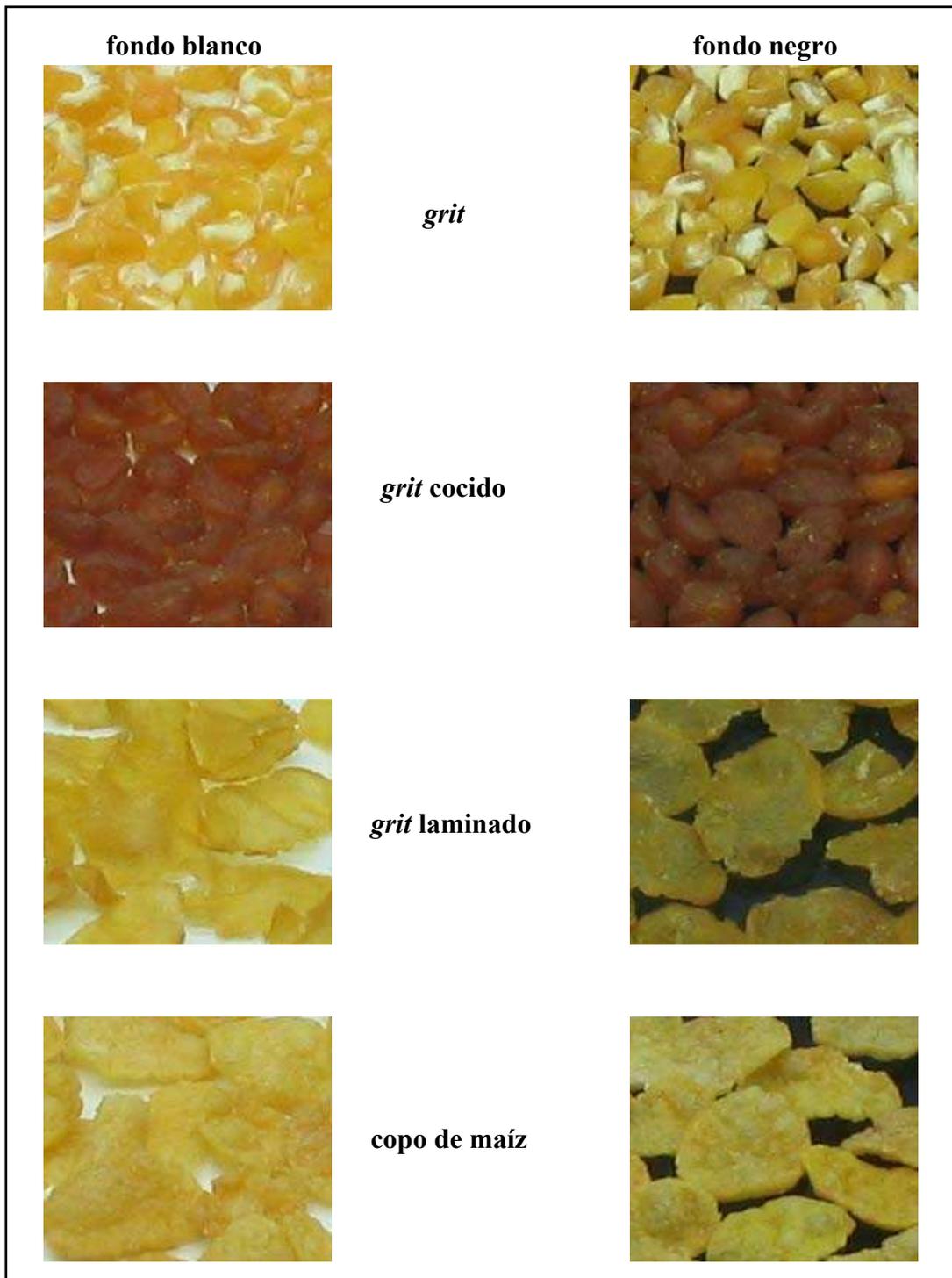


Figura 4-45: Ejemplos de imágenes de las muestras del proceso industrial de producción de copos de maíz colocadas sobre fondo negro y fondo blanco utilizadas para analizar los cambios de apariencia producidos durante el proceso industrial de producción de copos de maíz.

A través de la medición de  $L^*$  realizada por análisis de imágenes se confirmó que el color del fondo afectó la luminosidad medida de las muestras indicando que éstas tenían un cierto grado de translucidez, como lo indican los resultados observados en la Figura 4-46.

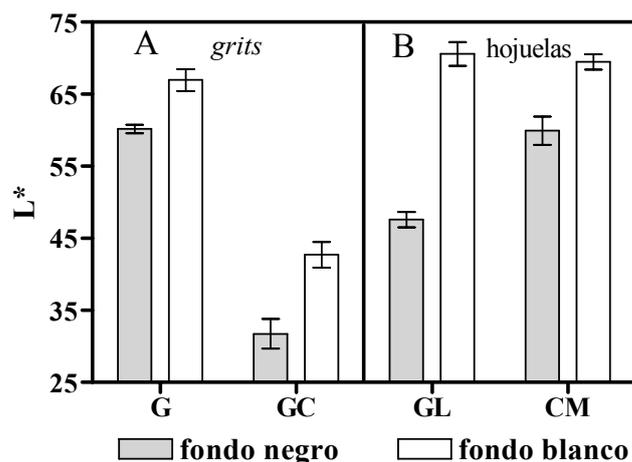


Figura 4-46: Luminosidad de las muestras de las etapas del proceso industrial medidas sobre fondo blanco y fondo negro. Las barras de error representan los límites del 95% de confianza.

En la Figura 4-47 (A y B) se observan los valores de opacidad calculados según la ecuación 3-32 a partir de los valores de  $L^*$  medidos sobre fondo blanco y fondo negro. Debido al profundo cambio de forma y espesor producido por el proceso de laminado la comparación de los valores de opacidad se realizó entre *grit* crudo y cocido por un lado y los productos laminados, con forma de hojuela, (GL y CM) por otro. El *grit* crudo presentó un valor de opacidad de  $0,9 \pm 0,03$  que disminuyó debido al proceso de cocción. El GL presentó la opacidad más baja y esta aumentó en el tostado.

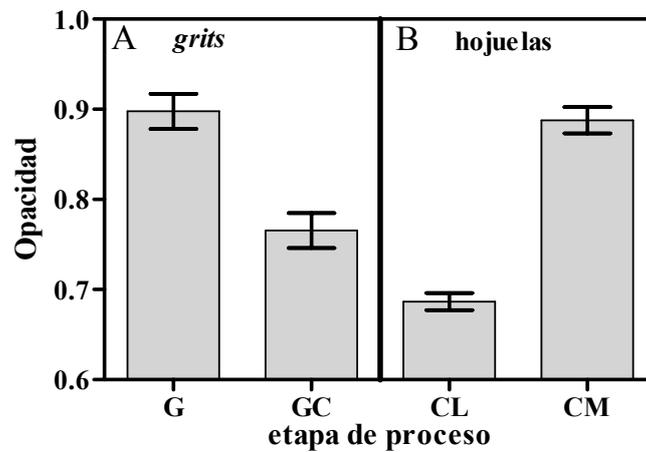


Figura 4-47: Opacidad para grit crudo y grit cocido de tres diferentes lotes de proceso. Las barras de error representan los límites de 95 % de confianza.

Los fenómenos de cambios de opacidad se dan cuando la luz debe atravesar límites entre distintas estructuras o diferentes fases, lo que produce dispersión y opacidad, debido a las diferencias de índice de refracción de los distintos medios (Saarela y col., 2008).

En el endosperma del grano de maíz pueden identificarse dos zonas, con distintas características de dureza, transparencia y color, que toman el nombre de endosperma harinoso y endosperma vítreo (o córneo) (Rasper, 1991; Robutti y col., 1997; Landry y col., 2004). Además, el endosperma de maíz puede presentar diferentes grados de translucidez, dependiendo de la variedad (Felker y Paulis, 1993). El endosperma de maíz posee estructuras que se organizan en varios niveles. Los gránulos de almidón se encuentran inmersos en una matriz de proteínas dispuestas en corpúsculos proteicos (mayormente zeínas) (Robutti y col., 1994). Además, el almidón nativo es una sustancia altamente estructurada compuesta por regiones cristalinas y amorfas e incluso se han detectado canales en los gránulos de almidón de maíz que contienen proteínas (Han y col., 2005). La interacción de la luz con estas

estructuras y las discontinuidades entre ellas se ve afectada por las distintas etapas de procesado y esto produce cambios en la apariencia.

En la Figura 4-48 se observa una imagen obtenida por micrografía electrónica de barrido ambiental de la superficie del *grit* crudo en la zona del endosperma harinoso. Se distinguen los gránulos de almidón sueltos que se han separado por la acción mecánica de la molienda (diámetro promedio  $6,9 \pm 2,6 \mu\text{m}$ ; rango 3 a  $14 \mu\text{m}$ ). Los puntos blancos más pequeños tienen un diámetro promedio de  $1,9 \pm 0,6 \mu\text{m}$  lo cual está en el orden de las dimensiones de los corpúsculos de zeínas (Herman y Larkins, 1999).

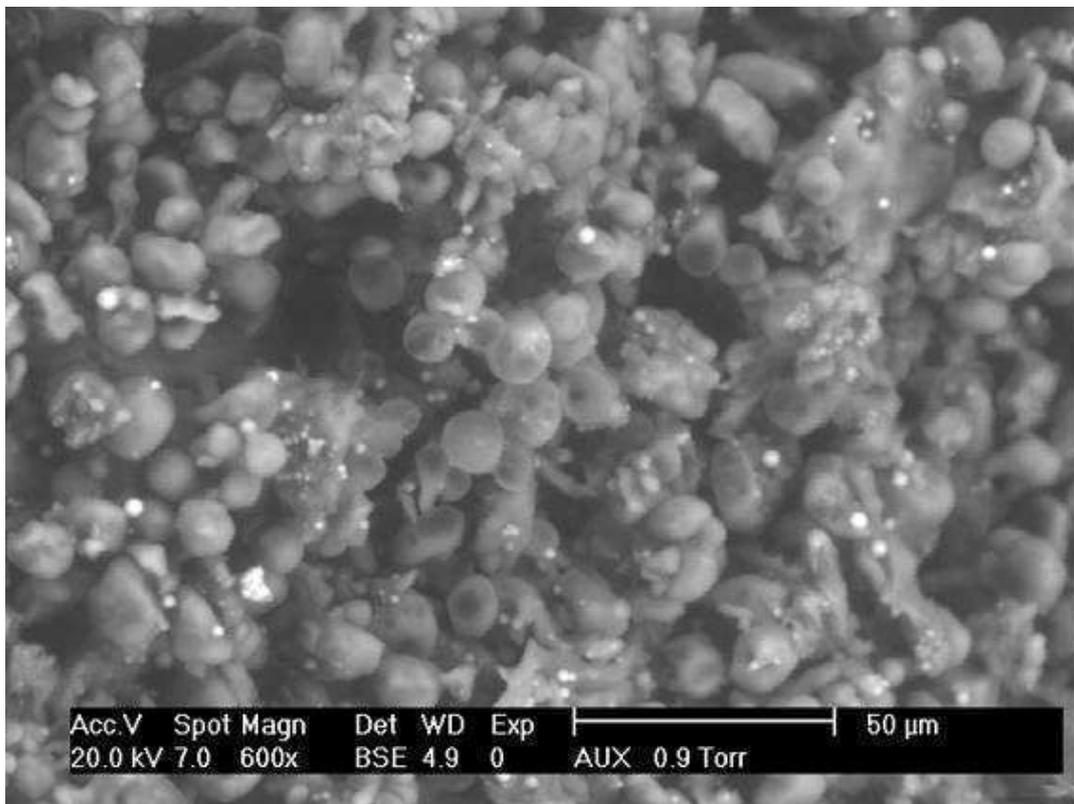


Figura 4-48: Micrografía electrónica de barrido del *grit* crudo en la zona del endosperma harinoso.

La Figura 4-49 muestra una micrografía del *grit* crudo tomada en la zona del endosperma vítreo expuesto en la zona de fractura producida por el proceso de molienda seca.

Se observa parte de las células vegetales de forma hexagonal que contienen conglomerados de gránulos de almidón densamente empaquetados, y algunos gránulos de almidón sueltos en la superficie.

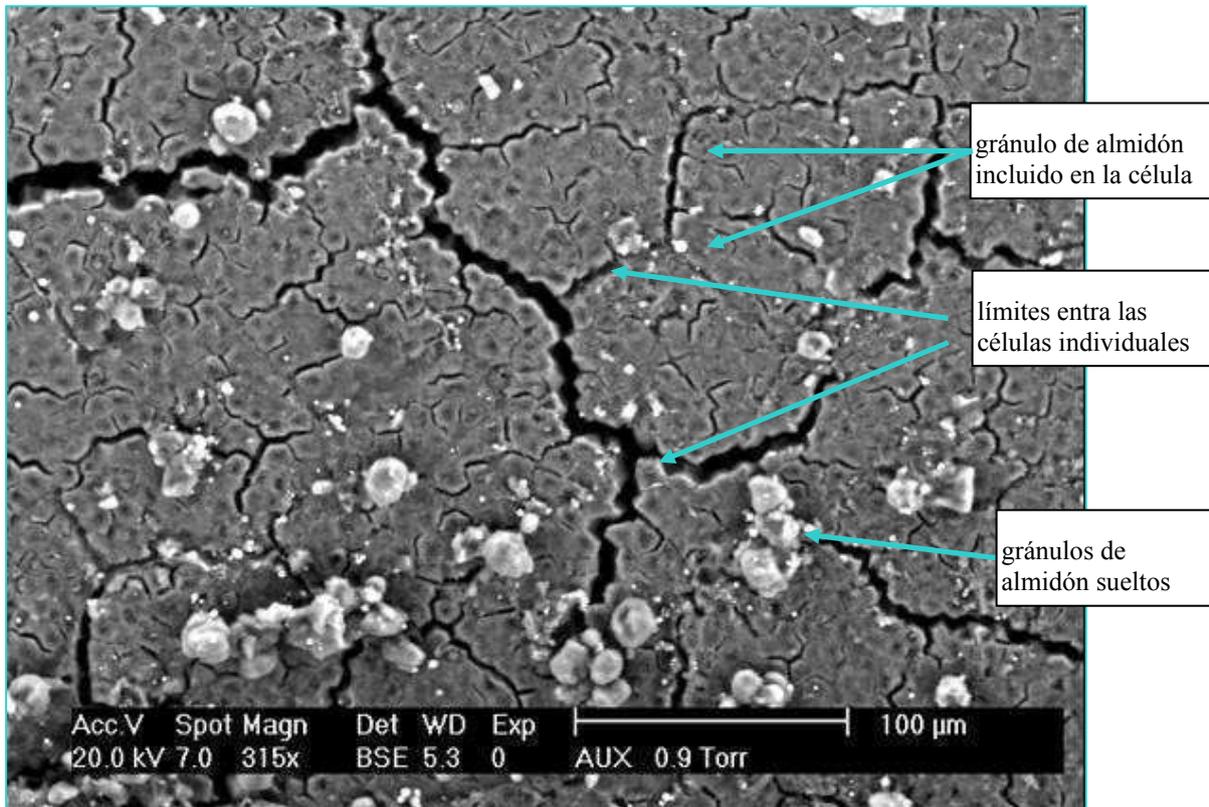


Figura 4-49: Micrografía electrónica de barrido del *grit* crudo en la zona del endosperma vítreo.

En la Figura 4-47 A puede observarse que *grit* crudo se comporta como un material casi opaco. Durante la cocción el agua ingresa a los gránulos de almidón, este se gelatiniza, como se confirmó por DSC en la sección 4.3.3.1, y se pierde la estructura cristalina. Esto modifica su estructura interna destruyendo interfases y generando una matriz más homogénea en cuanto a la transmisión de la luz, consecuentemente, se produce una disminución en la opacidad. En la Figura 4-50 puede verse que a pesar de que luego de la cocción el almidón está completamente gelatinizado los gránulos preservaron su identidad como tales. El

diámetro promedio de los gránulos hinchados, medido por análisis de imagen, fue de  $12 \pm 2$   $\mu\text{m}$  y el rango fue de 9 a 16  $\mu\text{m}$ .

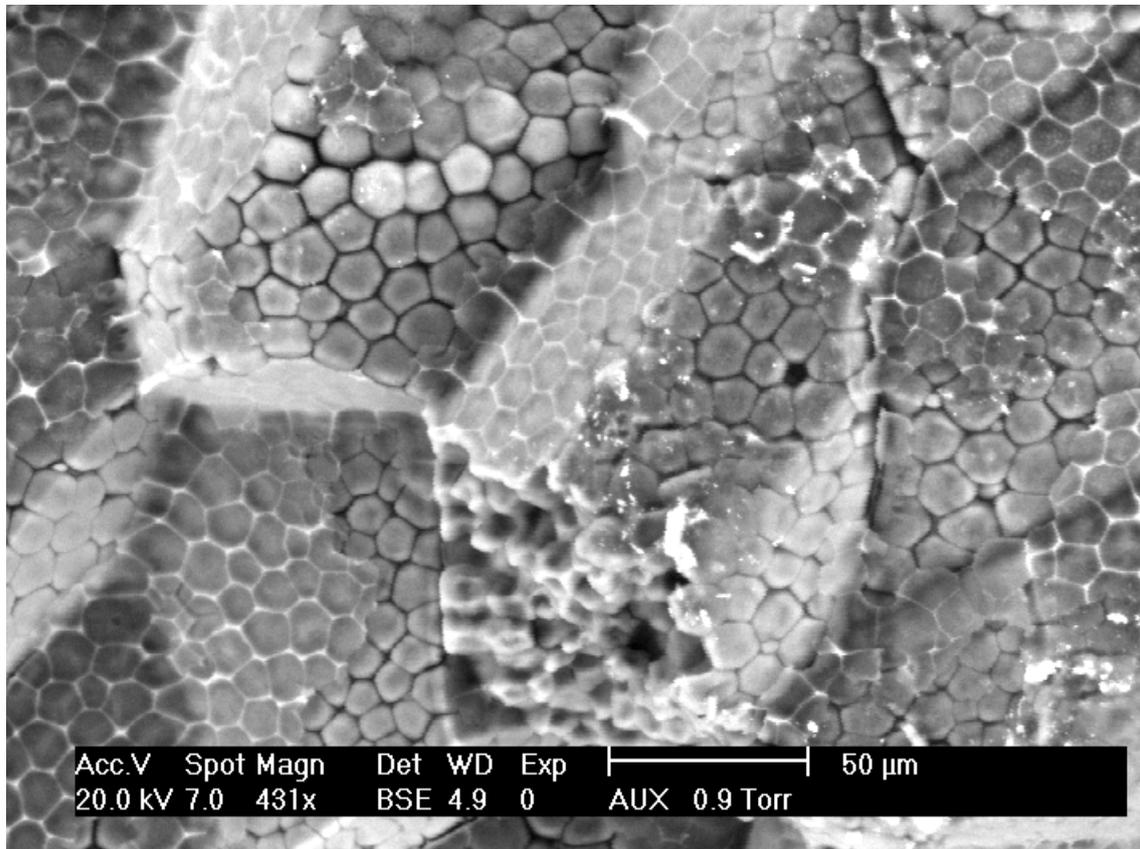


Figura 4-50: Micrografía electrónica de barrido del interior del *grit* cocido obtenida por rasgado del *grit* cocido.

Estos resultados coinciden con las observaciones de Batterman-Azcona y col. (1998) que establecieron que durante la cocción de harina de maíz los gránulos de almidón y los cuerpos proteicos se hinchan pero conservan su identidad. Además estos autores observaron la interrupción de los cuerpos proteicos durante el laminado con liberación parcial de proteínas y formación de puentes disulfuro entre estas. En la Figura 4-51 se muestra una imagen tomada

por frío-fractura luego de la cocción *grits*, donde puede observarse que la superficie se tornó más homogénea comparada con el *grit* crudo (Figura 4-49).

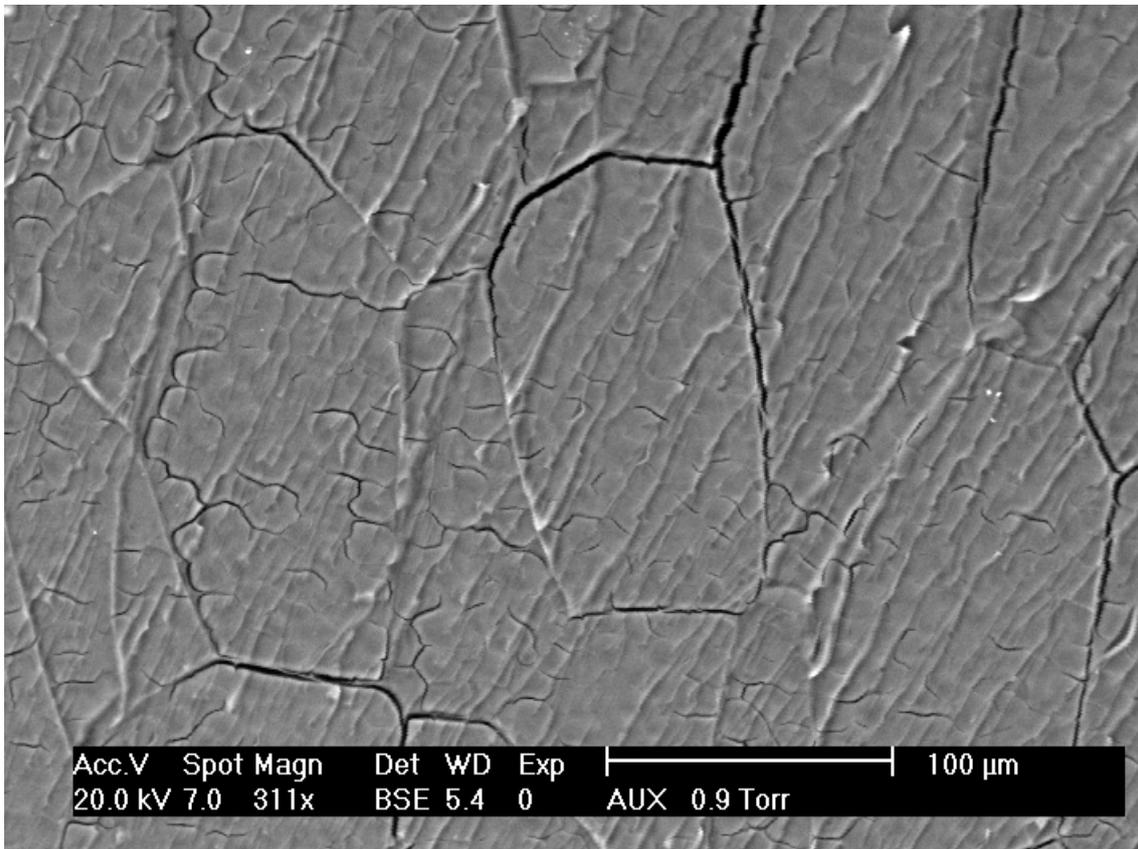


Figura 4-51: Micrografía electrónica de barrido de un *grit* cocido obtenida por criofractura.

Teniendo en cuenta las transformaciones observadas en la microestructura conjuntamente con los resultados previamente mostrados sobre la medición de opacidad, puede hipotetizarse que estos cambios, sumados a la incorporación de agua, homogenizan los índices de refracción de los diferentes componentes de la matriz. De esta forma se minimiza el efecto dispersivo de las interfases antes mencionado y la matriz se torna más transparente (Saarela y col., 2008).

El proceso de laminado comprimió la muestra bajo alta presión reduciendo su espesor a un promedio de  $0,5\pm 0,1$  mm y produciendo la compactación de todos sus componentes (Figura 4-52). Esto produjo disminución de la opacidad de la muestra como puede observarse en la Figura 4-47 B.

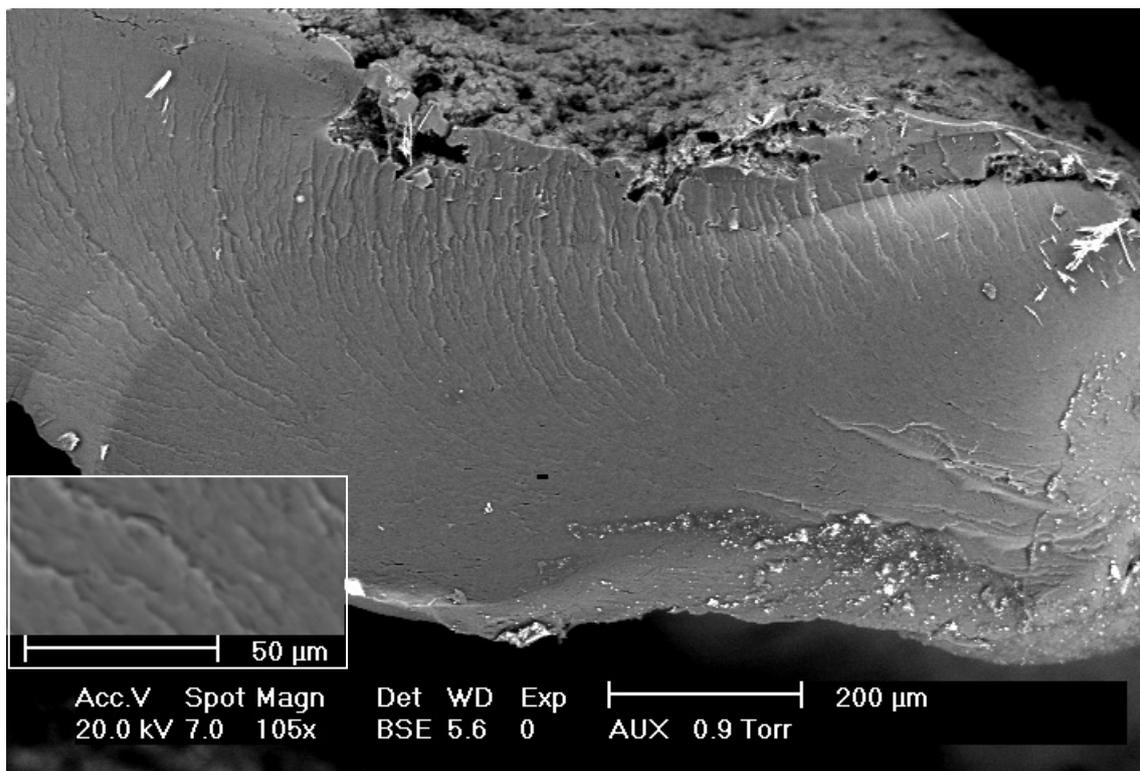


Figura 4-52: Micrografía electrónica de barrido de un corte transversal del *grit* laminado. En el inserto se observa un detalle con mayor magnificación (420x).

El proceso de tostado incrementó la opacidad en forma significativa (Figura 4-47 B). La alta temperatura acompañada de una transmisión muy eficiente del calor producida por el horno de lecho fluidizado produjo una evaporación violenta del agua de la muestra. El contenido de agua del *grit* laminado fue aproximadamente 25 %bs en promedio y para el copo de maíz fue de un 4 %bs. La formación de burbujas de aire y el consiguiente ampollado

del copo hicieron que el espesor promedio se incremente a  $1,66\pm 0,28$  mm. Todas estas observaciones sobre los cambios de opacidad se analizarán en la sección 4.7 en relación con el diagrama de estado.

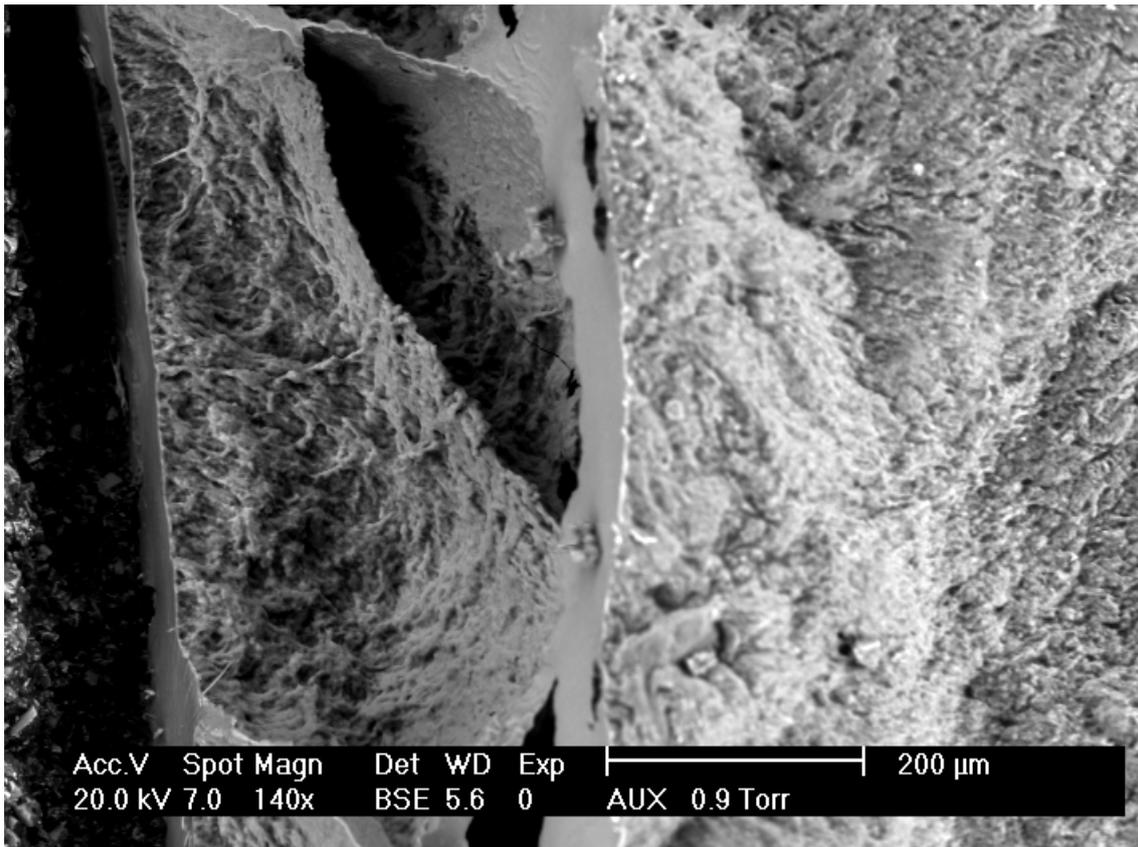


Figura 4-53: Corte transversal del copo de maíz, se observan las burbujas producidas en el seno de la matriz compactada. A la derecha se puede ver la superficie rugosa.

En la Figura 4-54 se observan imágenes de un *grit* laminado y un copo de maíz tomadas con iluminación posterior difusa sobre una escala de líneas horizontales de diferente grosor (1,02, 0,89, 0,67, 0,55, 0,35 y 0,21 milímetros respectivamente). Esta disposición permite comparar en forma semicuantitativa cambios de opacidad, a medida que la opacidad de la muestra aumenta se hacen difusas primero las líneas más delgadas y luego las más gruesas.

En el *grit* laminado fueron visibles cinco líneas a través de la muestra y en el copo de maíz ninguna de las líneas fue visible. De esta manera puede evaluarse en forma rápida el grado de dispersión de la luz que se produce al atravesar la muestra (Caivano, 2000).

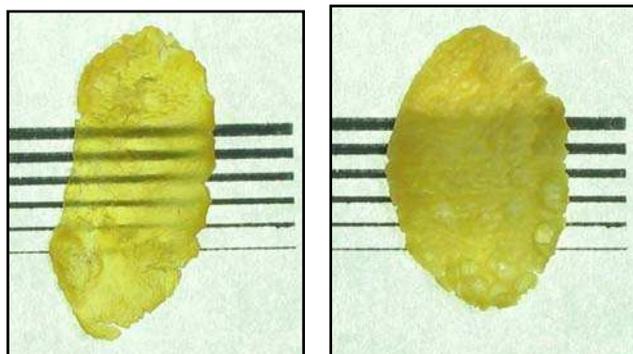


Figura 4-54: Evidencia del cambio en la traslucidez del *grit* laminado (izquierda) y luego del proceso de tostado (derecha) fotografiados con retroiluminación difusa sobre una escala de líneas horizontales.

### 4.3.2.2. Cambios cromáticos en muestras del proceso industrial

El color del grano de maíz depende de la variedad de maíz utilizada (Ford, 2000). Como ya se ha dicho (sección 4.3.2.1), el grano de maíz presenta dos tipos de endosperma, vítreo y harinoso. Al partirlo para producir los *grits* ambos tipos de endosperma se encuentran expuestos y presentan diferente aspecto y coloración (Figura 4-55). En los *grits* las zonas rojo anaranjado corresponden al endosperma vítreo y las zonas blancas corresponden al endosperma harinoso. Como se discutió en la sección 1.2.3, los pigmentos carotenoides no se distribuyen en forma uniforme en el endosperma. Es mayor su concentración en el endosperma córneo respecto del endosperma harinoso (Weber, 1987). Por lo tanto, el color del *grit* se determinó sobre las zonas correspondientes al endosperma córneo, evitando las zonas blancas ya que, en ausencia del pericarpio, las primeras son las que principalmente

definen el color del grano entero. El color del *grit* depende de la variedad de maíz utilizada. Si bien existe un amplio espectro de colores dentro de los granos, los tipos comerciales utilizados en nuestro país para productos laminados de maíz presentan un color que varía del amarillo al naranja rojizo (Robutti, 2004).

Durante la cocción se produjo un oscurecimiento de la muestra debido a la formación de pigmentos color pardo por el desarrollo de las reacciones de pardeamiento no enzimático (como se explicará en la sección 4.4.1) y además la coloración de las muestras se volvió uniforme. En el laminado ocurrió un importante cambio de forma y alteración de la matriz debido a la compresión, el material se aclaró y se volvió más amarillo. Finalmente en el tostado el cambio de color fue menos pronunciado para dar el color pardo amarillento o suavemente tostado característico de estos productos.

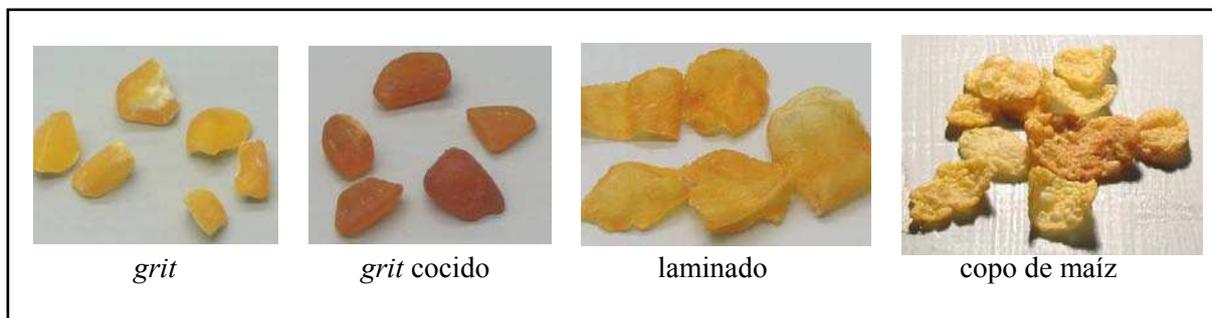


Figura 4-55: Fotografías de las cuatro etapas de producción de copos de maíz utilizados en este estudio. La imagen del copo de maíz fue tomada con luz incidente a 45° para destacar el ampollado de la superficie.

Debido a que, como se discutiera en la sección anterior, el color de las muestras fue afectado por el fondo, se determinó el espesor necesario para realizar las mediciones en condiciones en que el material se comporte como opaco. Según puede observarse en la Figura

4-56 A a C, para un espesor de 2 cm los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  medidos con fondo blanco fueron iguales a los medidos con fondo negro. Por lo tanto, se utilizó una capa de 2 cm de altura para realizar las mediciones de color por análisis de imágenes, y se obtuvieron los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .

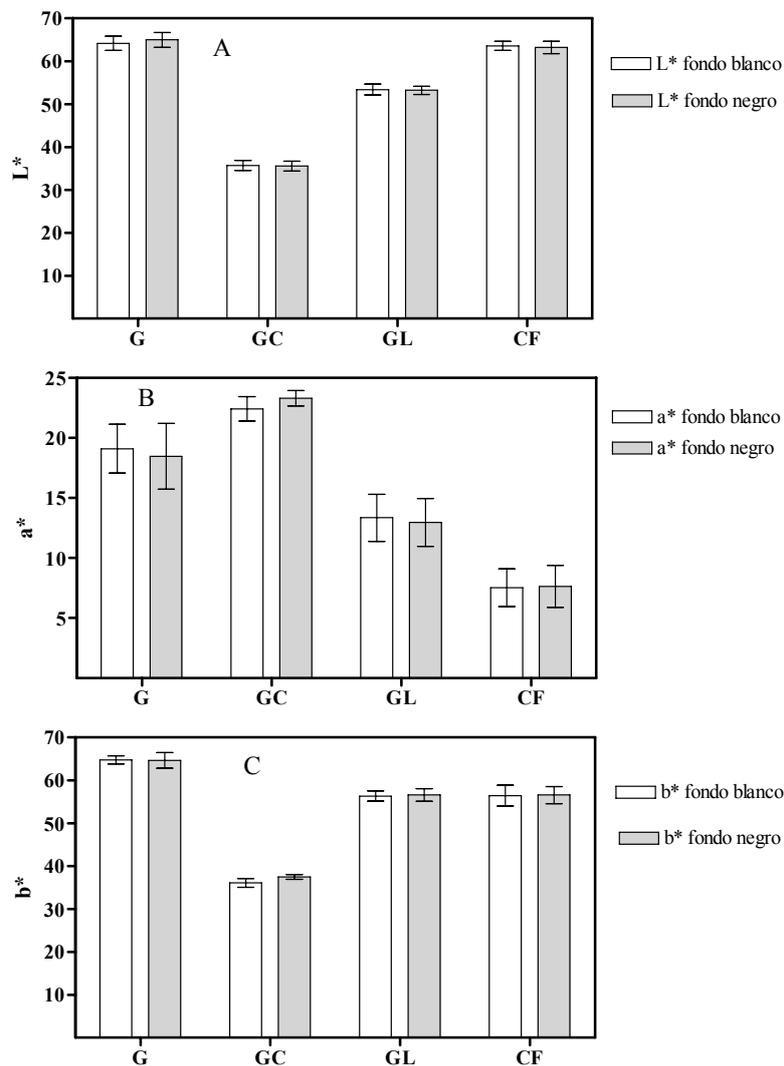


Figura 4-56: comparación de los valores de las coordenadas cromáticas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  obtenidas con las muestras dispuestas en capas de 2 cm de altura utilizando fondo blanco y fondo negro. Las barras de error representan los límites del 95% de confianza. Se observa que no existió diferencia significativa entre los fondos.

Los valores de las coordenadas cromáticas en el espacio CIELAB, obtenidas durante las distintas etapas de proceso industrial, permitieron realizar una evaluación cuantitativa de las apreciaciones visuales descritas cualitativamente en los párrafos anteriores. En la Figura 4-57 A a C, se observa la variación que se produjo en dichas coordenadas para las muestras seleccionadas: el *grit* crudo, (G), *grit* cocido (GC), laminado (GL) y copo de maíz (CM).

Luego de la cocción  $L^*$  disminuyó en forma significativa, alcanzando el menor valor de los cuatro tipos de muestras;  $a^*$  aumentó y alcanzó el mayor valor de las cuatro etapas y  $b^*$  disminuyó llegando a su menor valor luego de la cocción (aumentó la componente roja y disminuyó la componente amarilla).

Después del laminado:  $L^*$  y  $b^*$  mostraron un aumento significativo respecto del *grit* cocido, mientras que  $a^*$  disminuyó en esta etapa.

El tostado produjo un aumento en el valor de  $L^*$ ,  $b^*$  se mantuvo constante y  $a^*$  disminuyó. En esta etapa disminuyó levemente la componente roja.

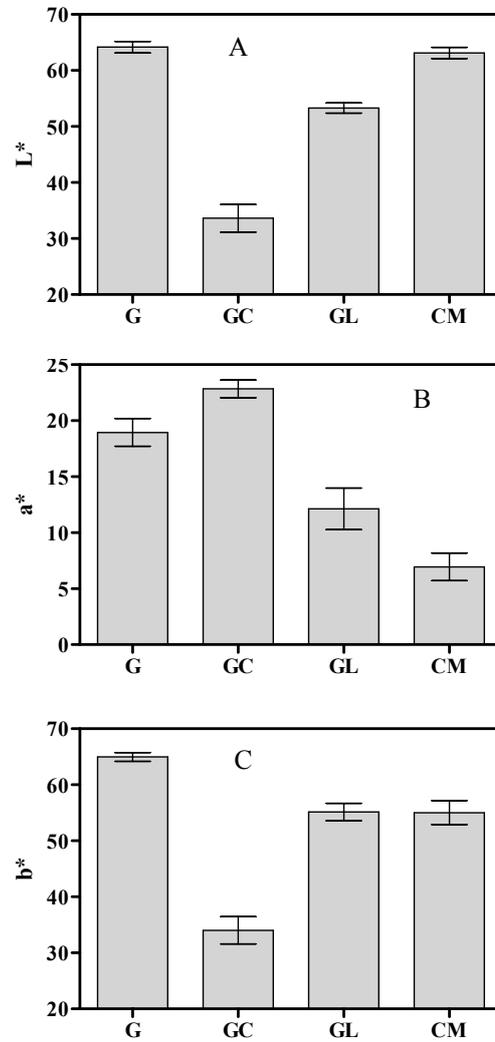


Figura 4-57: Variación de las coordenadas cromáticas L\*, a\* y b\* durante las etapas de producción de copos de maíz: *grit* crudo (G), *grit* cocido (GC), laminado (GL) y copo de maíz (MC). Las barras de error indican el intervalo de confianza del 95%.

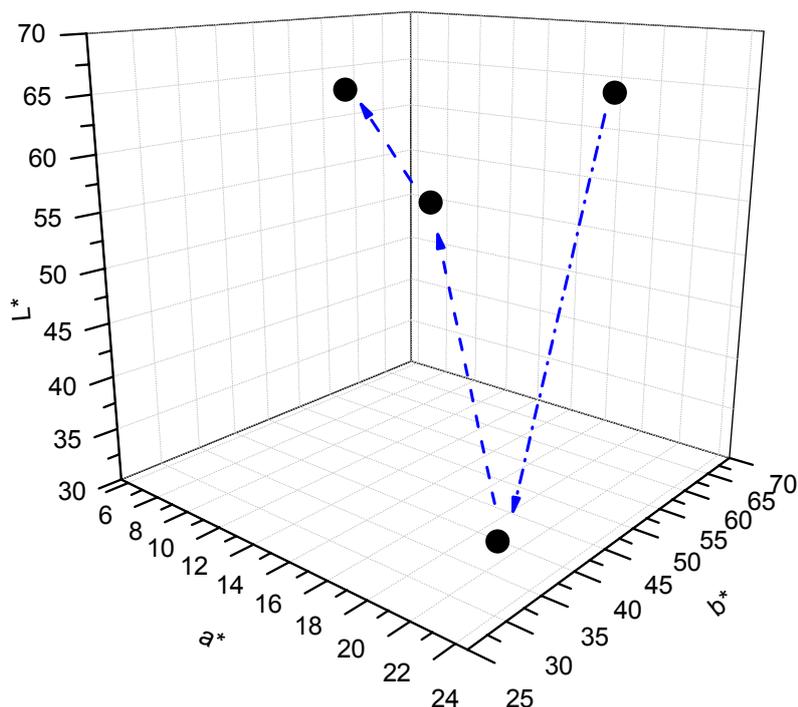


Figura 4-58: gráfica en tres dimensiones mostrando las variaciones de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  durante las etapas de proceso para 3 muestras diferentes. Las flechas azules indican el sentido de avance del proceso.

Los datos encontrados en la bibliografía para diferentes sistemas sometidos a tratamiento térmico y pardeamiento, muestran que la coordenada cromática  $L^*$  sufrió una disminución en función del tiempo. Sin embargo, el comportamiento de las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$  presentó resultados que variaron dependiendo del tipo de sistema en estudio y el tratamiento aplicado (Ibanglou, 2002; Pedreschi, 2007; Krokida y col., 2001; Purlis y col., 2009; Shibukawa y col., 1989; Hutchings y col., 2002). Estas diferencias se pueden atribuir a cambios superficiales o estructurales, como los antes mencionados (sección 4.3.2.1), que se producen durante el procesado de los sistemas. En un estudio de tostado de copos de maíz comerciales Sumithra y Bhattacharya (2008) encontraron que  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  presentaron un máximo en función de la humedad. En este trabajo se utilizaron humedades iniciales máximas de 17 %bs mientras que en nuestras muestras la humedad inicial de tostado promedio fue de

25 %bs. En el mencionado trabajo, para la máxima humedad  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  disminuyeron en función del tiempo y de la temperatura de tostado.

Si representamos el espacio de color en un plano cuyos ejes estén representados por las coordenadas cromáticas  $a^*$  y  $b^*$ , independientemente de cual sea el valor de  $L^*$ , el ángulo determinado por la intersección de cada punto con el centro de los ejes se llama ángulo de tono y es una medida de la proporción de cada componente (rojo, amarillo, verde o azul) que determina el color final. De esta manera, si dicho ángulo es de  $0^\circ$   $a^*$  es positivo (+) y solo la componente roja está presente, para  $90^\circ$   $b^*$  es (+) (amarillo), para  $180^\circ$  es  $a^*$  negativo y se presenta solo la componente verde, y finalmente para  $270^\circ$   $b^*$  es (-) (azul). Los valores de  $a^*$  y  $b^*$  para las muestras estudiadas fueron positivos, todos los puntos correspondieron a un ángulo de tono entre  $0$  y  $90^\circ$ , indicando que los componentes dominantes en las muestras fueron el rojo y el amarillo.

En la Figura 4-59 se observa un diagrama del desplazamiento cromático que se produce por la variación de los valores de  $a^*$  y  $b^*$  durante las distintas etapas del proceso industrial. El color del fondo del gráfico es orientativo y proporciona una idea de la variación relativa de las componentes roja y amarilla para un valor de  $L^*$  de 50.

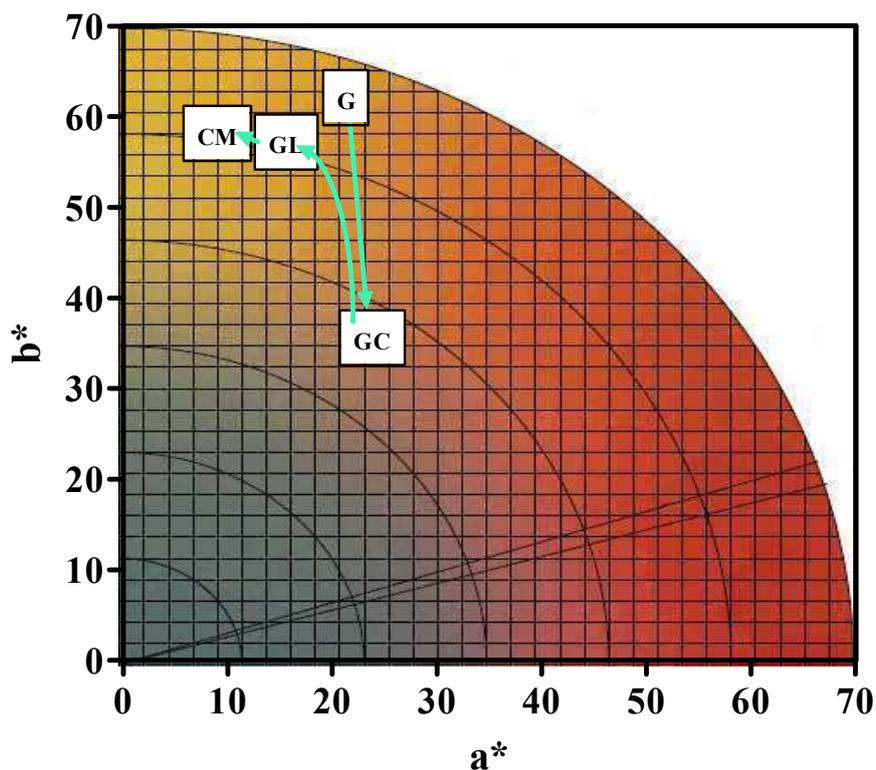


Figura 4-59: Cuadrante de valores positivos para  $a^*$  y  $b^*$  dónde se indica la variación de dichas coordenadas cromáticas para las diferentes etapas del proceso industrial. Las flechas indican la dirección en que progresa el proceso de las muestras. El color del fondo es orientativo del cambio de tonalidad.

En la Figura 4-60 se observan los valores del ángulo de tono ( $h'_{ab}$ ) calculado según está definido en la fórmula CIED2000 (Gaurav y col., 2005). El valor promedio para el *grit* crudo fue de  $74^\circ \pm 1$ . Luego de la cocción este valor disminuyó a  $45^\circ \pm 5$ , indicando un desplazamiento hacia el rojo. Esto es coincidente con el cambio de color observado (Figura 4-55): el color anaranjado del maíz se transformó en un tono mucho más rojizo. Paralelamente la muestra se oscureció, (disminución de  $L^*$ ) debido a la formación de productos pardos. El proceso de laminado cambió el tono hacia el amarillo ( $77^\circ \pm 2$ ). Luego del tostado el valor de  $h'_{ab}$  fue de  $82^\circ \pm 1$ , indicando que continuó el desplazamiento hacia el amarillo, lo que coincide con el aspecto final de este tipo de cereales.

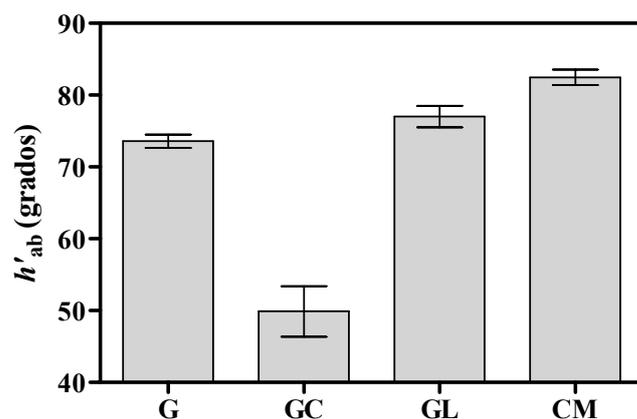


Figura 4-60: Angulo de tono ( $h'_{ab}$ ) para las etapas de proceso de producción industrial. Las barras de error representan el límite del 95% de confianza.

La función saturación métrica, definida para el espacio CIELUV se calculó para las distintas muestras y los resultados se observan en la Figura 4-61. Las muestras con mayor grado de saturación correspondieron a las muestras al final de la cocción, que luego se desaturan, no por pérdida de pigmentos, pero por cambios en la microestructura, como veremos en la sección 4.4.1.2.

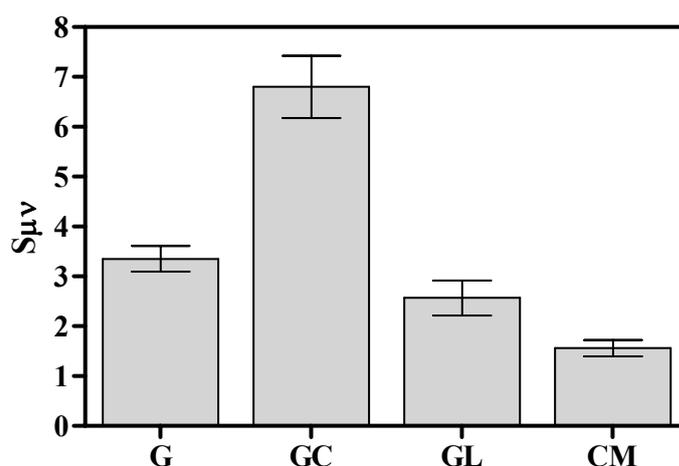


Figura 4-61: Saturación métrica calculada en el sistema CIELUV para las distintas etapas de proceso. Las barras de error representan el límite del 95 % de confianza.

#### 4.3.2.3. Cambios en los índices de absorción y dispersión de la luz

Dado que ocurrieron diferencias en la opacidad/translucidez de las muestras durante el proceso, se aplicaron las funciones de Kubelka y Munk para calcular los parámetros relacionados con la transmitancia y dispersión de la matriz de la muestra. Si bien esta teoría fue desarrollada en un principio para pinturas también ha sido utilizada en sistemas de alimentos (Buera y Resnik, 1990; McClements y col., 1998; Pauletti y col., 1999; Lana y col., 2006).

Como se definió en la sección 1.6.4.1, el parámetro  $S$  está relacionado con la capacidad de dispersión de la luz del material, y  $K$  con la capacidad de los pigmentos de absorber luz. En la Figura 4-62 se grafican ambos parámetros para cada etapa del proceso.

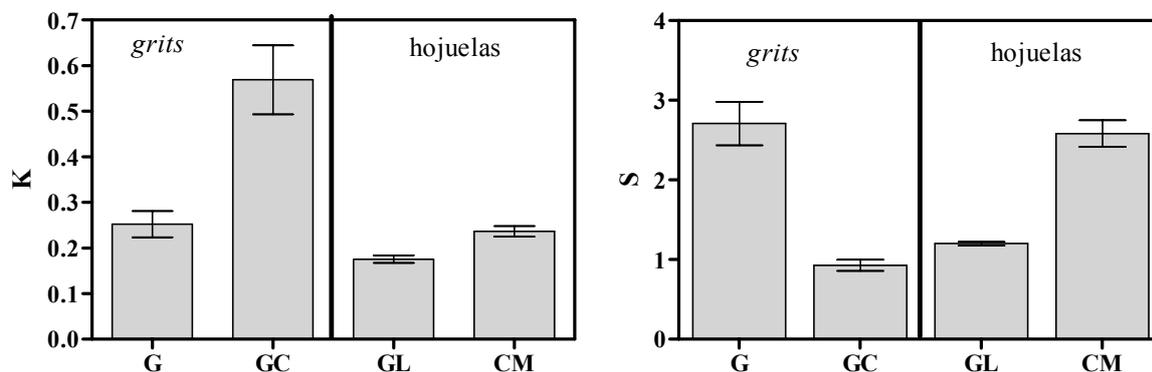


Figura 4-62: Coeficientes de atenuación ( $K$ ) y de dispersión ( $S$ ) para las etapas del proceso industrial. Las barras de error representan los límites del 95 % de confianza.

Como se realizó para el análisis de opacidad, dadas sus distintas geometrías y estructuras, se analizan por un lado las muestras que mantienen la forma de *grit* y las laminadas (con forma de *hojuela*) por el otro.

Durante la cocción de los *grits*,  $K$  aumentó por la formación de pigmentos pardos, ya que según la teoría de K-M el coeficiente de atenuación depende indirectamente de la

transmitancia interna de la muestra. Por otro lado, S disminuyó debido a la pérdida de interfases lo que produjo una disminución de la opacidad al ocurrir la gelatinización (ver sección 4.3.2.1). En el tostado del producto ya laminado, K y S aumentaron, debido al aumento de concentración de pigmentos y a la mayor dispersión causada por las burbujas de aire. Para evitar el efecto del espesor, y contar con un parámetro que tenga en cuenta el cambio de luminosidad independientemente del poder dispersivo del material, se calculó la relación K/S y los resultados se muestran en la Figura 4-63. Se observó un aumento neto de este parámetro durante la cocción, coincidente con los cambios de luminosidad, luego el valor de K/S disminuyó para los sistemas laminados y finalmente ocurrió una disminución ulterior en el tostado. Estos últimos datos, reflejan el efecto de la dispersión de la luz sobre el valor K/S y son efectivamente coincidentes con lo observado visualmente respecto del grado de oscurecimiento de las muestras (ver fotografías en la Figura 4-55) y los valores de la función  $L^*$ . De esta manera, mientras que K y S permiten analizar distintos fenómenos separadamente, el cociente K/S está relacionado con la apariencia visual de las muestras.

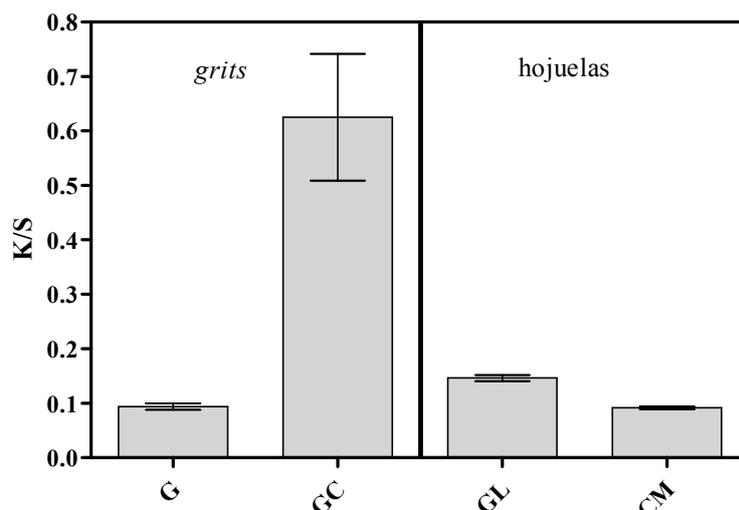


Figura 4-63: Relación K/S para las etapas del proceso de producción de copos de maíz estudiadas. Las barras de error representan los límites del 95% de confianza.

### 4.3.3. Cambios durante la cocción de sistemas modelo.

Dado que las muestras correspondientes a las distintas etapas del proceso fueron obtenidas al final de cada una de ellas y, con el objeto de estudiar la etapa de cocción en función del tiempo, se prepararon sistemas modelo a partir de *grits* crudos que se mezclaron con distintas formulaciones (control (C), glucosa (G), malta (M) y glucosa+malta (GM)) y se sometieron a cocción al vapor en condiciones de temperatura y presión similares a las del proceso industrial. Se tomaron muestras sometidas a distintos períodos de cocción (5, 15, 30, 60 y 120 minutos).

#### 4.3.3.1. Gelatinización del almidón.

Los sistemas de *grits* gelatinizados producidos en el laboratorio se emplearon para analizar el impacto de la gelatinización sobre la transparencia/opacidad de las muestras. La Tabla 4-21 muestra el porcentaje de gelatinización del almidón, determinado por DSC según la ecuación 3-8, en función del tiempo de cocción para las diferentes formulaciones. En los primeros 5 minutos ocurrió una extensa gelatinización siendo mayor que 80 % para las muestras C y M y mayor que el 70 % para G y GM. En las muestras con agregado de glucosa el porcentaje de gelatinización fue menor en los primeros minutos evidenciando la menor disponibilidad de agua por la presencia de azúcares. Luego de 60 minutos de cocción los termogramas indicaron que el almidón estaba gelatinizado en un 100 % para todas las formulaciones.

Tabla 4-21: Porcentaje de gelatinización del almidón en función del tratamiento térmico para las distintas formulaciones: control (C), glucosa (G), malta (M) y glucosa+malta (GM) y los tiempos de cocción. Media (desviación estándar).

Tiempo (min)	Formulación			
	C	G	M	GM
5	89 (2)	78 (3)	82 (2)	72 (1)
15	95 (1)	92 (1)	96 (1)	91 (1)
30	96 (4)	94 (3)	98 (2)	98 (1)
60	100	100	100	100

En la Figura 4-64 se muestran micrografías tomadas con luz polarizada correspondientes a las muestras de G-M analizadas a distintos tiempos de cocción, que pueden dar una idea cualitativa del grado de gelatinización de las muestras. En comparación con lo observado en la Tabla 4-21 se pone de manifiesto que, mientras por DSC se midió un 72 % de gelatinización a los 5 minutos de cocción, en la micrografía el número de estructuras birrefringentes era aún elevado a ese tiempo. Esto refleja que dado que la gelatinización involucra diferentes etapas, el resultado al determinar su grado de avance depende del método empleado. Podemos decir entonces que las transiciones térmicas tuvieron lugar antes de que ocurra la pérdida de birrefringencia. Recién se observó una disminución notable de birrefringencia a los 60 minutos.

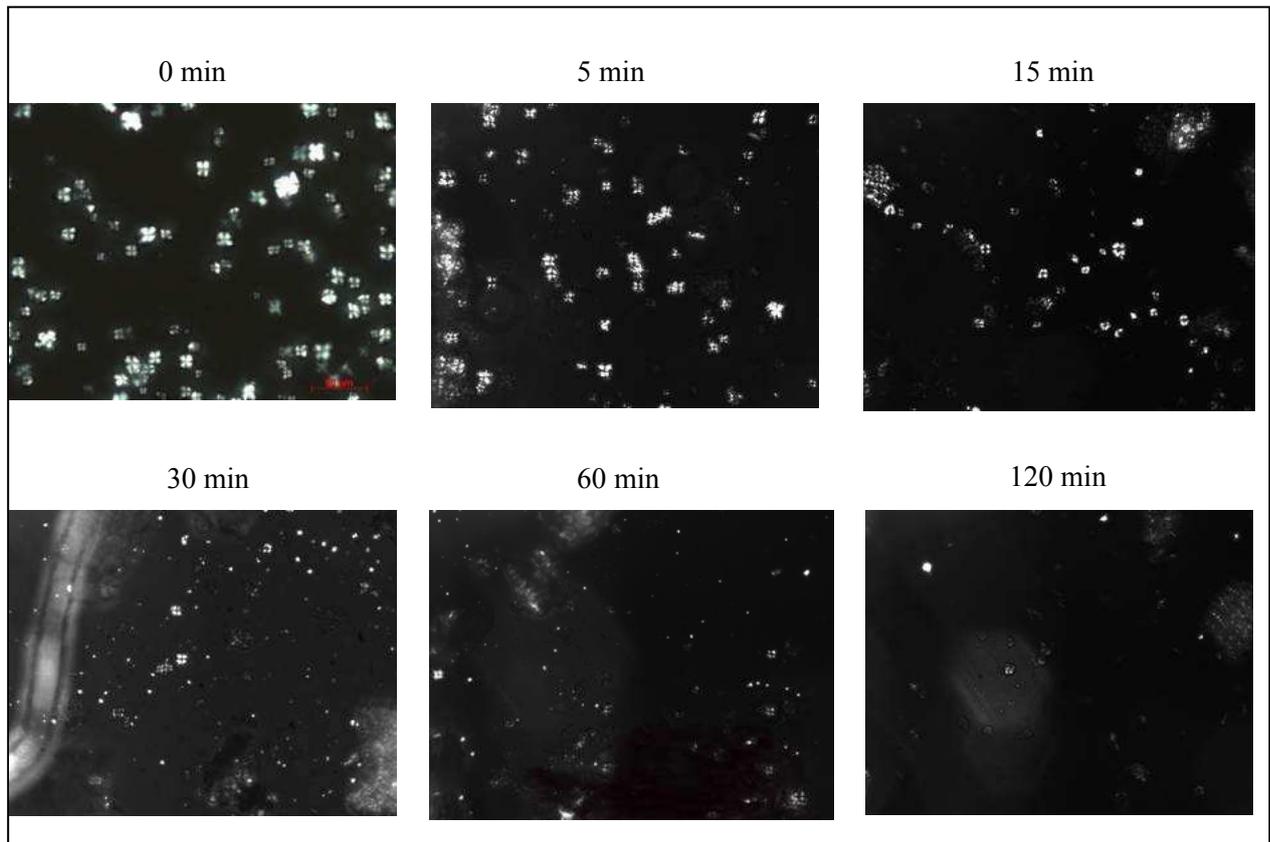


Figura 4-64: Micrografías tomadas con luz polarizada de suspensiones de los sistemas modelo cocidos a diferentes tiempos donde se observa la desaparición de la cruz de malta de los gránulos de almidón (200x). La formulación mostrada es GM y el tiempo de cocción se indica en la parte superior de cada imagen.

#### 4.3.3.2. Cambios de opacidad.

Los valores de  $L^*$  de los sistemas modelo de *grits* cocidos dispuestos en un capa presentaron diferencias según se midieran con fondo blanco o negro, lo que indica que las muestras no se comportan como un material opaco.

En la Figura 4-65 se muestran imágenes de los sistemas control (C) sometidos a cocción durante 5 y 120 minutos y con glucosa + malta (GM) luego de 120 minutos de cocción, dispuestos sobre fondos blancos o negros como ejemplo del efecto del fondo en la apariencia visual.

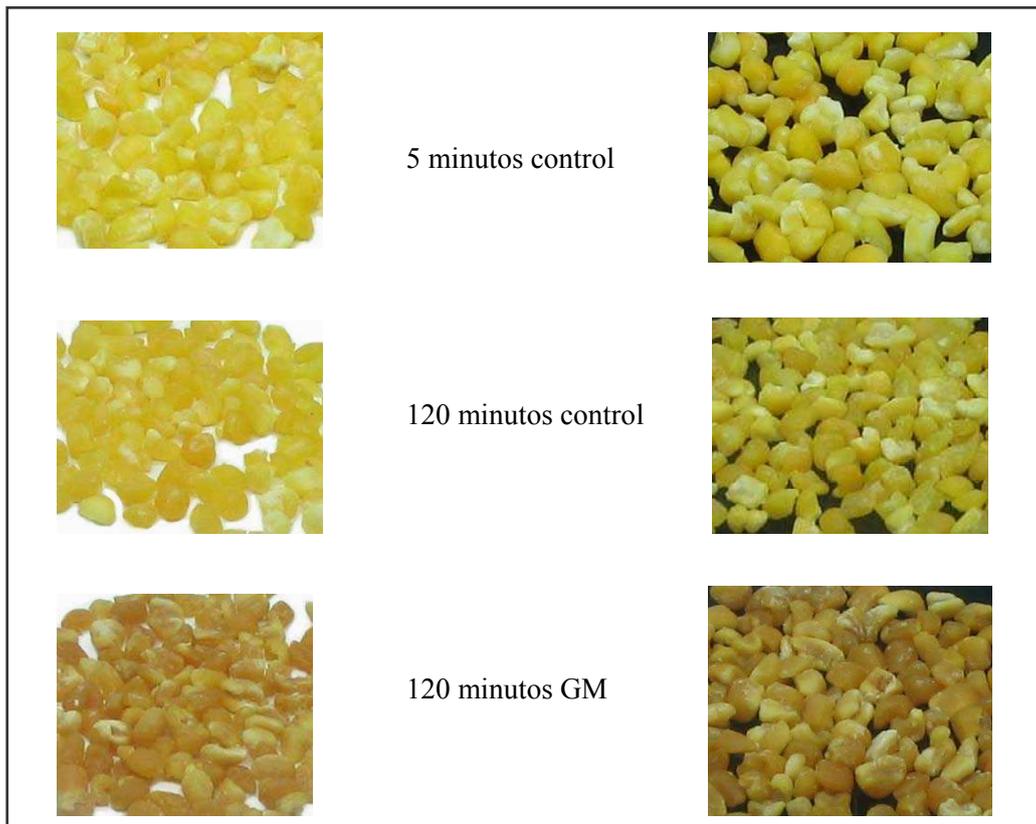


Figura 4-65: Ejemplos de las imágenes utilizadas para calcular los valores de  $L^*$  con fondo blanco o negro. Se observa la muestra control a los 5 y 120 minutos y el sistema GM a los 120 minutos en el que puede observarse el desarrollo de color.

Se realizaron las determinaciones de los valores de  $L^*$  (tanto con fondo blanco como con fondo negro). Como se ve en la Figura 4-67, el valor de  $L^*$  sufrió un aumento luego de 5 minutos de cocción. Este efecto de aclarado se debió a la imbibición del material por el agua a alta temperatura y presión. Probablemente al embeberse en agua las fracciones insolubles (proteínas, almidón) forman una nueva fase en suspensión acuosa. Para lograr que la muestra se aclare de manera similar a temperatura y presión ambientes se requirió dejar los *grits* en remojo por 12 horas (Figura 4-66).

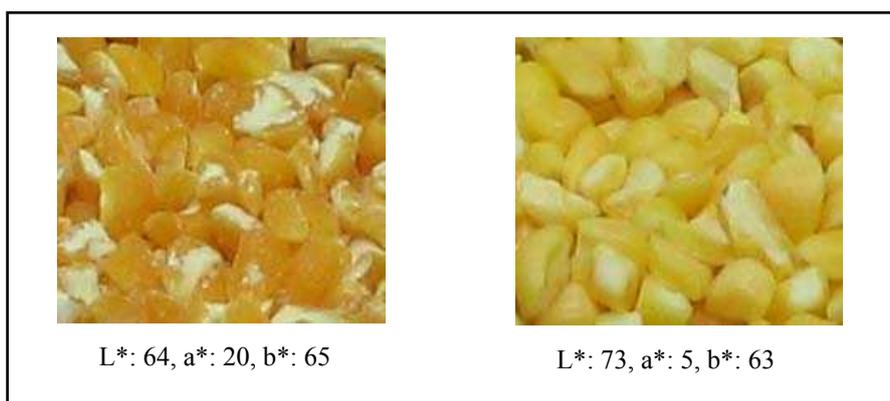


Figura 4-66: Fotografías con de los *grits* crudos, tal cual (izquierda) y luego de 12 h. de remojo en agua a 25 °C (derecha). La muestra se ve mas amarilla y mas clara.

Como se observa también en la Figura 4-67 para los tiempos mayores a 5 minutos los valores de L\* decrecieron, evidenciando el oscurecimiento de las muestras. Dicha disminución fue notoriamente mayor en las muestras cuya formulación incluyó mayor concentración de azúcares reductores (G y GM).

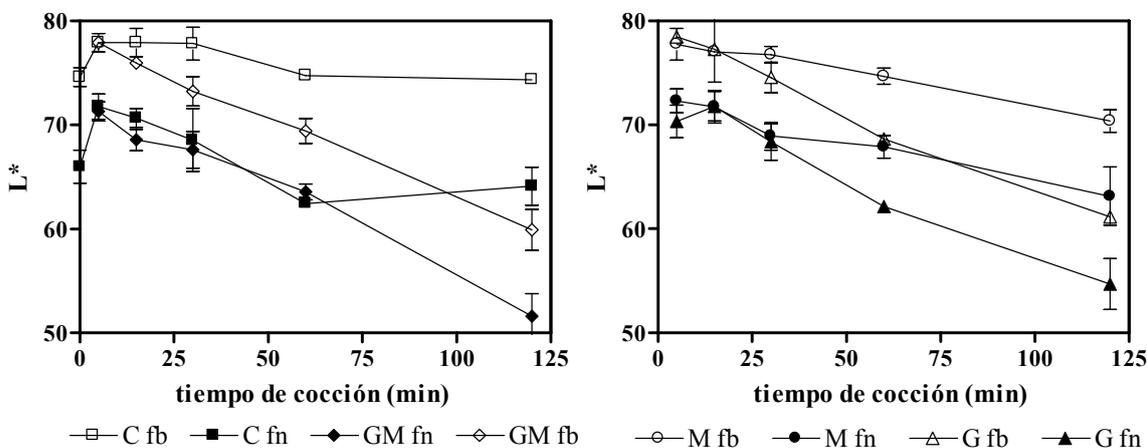


Figura 4-67: Valores de L\* con fondo blanco (fb) y fondo negro (fn) en función del tiempo de cocción para las distintas formulaciones: control (C), glucosa (G), malta (M) y glucosa+malta (GM). El valor para t=0 en el control corresponde al *grit* crudo y es común a todas las formulaciones. Las barras de error representan el intervalo de 95% de confianza.

El grado de opacidad de las muestras se midió a partir de los valores de L\* obtenidos sobre fondo blanco y sobre fondo negro aplicando la ecuación 3-32 y los resultados se observan en la Figura 4-68. Como se discutió en la sección 4.3.2.1, la opacidad del *grit*, si

bien es alta, no es igual a 1. El pequeño incremento de la opacidad ocurrido a los 5 minutos se atribuyó al efecto de la imbibición y causó el aumento de  $L^*$ , según lo descrito en los párrafos anteriores.

En el sistema control la opacidad disminuyó continuamente al aumentar el tiempo de cocción hasta los 60 minutos, tiempo en el cual se logró la gelatinización completa del almidón (Tabla 4-21), y luego se mantuvo constante.

En el resto de los sistemas (G, M y GM), que contienen azúcares reductores, el desarrollo de color hizo disminuir el valor de  $L^*$  y enmascaró la caída de opacidad.

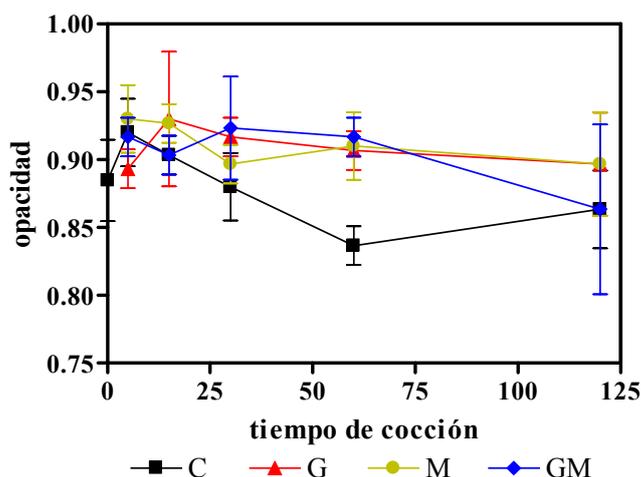


Figura 4-68: Variación de la opacidad con el tiempo de cocción para los sistemas de *grits* gelatinizados en el laboratorio (control (C), glucosa (G), malta (M) y glucosa+malta (GM)). El valor para  $t=0$  es común a todas las formulaciones. Las barras de error representan el intervalo de 95 % de confianza.

La variabilidad de los resultados en la Figura 4-68 puede atribuirse a la geometría irregular de las muestras, ya que las condiciones ideales para el cálculo de opacidad se dan para muestras de espesor constante. En este caso el valor de reflectancia de una muestra dada es un promedio de toda el área de la muestra analizada, o bien se podría considerar que el espesor es un promedio del espesor de los *grits* contenidos en la muestra analizada. El espesor

promedio de la capa de *grits* crudos dispuestos sobre el fondo fue de  $4,1\pm 0,6$  mm y para los *grits* cocidos fue de  $4,4\pm 0,4$ mm.

**4.3.3.3. Desarrollo de color.**

El color de los sistemas modelo se determinó por análisis de imágenes en muestras dispuestas en capas de 2 cm de altura para evitar el efecto del fondo, como se explicara para las muestras tomadas de las etapas del proceso industrial. En la Figura 4-69 se observa el desarrollo de color durante la cocción para las formulaciones utilizadas.

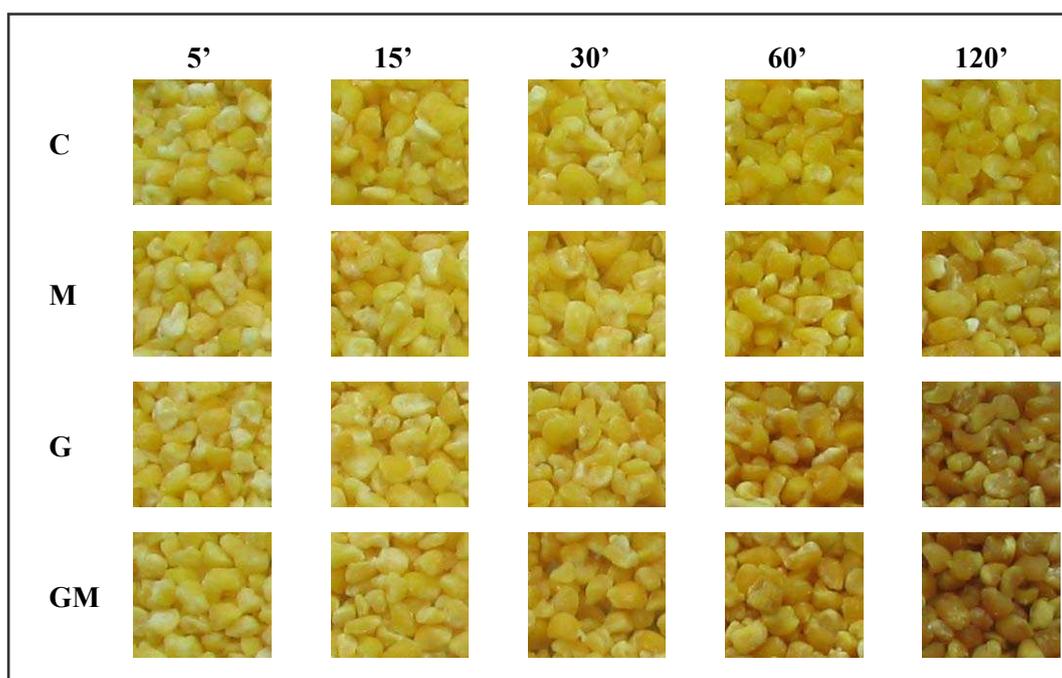


Figura 4-69: Desarrollo de color en los sistemas de grits cocidos en el laboratorio para cada formulación: control (C), glucosa (G), malta (M) y glucosa+malta (GM) a diferentes tiempos de cocción (5, 15, 30, 60 y 120 minutos).

En la Figura 4-70 se observa la variación de  $L^*$  durante la cocción para las cuatro formulaciones utilizadas. El valor de  $L^*$  aumentó a los 5 minutos, debido al efecto de la absorción de agua por la matriz, como se explicara en la sección anterior, cuando se trató la

opacidad de las muestras. Entre los 5 y 15 minutos no se produjeron variaciones importantes para las formulaciones C, M y GM, en cambio en este período  $L^*$  tendió a disminuir para G. Luego de 15 minutos  $L^*$  disminuyó con el tiempo para todas las formulaciones indicando un oscurecimiento de las muestras. Este efecto fue más marcado en las muestras que contenían glucosa agregada por el mayor aporte de grupos carbonilo más reactivos que los del extracto de malta que presentó menores diferencias con el control.

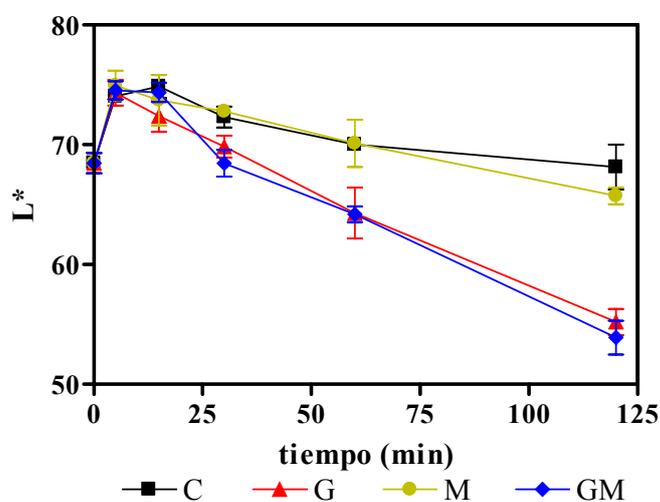


Figura 4-70: Valores de  $L^*$  para los sistemas modelo cocidos en el laboratorio. C: control, G: glucosa, M: malta, GM: glucosa y malta. Las barras de error representan los límites del 95% de confianza.

En la Figura 4-71 se observa la variación de la cromaticidad, representada por los valores de  $a^*$  y  $b^*$ , en función del tiempo de cocción. El valor de  $a^*$  disminuyó considerablemente en los 5 minutos iniciales y  $b^*$  aumentó en este período. Este efecto, atribuido a la absorción de agua, según lo discutido anteriormente, produjo que el *grit* se vea mas amarillo en este primer período. Luego de los 15 minutos  $a^*$  aumentó en todas las muestras, indicando un desplazamiento hacia el rojo, mientras que  $b^*$  se mantuvo relativamente constante para las muestras C y M y disminuyó en las que contenían mayor proporción de glucosa en su composición (G y GM). Estas variaciones en las coordenadas

cromáticas evidencian el desplazamiento cromático característico del pardeamiento (Buera y col., 1991).

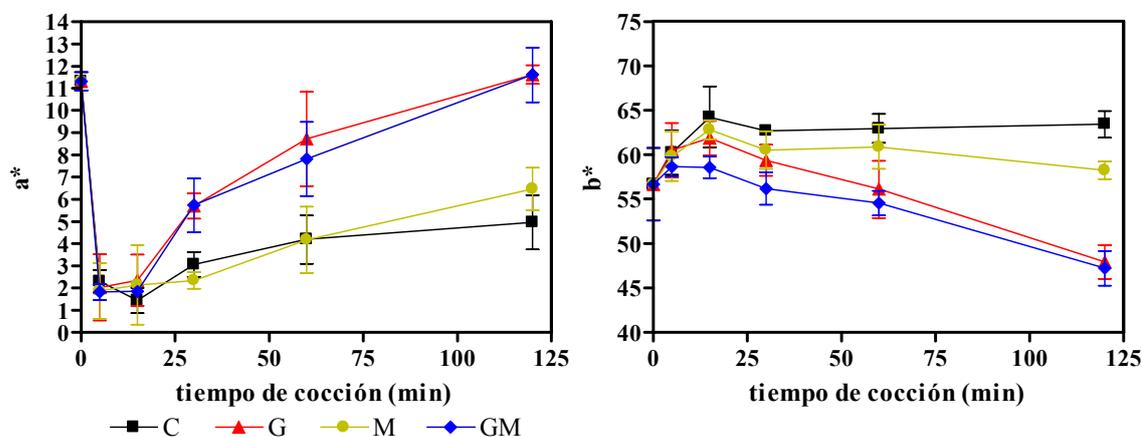


Figura 4-71: Valores de  $a^*$  y  $b^*$  para los sistemas modelo cocidos en el laboratorio. C: control, G: glucosa, M: malta, GM: glucosa y malta. Las barras de error representan los límites del 95% de confianza.

Las variaciones de color más importantes durante la cocción ocurrieron luego de los 15 minutos indicando la existencia de un período inicial de baja velocidad de reacción. Este período de retardo para el desarrollo de la reacción de Maillard ha sido descrito previamente en sistemas modelo (Matiacevich y Buera, 2006). Las muestras sin glucosa agregada, C y M, presentaron cambios mucho menores en el color que G y GM, y se oscurecieron menos. Se ha observado previamente que en las muestras sujetas a las reacciones de pardeamiento, el valor de  $b^*$  comienza a disminuir cuando el grado de oscurecimiento ( $L^*$ ) alcanza un valor del 50% aproximadamente (Buera y col., 1991).

En la Figura 4-72 se observa que el ángulo de tono aumentó en los primeros 5 minutos, se perdió componente rojo y la muestra se volvió más amarilla. Entre los 5 y los 15 minutos no se produjeron variaciones significativas. Luego de los 15 minutos  $h^*_{ab}$  disminuyó rápidamente, esta disminución fue más marcada para las muestras que contienen glucosa agregada (G y GM) que para el control y la formulación con malta. A partir de los 30 minutos

la velocidad de la reducción de  $h'_{ab}$  se hizo menor. Las formulaciones G y GM se desplazaron más hacia el rojo que C y M.

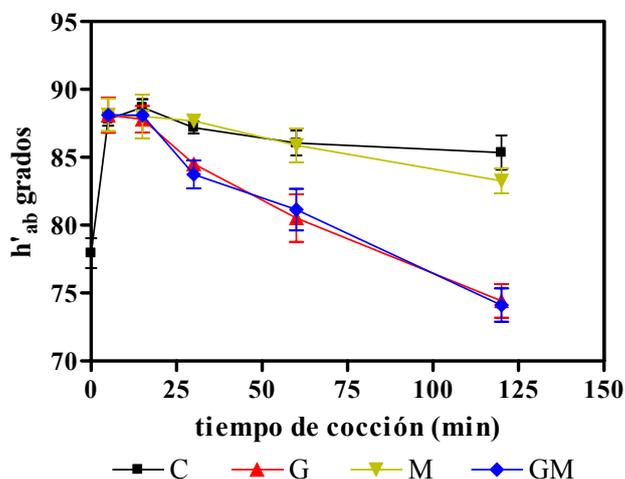


Figura 4-72: Ángulo de tono ( $h'_{ab}$ ) para los sistemas modelo cocidos en el laboratorio. C: control, G: glucosa, M: malta, GM: glucosa y malta. Las barras de error representan los límites del 95% de confianza.

#### 4.3.3.4. Índices de absorción y dispersión de la luz

Como se discutió en la sección 4.3.2.3, las funciones definidas por la teoría de Kubelka-Munk (Kubelka y Munk, 1931) coeficiente de absorción (K), de dispersión (S) y su relación (K/S) pueden utilizarse para definir cambios de apariencia que ocurren en forma simultánea con cambios de color.

Como se observa en la Figura 4-73, el valor de S disminuyó a medida que aumentó el tiempo de cocción para todas las formulaciones mientras que el valor de K aumentó, siendo este aumento mayor para las muestras que contenían mayor concentración de azúcares reductores en su formulación (G y GM) y por lo tanto desarrollaron mayor cantidad de pigmentos oscuros provenientes de la reacción de Maillard y caramelización. Teniendo en cuenta que el coeficiente de dispersión está relacionado con la opacidad de las muestras y el

coeficiente de absorción, con la concentración de pigmentos, los resultados mostrados en la Figura 4-73 revelan que el tratamiento de Kubelka-Munk permite por un lado mayor sensibilidad en la detección de cambios y por otro la separación de los efectos luminosidad y dispersión de la luz (comparar con los resultados de opacidad mostrados en la Figura 4-68).

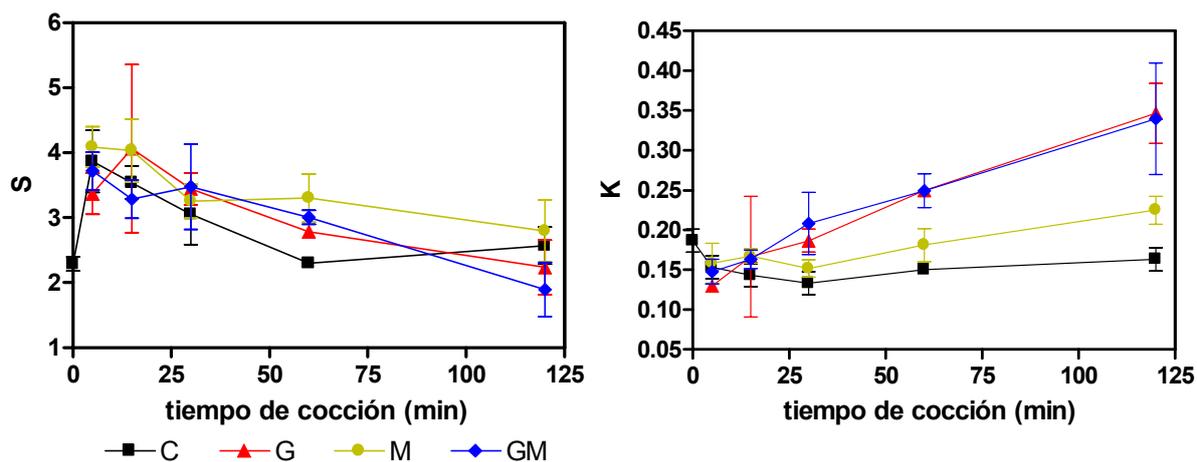


Figura 4-73: Variación de los coeficientes K y S con el tiempo de cocción. Control (C), glucosa (G), malta (M) y glucosa+malta (GM). Las barras de error representan el intervalo de 95% de confianza

El índice K/S, que es independiente del espesor de la muestra, aumentó al aumentar el tiempo de cocción. Los mayores valores de este índice y su mayor velocidad de incremento correspondieron a las muestras con glucosa agregada (G y GM), en correlación con el aspecto visual. En los sistemas control (C) y con agregado de malta (M), K/S fue más bajo que en el resto de los sistemas y, en el control, se mantuvo constante a partir de los 60 minutos, tiempo coincidente con la completa gelatinización del almidón (sección 4.3.3.1).

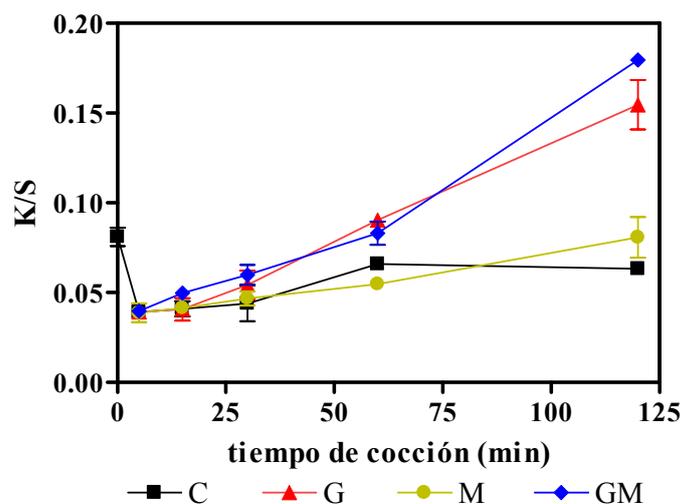


Figura 4-74: Variación del índice K/S con el tiempo de cocción. Las barras de error representan los límites de 95% de confianza. Control (C), glucosa (G), malta (M) y glucosa+malta (GM).

#### 4.3.4. Comparación de la cocción industrial con los sistemas producidos en el laboratorio.

Como se observa en la Figura 4-75, las muestras provenientes de la etapa de cocción del proceso industrial eran visualmente más oscuras que las obtenidas en la cocción en el laboratorio (GM cocido 120 m). Si bien el tiempo de tratamiento y la temperatura fueron similares a los del proceso industrial, diferencias en la formulación (como contenido de agua, azúcar presente y sales) podrían explicar la diferencia de color observadas.

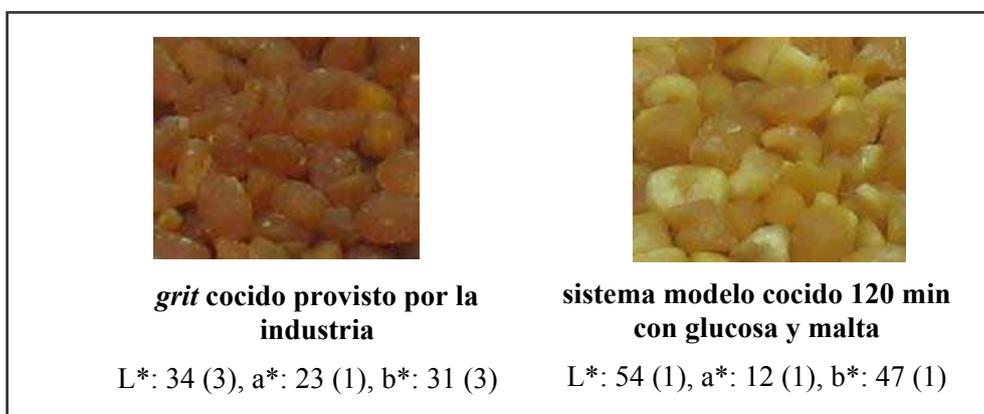


Figura 4-75: Comparación de la generación de color durante la cocción en condiciones industriales (izquierda) y los sistemas modelo generados en el laboratorio (derecha). Imágenes sin efecto del fondo.

#### 4.4. Marcadores de reacciones químicas en la elaboración.

##### 4.4.1. Muestras del proceso industrial

##### 4.4.1.1. Contenido de hidroximetilfurfural

En la Figura 4-76 se muestran ejemplos de los cromatogramas obtenidos luego de la extracción de los furfurales por el procedimiento descrito en la sección 3.16. El pico de hidroximetilfurfural (HMF) eluyó con un tiempo de retención de 5,4 minutos.

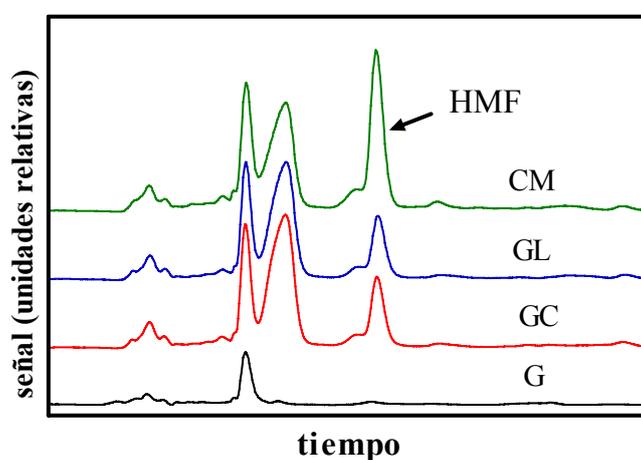


Figura 4-76: Ejemplos de cromatogramas obtenidos por cromatografía líquida de alta resolución de las etapas del proceso industrial: *grit* crudo (G), *grit* cocido (GC), *grit* laminado (GL) y copo de maíz (CM). Se indica con una flecha el pico de 5-hidroximetil-furfural (HMF).

En la Figura 4-77 se detallan los valores de contenido de hidroximetilfurfural para muestras de las distintas etapas del proceso industrial expresado en mg de HMF por Kg de materia seca ( $\text{mg}\cdot\text{KgMS}^{-1}$ ).

En los *grits* crudos el contenido de HMF fue no detectable. La cocción y el tostado produjeron un importante incremento en el contenido de HMF. Los valores obtenidos para copos de maíz fueron cercanos a los publicados por Rufián-Henares y col. (2006) para cereales de desayuno basados en maíz ( $42,87\pm 7,92 \text{ mg}\cdot\text{KgMS}^{-1}$ ). Es importante notar que la cantidad de HMF generada por los procesos de cocción y tostado fue similar. La cocción tuvo

lugar bajo condiciones de vapor saturado (temperatura cercana a 120° C) y el contenido de agua de las muestras fue alto, estas condiciones son menos favorables para las reacciones que implican la formación de HMF; mientras que el tostado ocurrió a una temperatura de alrededor de 200 °C bajo corriente de aire caliente y con menores contenidos de agua. Ameur y col. (2006) encontraron que la formación de hidroximetilfurfural se favorece a bajas actividades de agua (menores que 0,4). El rápido descenso del contenido de agua que ocurrió durante el tostado favoreció entonces su formación. El similar rendimiento en HMF de ambos procesos podría explicarse por los diferentes tiempos de proceso, el tiempo de cocción es de aproximadamente 150 minutos mientras que el tostado es del orden de los 90 segundos. Por lo tanto velocidad de formación sería mucho mayor durante el proceso de tostado que en el de cocción. Existen evidencias de la degradación térmica de hidroximetilfurfural para dar furfural y metilfurfural (MF) (Kroh, 1994). El hecho de que en las muestras estudiadas no se hayan detectado MF ni furfural podría deberse al corto tiempo del proceso de tostado o a una vía preferencial en las reacciones de pardeamiento para este tipo de muestras que favorezca la formación de HMF frente a los otros compuestos.

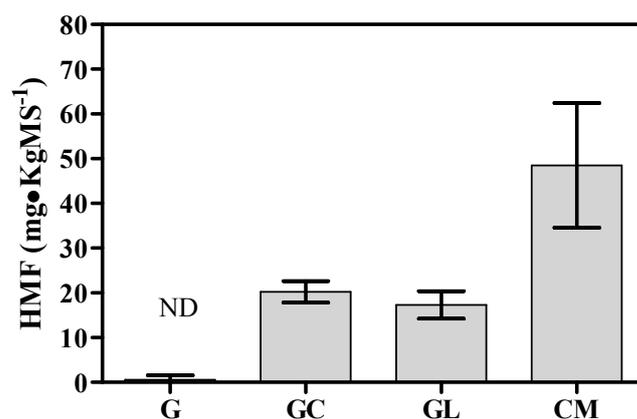


Figura 4-77: Contenido de 5-hidroximetilfurfural para las diferentes etapas del proceso. Las barras de error representan los límites de 95% de confianza. ND: no detectable.

#### 4.4.1.2. Fluorescencia en solución y pigmentos pardos extraíbles

En la Figura 4-78 se muestran los espectros de fluorescencia de los extractos acuosos obtenidos luego del tratamiento enzimático de las muestras del proceso industrial de producción de copos de maíz.

Cuando se excitó a 340 nm, los espectros de emisión de fluorescencia de las muestras estudiadas presentaron un pico a 420 nm el cual fue utilizado para cuantificar los compuestos fluorescentes mediante una curva de calibración realizada con quinina según fue descrito en la sección 3.17.

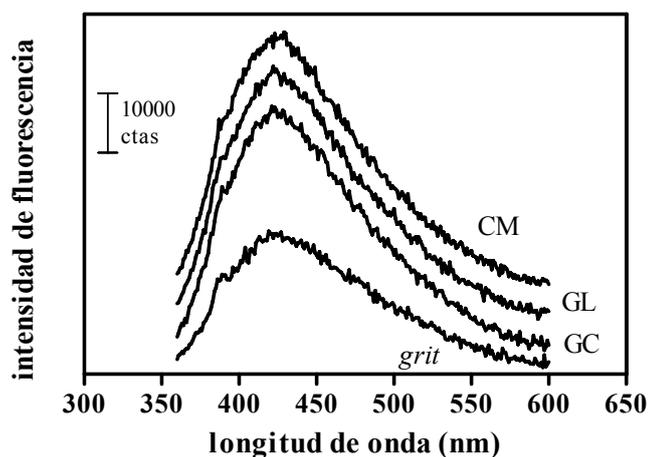


Figura 4-78: Espectros de fluorescencia obtenidos excitando a 340 nm las diferentes etapas del proceso de producción de copos de maíz. El eje y se expresa en unidades relativas para poder comparar las muestras preparadas con diferente dilución. *Grit* (G), *grit* cocido (GC), laminado (GL) y copo de maíz (CM).

En la Figura 4-79 se observan los cambios producidos en la fluorescencia durante el proceso de producción de copos de maíz. En esta figura es evidente que en la etapa de cocción se produjo el principal desarrollo de fluorescencia. Durante las etapas de laminado y tostado no se produjo una variación importante.

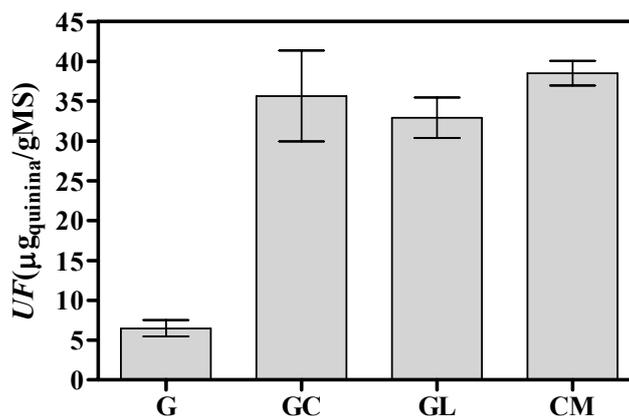


Figura 4-79: Fluorescencia total de las muestras obtenidas del proceso industrial de producción de copos de maíz. *grit* (G), *grit cocido* (GC), laminado (GL) y copo de maíz (CM). Las barras de error representan los límites de 95 % de confianza.

En la Figura 4-80 se muestra una gráfica de los valores absorbancia a 420 nm para los extractos hidrolizados con pronasa correspondientes a las etapas de proceso estudiadas. Cuanto mayor fue este valor, mayor fue el color pardo de los extractos.

Se observa que el desarrollo de pigmentos pardos se produjo principalmente durante la cocción, el laminado no produjo cambios y en la etapa de tostado se observó una tendencia al aumento de la concentración de pigmentos.

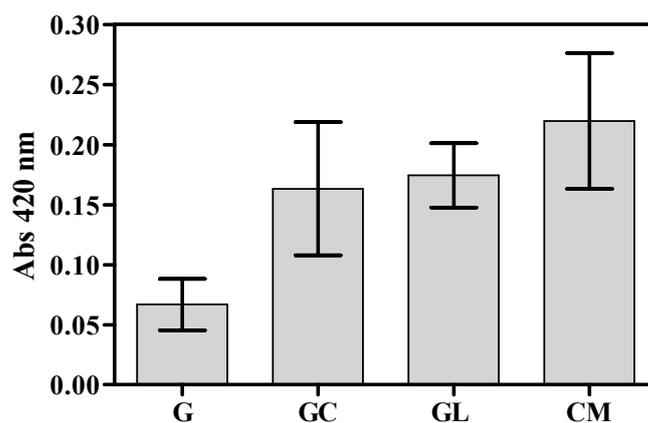


Figura 4-80: Absorbancia a 420 nm corregida por peso de muestra de los extractos hidrolizados con pronasa expresados como índice de pardeamiento para las distintas etapas del proceso industrial. Las barras de error representan los límites de 95 % de confianza.

#### 4.4.1.3. Fluorescencia de superficie

Los espectros de fluorescencia de superficie mostraron un pico principal a 488 nm y dos hombros a 440 y 520 nm (Figura 4-81). Se observó que el pico de máxima intensidad (488 nm) no presentó una variación importante a lo largo del proceso. El pico de 440 nm tendió a disminuir mientras que el de 520 nm tendió a aumentar. Debido a que la intensidad de fluorescencia está afectada por el color de las muestras, y además es difícil encontrar estándares adecuados para la calibración, se consideró conveniente expresar la variación en el perfil de fluorescencia como la relación de intensidades entre los picos de 520 y 440 nm.

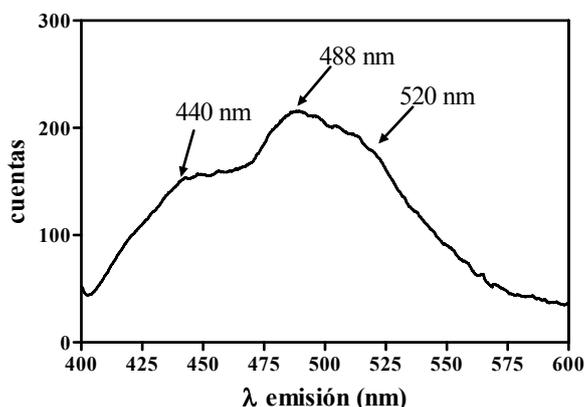


Figura 4-81: Espectro de emisión de fluorescencia de superficie utilizando una  $\lambda_{\text{ex}}$  de 340 nm. Las flechas indican los picos y hombros utilizados para la medición.

La variación de la relación de las intensidades de los picos de fluorescencia de superficie 520/440 durante las etapas del proceso industrial se muestra en la Figura 4-82. De la misma forma que los compuestos fluorescentes extraídos en medio acuoso, la variación principal se produjo en el proceso de cocción. El laminado y el tostado no tuvieron efecto significativo sobre la relación de picos de fluorescencia de superficie.

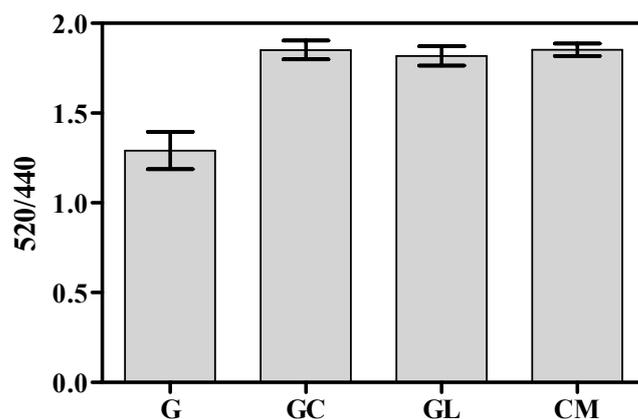


Figura 4-82: Fluorescencia de superficie de las diferentes etapas del proceso de producción de copos de maíz expresada como relación de las alturas picos de 520 nm y 440nm. *Grit* (G), *grit cocido* (GC), laminado (GL) y copo de maíz (CM). Las barras de error representan los límites de 95% de confianza.

#### 4.4.1.4. Contenido de carboximetilisina en muestras del proceso industrial

En la Figura 4-83 se muestra un gráfico del contenido de carboximetilisina (CML) para las muestras tomadas del proceso industrial expresados en ng de CML por mg de proteínas ( $\text{ng}\cdot\text{mg}_{\text{prot}}^{-1}$ ). El contenido de CML aumentó en la cocción y en el laminado. Esto último puede deberse al efecto de la alta presión a la que son sometidas las muestras durante el laminado, que posiblemente produzca algún efecto sobre los epitopes contra los que reacciona el anticuerpo anti-CML utilizado en la técnica de enzimoimmunoensayo. Si bien se han reportado cambios en el camino de la reacción que conduce a la formación de carboximetilisina e incrementos en CML y otros productos de la reacción de Maillard, como pentosidina y pirralina, en sistemas sometidos a alta presión (Tamamoka y col., 1991; Isaacs y Coulson, 1996; Moreno y col., 2002; Kasper y Schieberle, 2007), el tiempo de esta etapa es muy corto y no se considera suficiente para que el resultado observado se pueda atribuir a la

reacción de Maillard. Durante el tostado no se produjo un aumento importante, probablemente debido a la combinación de las condiciones de baja humedad y el corto tiempo de esta etapa.

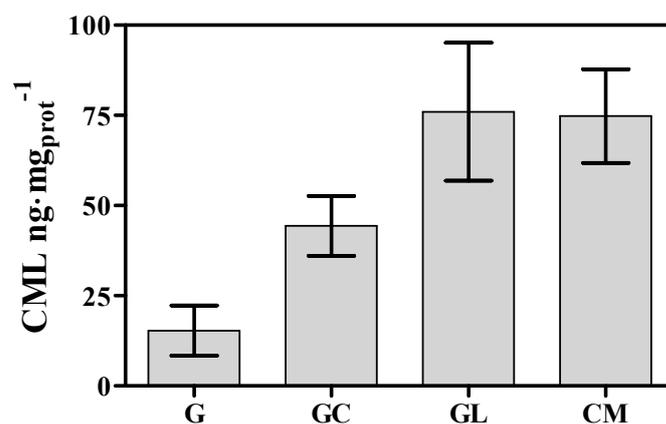


Figura 4-83: Contenido de carboximetilisina en las muestras de las etapas del proceso industrial. *Grit* (G), *grit* cocido (GC), laminado (GL) y copo de maíz (CM). Las barras de error representan los límites del 95 % de confianza.

En la Tabla 4-22 se muestran los valores de carboximetilisina encontrados en la bibliografía para diferentes muestras de alimentos y obtenidos por distintos métodos. Los valores presentaron una gran variación dependiendo del tipo de alimento y el método utilizado. Los más altos se encontraron en alimentos para bebés con tratamiento térmico. Los valores reportados para copos de maíz fueron más bajos que los encontrados en este estudio.

Tabla 4-22: Contenidos de carboximetilisina en alimentos reportado en la bibliografía por distintos métodos. Los valores están expresados en nanogramos de CML por miligramo de proteínas.

Sistema	Método	CML (ng mg <sub>prot</sub> <sup>-1</sup> )	Referencia
alimento en polvo para bebés	ELISA	5-40	Charissou y col., 2007a
copos de maíz	GC-MS	6-8	
pan tostado	GC-MS	0-13	
galletitas modelo	GC-MS	5-35	
galletitas modelo	GC-MS	4-14	Charissou y col., 2007b
alimentos para bebés a base de leche y cereal almacenados a 37 °C	GC-MS	690-1180	Bosch y col., 2007
alimentos para bebés con almacenamiento acelerado	ELISA	101-963	Birlouez-Aragón y col., 2005
cereales para niños	CLAR-FR	11	Hartkopf y col., 1994
productos procesado de malta	CLAR-FR	408	

ELISA: enzimoimmunoensayo

CG-EM: cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas

CLAR-FR: cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa.

#### **4.4.2. Sistemas modelo**

##### **4.4.2.1. Formación de 5-hidroximetil-furfural.**

En la Figura 4-84 se ha graficado el contenido de HMF en función del tiempo cocción para las diferentes formulaciones utilizadas. En la formulación con malta y en el control, el contenido de HMF prácticamente no varió en los 120 minutos que duró la cocción al vapor. HMF permaneció constante hasta los 15 minutos en las muestras con glucosa agregada en su formulación (G y GM) y luego comenzó a aumentar. La velocidad de formación de HMF aumentó durante el experimento para estas muestras. En un trabajo con galletitas modelo Ameur y col. (2007) encontraron tendencias similares en la velocidad de formación de HMF en función del tiempo de horneado. Los valores finales en los sistemas modelo fueron

mayores que los observados en los *grits* cocidos provenientes del proceso industrial (sección 4.4.1). En las muestras formuladas con glucosa existió una disponibilidad inmediata de grupos reductores a diferencia de las muestras provenientes del proceso industrial que contienen sacarosa que primero debe hidrolizarse; es importante destacar que el comportamiento de los azúcares en este proceso es ampliamente dependiente de la temperatura y del contenido de agua.

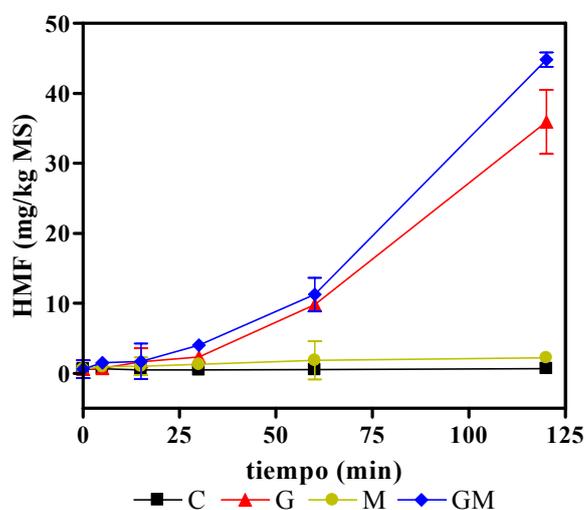


Figura 4-84: Contenido de 5-hidroximetil-furfural (HMF) en función del tiempo de cocción. Las barras de error representan el intervalo del 95% de confianza.

#### 4.4.2.2. Desarrollo de fluorescencia y pigmentos pardos extraíbles.

En la Figura 4-85 se muestran los espectros de fluorescencia obtenidos a partir de sistemas modelo preparados en el laboratorio. Los mismos fueron muy similares a los obtenidos para las muestras del proceso industrial. Esto permitió utilizar el mismo método para cuantificar los compuestos fluorescentes.

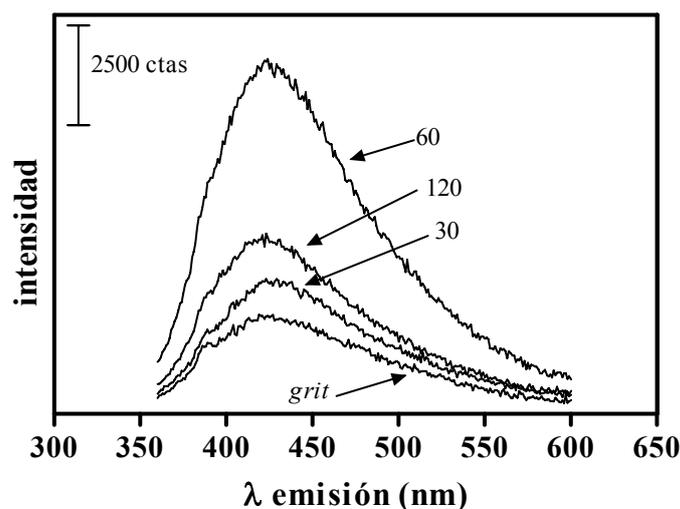


Figura 4-85: Espectros de fluorescencia obtenidos excitando a 340 nm para los sistemas modelo con glucosa. El eje y se expresa en unidades relativas para poder comparar las muestras preparadas con diferente dilución. Los tiempos de cocción en minutos se indican con flechas en la figura.

Como puede observarse en la Figura 4-86, durante los primeros 15 minutos no se observó un desarrollo apreciable de fluorescencia. A partir de este tiempo comenzaron a desarrollarse compuestos fluorescentes a diferentes velocidades dependiendo de la composición de las muestras. En las formulaciones que incluyeron glucosa (G y GM) la velocidad fue mayor que en el control o el sistema con malta (C y M) (Figura 4-86). La acumulación de compuestos fluorescentes alcanzó un máximo a los 60 minutos para luego disminuir indicando que los mismos pueden estar siendo consumidos por otras reacciones.

La cantidad de compuestos fluorescentes generados al final de la etapa de cocción en la industria ( $32 \mu\text{g}\cdot\text{gMS}^{-1}$ ) fue muy similar a la producida en los sistemas modelo que incorporaron glucosa en su formulación ( $30 \mu\text{g}\cdot\text{gMS}^{-1}$ ).

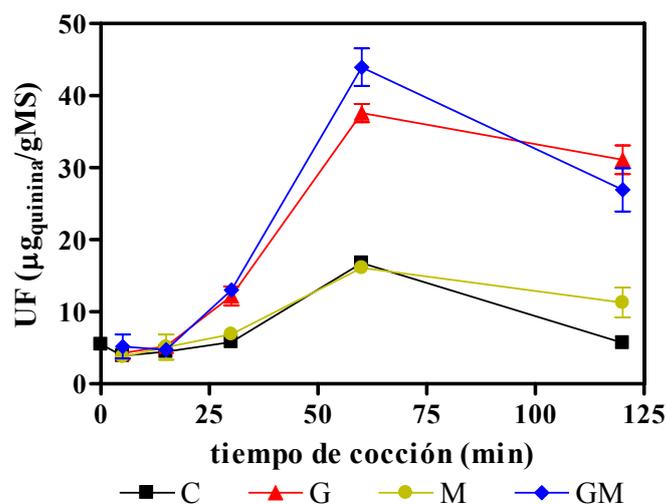


Figura 4-86: Fluorescencia total medida luego de hidrólisis con pronasa. La intensidad de fluorescencia se expresó como  $\mu\text{g}$  de quinina por gramo de materia seca. Las barras de error representan el intervalo del 95% de confianza.

El desarrollo de la fluorescencia con el tiempo puede mostrar un máximo, un aumento continuado o alcanzar un valor constante, según las condiciones (temperatura, pH y  $a_w$ ) y los compuestos reaccionantes (Morales y Van Boekel, 1997; Matiacevich y col., 2005). De acuerdo con las curvas de desarrollo de fluorescencia en función del tiempo de cocción se podría decir que la fase de inducción inicial corresponde a la generación de intermediarios que luego se convierten en fluoróforos. A este período le sigue una fase de crecimiento de la fluorescencia, que es aproximadamente lineal en función del tiempo. Posteriormente, los fluoróforos podrían ser precursores de los pigmentos pardos dado que el desarrollo de fluorescencia se estaciona mientras que el desarrollo de pigmentos aumenta en la última etapa.

En la Figura 4-87 se observa la variación de la absorbancia a 420 nm de los extractos hidrolizados con pronasa. En el caso de los sistemas modelo el desarrollo de color fue menor que en los *grits* cocidos en la planta industrial, como se explicó en la sección 4.3.4. Los extractos correspondientes a los tiempos de cocción más cortos fueron casi incoloros, y los

valores de absorbancia fueron cercanos al error en la medición. De todos modos puede observarse que en los primeros minutos no hubo diferencias entre las distintas formulaciones y al final de la cocción las muestras con agregado de glucosa presentaron mayor absorbancia a 420 nm lo cual coincidió con el desarrollo de un color amarillo suave en estos extractos.

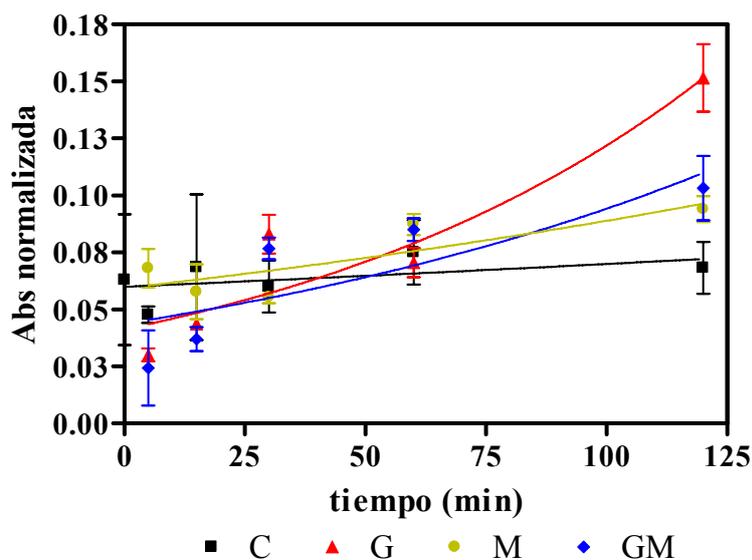


Figura 4-87: Absorbancia a 420 nm de los extractos preparados por hidrólisis de las proteínas con pronasa. Las líneas indican la tendencia de los datos.

#### 4.4.2.3. Cambios en la fluorescencia de superficie.

Los espectros de fluorescencia de superficie de los sistemas modelo fueron similares a los de las muestras del proceso industrial y presentaron las mismas características que se muestran en el ejemplo de la Figura 4-81.

En la Figura 4-88 se muestra la relación de las intensidades de fluorescencia a 440 y 520 nm (440/520). Dicha relación permaneció constante para la muestra control, aumentó levemente en la muestra con agregado de malta (M) y aumentó en forma lineal con el tiempo de cocción a partir de los 15 minutos en las muestras con agregado de glucosa (G y GM).

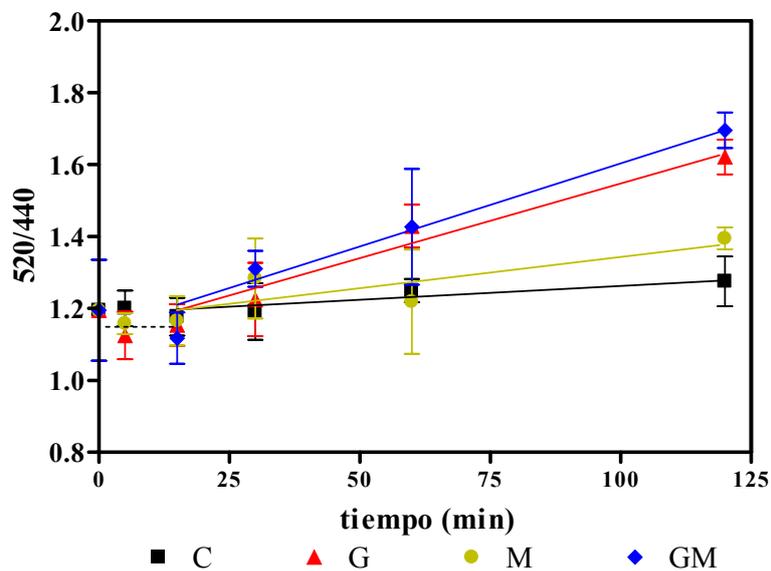


Figura 4-88 Relación de intensidad de fluorescencia de superficie 520/440 nm en función del tiempo para las diferentes formulaciones. Las barras de error representan el intervalo del 95 % de confianza.

## 4.5. Integración de los resultados de marcadores químicos y apariencia

### 4.5.1. Muestras del proceso industrial

Con el objetivo de estudiar el comportamiento conjunto de las variables asociadas al aspecto visual y los marcadores químicos de la reacción de Maillard y la relación entre ellas, se realizó un análisis de componentes principales para los resultados obtenidos de las muestras extraídas en distintas etapas del proceso industrial por un lado, y durante la cocción de los sistemas modelo, por otro.

En la Tabla 4-23 se muestran los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) para las variables estudiadas ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $h'_{ab}$  y  $S_{uv}$ : variables de los sistemas de color ya definidas,  $K$ ,  $S$  y  $K/S$ : variables de Kubelka-Munk,  $OP$ : opacidad,  $CML$ : carboximetilisina,  $HMF$ : hidroximetilfurfural,  $F_{sol}$ : fluorescencia medida en solución,  $Abs\ 420$ : absorbancia a 420 nm normalizada por peso de muestra,  $F_{sup}$ : perfil de fluorescencia de superficie. Las celdas sombreadas indican correlación significativa con un 95 % de confianza. Las variables obtenidas a través de la medición de translucidez con fondo blanco o negro,  $K$  y  $K/S$  correlacionaron significativamente con el ángulo de tono ( $h'_{ab}$ ) ( $r = -0,95$  y  $-0,97$ ) y además  $K/S$  correlacionó con  $L^*$  ( $r = -0,97$ ). En los extractos hidrolizados con proteasas la fluorescencia correlacionó con el color de dicho extracto, expresado como la absorbancia a 420 nm, ( $r = 0,96$ ) y con el cambio en el perfil de fluorescencia de superficie ( $r = 0,99$ ).

Tabla 4-23: Taba de coeficientes de correlación entre los parámetros medidos en muestras del proceso industrial. Las celdas sombreadas indican correlación significativa ( $p < 0,05$ ).

	L*	a*	b*	h' <sub>ab</sub>	Suv	K	S	K/S	OP	HMF	F <sub>sol</sub>	abs 420	CML	F <sub>sup</sub>
L*	1,00													
a*	-0,64	1,00												
b*	0,95	-0,45	1,00											
h' <sub>ab</sub>	0,91	-0,87	0,83	1,00										
Suv	-0,89	0,90	-0,79	-1,00	1,00									
K	-0,86	0,74	-0,87	-0,95	0,94	1,00								
S	0,89	-0,40	0,77	0,66	-0,63	-0,52	1,00							
K/S	-0,97	0,71	-0,95	-0,97	0,95	0,96	-0,74	1,00						
OP	0,60	-0,13	0,45	0,30	-0,28	-0,11	0,90	-0,38	1,00					
HMF	0,07	-0,71	-0,23	0,30	-0,36	-0,05	0,10	-0,07	0,14	1,00				
F <sub>sol</sub>	-0,45	-0,40	-0,64	-0,10	0,03	0,23	-0,51	0,35	-0,45	0,80	1,00			
Abs 420	-0,18	-0,63	-0,41	0,17	-0,24	0,003	-0,27	0,09	-0,28	0,91	0,96	1,00		
CML	-0,02	-0,75	-0,17	0,38	-0,44	-0,31	-0,29	-0,14	-0,46	0,75	0,85	0,92	1,00	
F <sub>sup</sub>	-0,51	-0,34	-0,67	-0,15	0,08	0,25	-0,60	0,40	-0,54	0,73	0,99	0,93	0,85	1,00

En la Figura 4-89 se grafican las relaciones entre las variables K/S y L\*, K/S y h'<sub>ab</sub> y Abs 420 nm y F<sub>sol</sub>, las cuales presentaron correlaciones significativamente diferentes de cero. También se graficó la relación entre la absorbancia a 420 nm y el contenido de hidroximetilfurfural, en este último caso si bien la probabilidad fue mayor que 0,05 se muestra porque el valor obtenido fue de 0,081 y el coeficiente de correlación fue de 0,91. Es de destacar que dado el bajo número de puntos y la dispersión de los datos los valores de los coeficientes de correlación y la probabilidad de significación de los mismos tienen valor orientativo sobre qué grupo de variables están asociadas. En particular interesa saber si las variables obtenidas a partir de mediciones no destructivas (como reflectancia, translucidez y

fluorescencia de superficie) correlacionan con las que representan concentraciones de compuestos en solución, como fluorescencia, absorbancia medidas en los hidrolizados, HMF y CML.

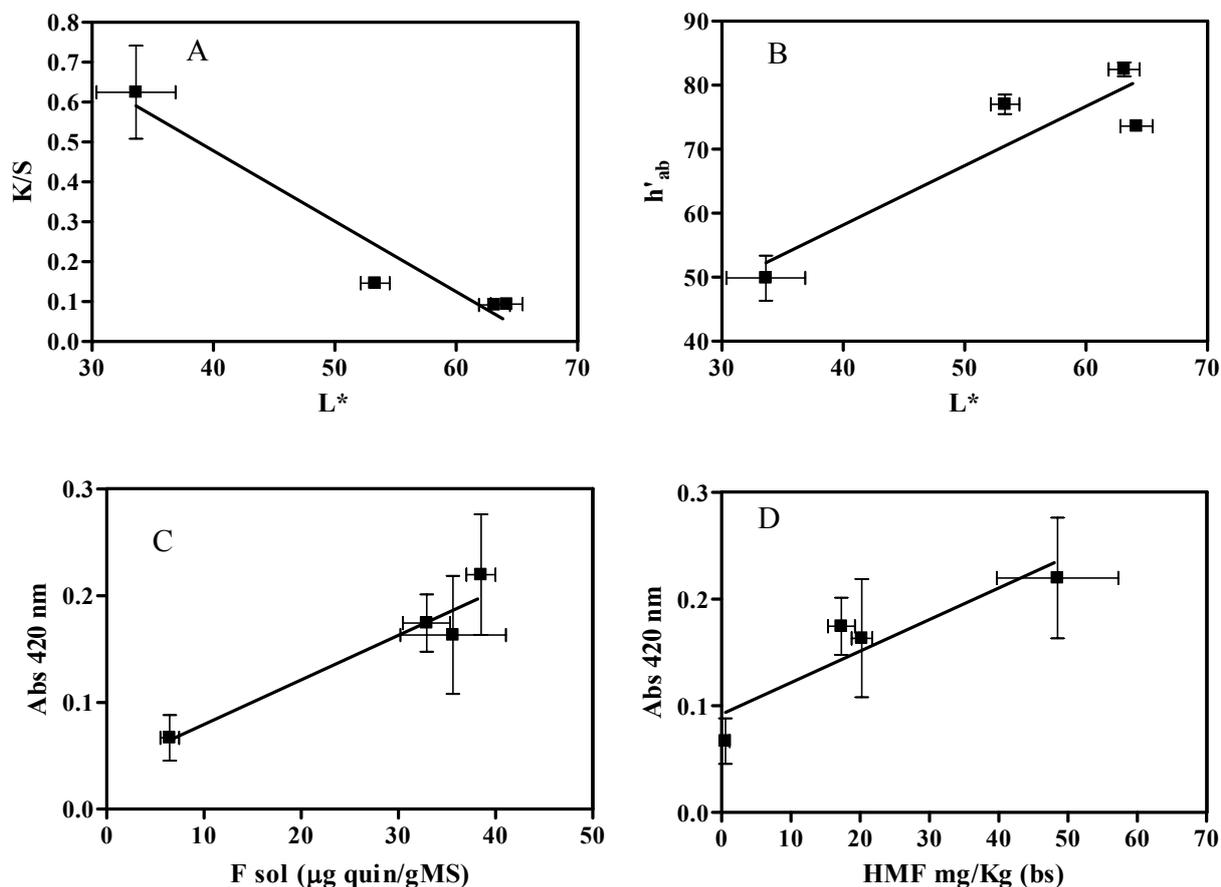


Figura 4-89: Relaciones entre variables medidas sobre la superficie de las muestras (A y B) y en extractos obtenidos por tratamiento enzimático o extracción acuosa (C y D) para muestras provenientes del proceso industrial de producción de copos de maíz. Las barras de error representan los límites de 95 % de confianza.

En la Figura 4-90 se observan ejemplos de las relaciones entre parámetros medidos en solución en función de parámetros medidos por reflectancia de superficie. En este caso se ve que no varían en forma conjunta y no puede establecerse alguna relación. De esta manera se ve reflejado el efecto de los cambios de apariencia. Cuando una variable está afectada por efectos de la superficie o de la transparencia de la matriz, como es el caso de L\* o K/S, respectivamente, no correlaciona con las variables relacionadas a la concentración de

pigmentos medidas en solución. A su vez, la concentración de pigmentos pardos medida en solución y/o variables relacionadas a ella como la Abs 420 nm, no siempre correlaciona con otros marcadores químicos correspondientes a etapas previas a la formación de dichos pigmentos en la reacción de Maillard (HMF, CML).

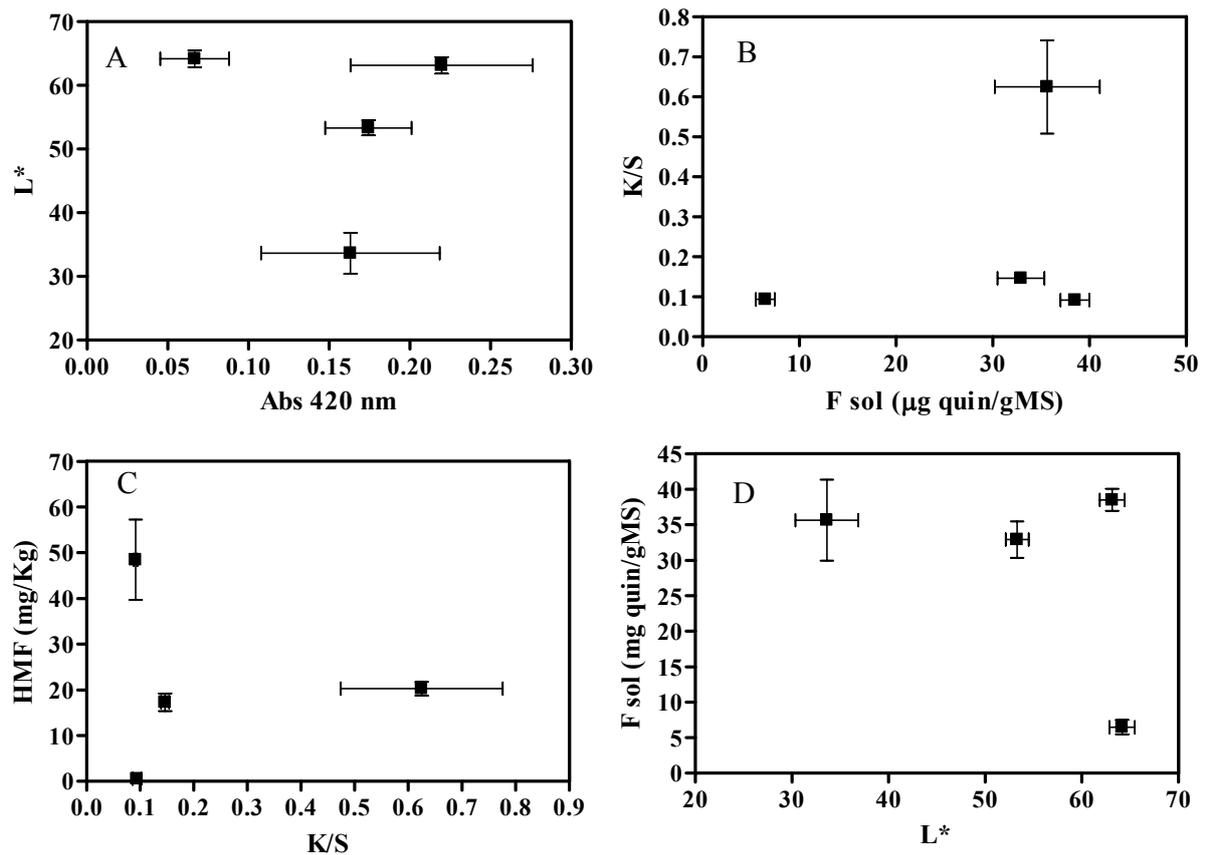


Figura 4-90: Relaciones entre variables medidas sobre la superficie vs. medidas en solución para las muestras tomadas del proceso industrial de producción de copos de maíz. Las barras de error representan los límites de 95 % de confianza.

En la Tabla 4-24 se muestra un resumen de las estadísticas para las variables medidas en las muestras del proceso industrial utilizadas para el análisis de componentes principales. Existió una gran diferencia de magnitud en las unidades de las variables medidas y además algunas presentaron una variación muy importante. Por este motivo se estandarizaron los datos y se realizó el análisis de componentes principales sobre la matriz de correlación. Esto

evita que las variables con valores mayores arrastren artificialmente una mayor proporción de la varianza. Se trabajó sobre el promedio de las variables obtenidas para todas las muestras analizadas (G, GC, GL y CM).

Tabla 4-24: Estadísticas descriptivas de las variables medidas en las muestras tomadas de las etapas del proceso industrial.

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Media</b>	<b>D.E.</b>	<b>Mín</b>	<b>Máx</b>
L*	4	54	14	34	64
a*	4	15	7	7	23
b*	4	52	13	34	65
$h'_{ab}$	4	71	14	50	83
$S_{uv}$	4	3,6	2,3	1,6	6,8
K	4	0,3	0,2	0,2	0,6
S	4	1,9	0,9	0,9	2,7
K/S	4	0,2	0,3	0,1	0,6
OP	4	0,8	0,1	0,7	0,9
HMF	4	22	20	0,6	49
$F_{sol}$	4	28	15	7	39
Abs420	4	0,16	0,06	0,07	0,22
CML	4	53	29	15	76
$F_{sup}$	4	1,7	0,3	1,3	1,9

La Tabla 4-25 muestra los autovalores asociados a cada autovector y la proporción de la varianza explicada por cada componente principal. El primer componente principal explicó un 52 % de la variación total de los datos y el segundo un 38 %. De esta manera, los dos primeros componentes principales acumularon un 90 % de la varianza, quedando el 10 % restante en el tercer componente. Por lo tanto no se extrajeron componentes principales más allá del tercero.

Tabla 4-25: Autovalores de la matriz de correlación. Se indica la proporción de la varianza explicada por cada uno y la acumulada.

Componente	Valor	Proporción	Prop. acumulada
1	7,26	0,52	0,52
2	5,35	0,38	0,90
3	1,40	0,10	1,00

En la Tabla 4-26 se muestran los autovectores ( $e_1$  y  $e_2$ ) que muestran los coeficientes con que cada variable original fue ponderada para conformar las componentes principales 1 y 2 (CP1 y CP2 respectivamente) y la correlación de cada variable con cada uno de los dos primeros componentes principales. El CP1 se encuentra más correlacionado con las variables medidas mediante análisis superficial ( $L^*$ ,  $b^*$ ,  $h'_{ab}$ ,  $S_{uv}$ ,  $K$ ,  $S$ ,  $K/S$ ) y el CP2 está más relacionado con los marcadores químicos y con  $a^*$ .

Tabla 4-26: Autovectores (e1 y e2) asociados a las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2) y correlación de los nuevos ejes con las variables originales.

Variables	Autovectores		Correlaciones con las variables originales	
	e1	e2	CP 1	CP 2
<b>L*</b>	0,37	-0,0048	1,00	-0,01
<b>a*</b>	-0,24	-0,33	-0,64	-0,76
<b>b*</b>	0,36	-0,09	0,96	-0,22
<b>h'ab</b>	0,34	0,16	0,93	0,36
<b>S<sub>uv</sub></b>	-0,33	-0,18	-0,90	-0,42
<b>K</b>	-0,33	-0,10	-0,89	-0,23
<b>S</b>	0,32	-0,09	0,85	-0,20
<b>K/S</b>	-0,36	-0,05	-0,98	-0,11
<b>OP</b>	0,20	-0,14	0,54	-0,32
<b>HMF</b>	0,02	0,38	0,05	0,87
<b>F<sub>sol</sub></b>	-0,17	0,38	-0,45	0,89
<b>Abs 420</b>	-0,07	0,42	-0,18	0,97
<b>CML</b>	0,0020	0,42	0,01	0,98
<b>F<sub>sup</sub></b>	-0,18	0,37	-0,50	0,87

En la Figura 4-91 se observa una gráfica de los dos primeros componentes principales. La ubicación de cada etapa del proceso en los nuevos ejes se ha indicado con un símbolo azul. Este gráfico muestra las observaciones y las variables en el mismo gráfico, de forma tal que se pueden hacer interpretaciones sobre las relaciones conjuntas entre observaciones y variables (Gabriel, 1971). Las variables son graficadas como vectores desde el origen (con terminaciones en círculos verdes). Los ángulos entre los vectores que representan las variables pueden ser interpretados en términos de las correlaciones entre variables. Ángulos de 90°

entre dos variables indican que ambas variables no se encuentran correlacionadas. Alejamientos de este valor (tanto sea en valores menores como mayores que  $90^\circ$ ) implican correlación (positiva o negativa). Es decir, un ángulo cercano a cero implica que ambas variables están fuertemente correlacionadas en forma positiva y un ángulo cercano al ángulo llano entre dos variables indica que ambas muestran fuerte correlación negativa.

El CP1 se encuentra asociado positivamente con  $L^*$ ,  $h'_{ab}$ ,  $b^*$ , S y opacidad y negativamente con K/S, K,  $S_{uv}$ . El CP2 se encuentra positivamente asociado con Abs 420, CML, HMF,  $F_{sol}$  y  $F_{sup}$ . Las variables asociadas al CP2 se midieron en extractos e indican desarrollo de las reacciones de pardeamiento no enzimático. Por lo tanto los cambios de apariencia visual se verán reflejados principalmente en el CP1 y los químicos principalmente en el CP2. La cocción produjo un desplazamiento importante hacia valores negativos del CP1 y aumentó el CP2, indicando los cambios simultáneos en apariencia y marcadores químicos. A medida que progresó el proceso aumentó el valor de CP2 debido al aumento en los marcadores químicos de reacciones de pardeamiento y el CP1 debido a los cambios de apariencia antes descritos. La variación en el CP2 fue mayor para el proceso de cocción (GC) que para el laminado (GL) y el tostado (CM), en coincidencia con el mayor desarrollo de marcadores químicos observado en la etapa de cocción. El punto correspondiente al *grit* laminado se encuentra en la región de valores mayores de CML,  $h'_{ab}$  y  $L^*$  y menores de K/S respecto del GC. Luego del tostado aumentaron la opacidad,  $L^*$ ,  $h'_{ab}$ , S y también HMF. Los datos correspondientes al copo de maíz se ubicaron entonces en la zona de valores mayores del CP1 y presentaron un aumento del CP2 respecto del GL.

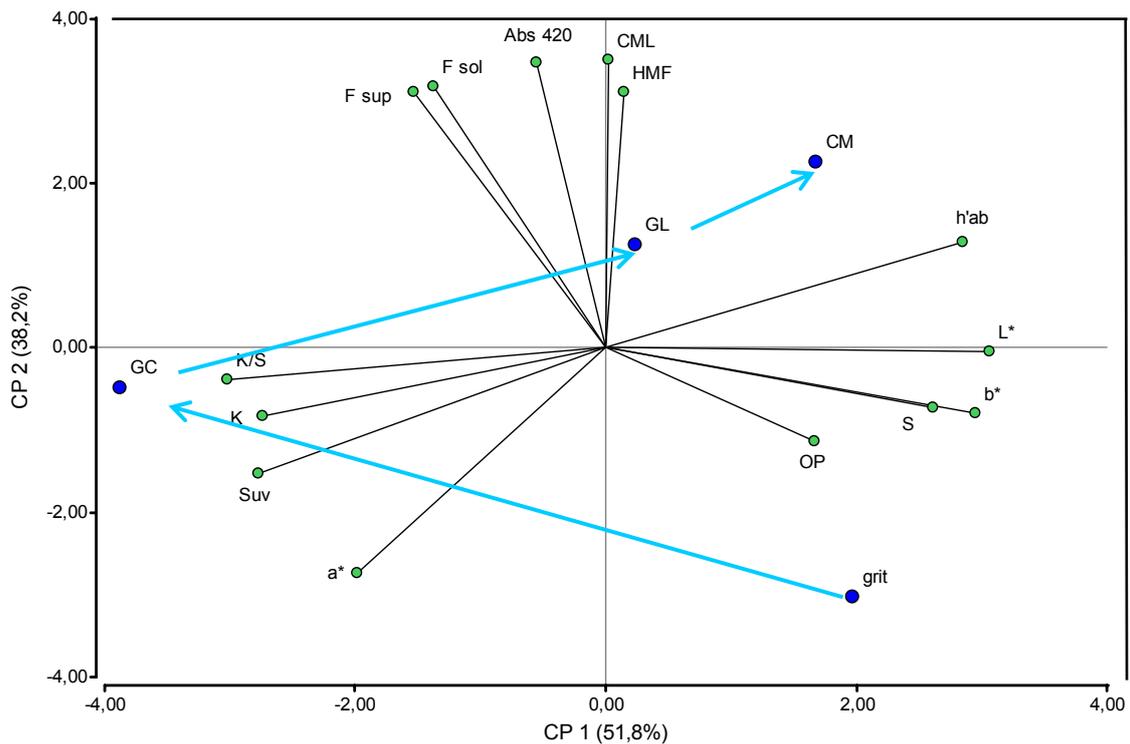


Figura 4-91: Gráfica de los dos primeros componentes principales para las muestras de las distintas etapas del proceso industrial. Se indican las posiciones de las muestras en los nuevos ejes (puntos azules) y el sentido del proceso está indicado con flechas. Los vectores representan las variables originales.

#### 4.5.2. Sistemas modelo

En la Tabla 4-27 se muestran los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) para las variables medidas durante el proceso de cocción en los sistemas modelo, las celdas sombreadas indican correlación significativa ( $p > 0,05$ ). En este caso, y a diferencia de lo ocurrido en las muestras provenientes de las etapas del proceso industrial, se observó una importante correlación significativa entre varias variables, muchas de las cuales no correlacionaron al estudiar el proceso industrial. Debe tenerse en cuenta que al estudiar solamente la cocción no entró en juego el importante cambio de forma producido por el laminado ni la generación de burbujas que produjo el tostado. Ambos eventos tuvieron un

efecto muy importante alterando significativamente la apariencia de las muestras. Durante la cocción, además del desarrollo de marcadores químicos, los cambios más importantes en apariencia se dieron respecto de la opacidad y la coloración.

Las muestras con mayor tiempo de cocción (60 min y 120 min) de los sistemas que contenían glucosa presentaron diferencias muy importantes en los valores de los parámetros medidos respecto de los tiempos anteriores. Esta mayor variación con el tiempo de cocción, sumada al hecho de que durante la cocción se comparan muestras con igual forma, favoreció la obtención de correlaciones significativas (comparar con la Tabla 4-23 correspondiente a las muestras en distintas etapas del proceso).

La opacidad solamente presentó correlación significativa con S ( $r= 0,81$ ), ya que ambas variables dependen de la dispersión de la luz producida por la muestra.

Tabla 4-27: Coeficientes de correlación entre los parámetros medidos en los sistemas modelo. Las celdas sombreadas indican correlación significativa ( $p < 0,05$ ).

	L*	a*	b*	h' <sub>ab</sub>	S <sub>uv</sub>	K	S	K/S	OP	HMF	F <sub>sol</sub>	Abs 420	F <sub>sup</sub>
L*	1												
a*	-0,9	1											
b*	0,86	-0,81	1										
h' <sub>ab</sub>	0,94	-0,98	0,88	1									
S <sub>uv</sub>	-0,94	0,98	-0,85	-1	1								
K	-0,96	0,85	-0,92	-0,91	0,9	1							
S	0,77	-0,79	0,55	0,78	-0,8	-0,6	1						
K/S	-0,97	0,88	-0,88	-0,94	0,95	0,94	-0,79	1					
OP	0,34	-0,32	0,05	0,3	-0,34	-0,11	0,81	-0,4	1				
HMF	-0,89	0,72	-0,89	-0,83	0,83	0,91	-0,59	0,94	-0,24	1			
F <sub>sol</sub>	-0,76	0,69	-0,67	-0,7	0,67	0,77	-0,51	0,68	-0,1	0,63	1		
Abs 420	-0,82	0,73	-0,63	-0,75	0,76	0,81	-0,58	0,77	-0,21	0,70	0,63	1	
F <sub>sup</sub>	-0,96	0,81	-0,81	-0,86	0,86	0,93	-0,7	0,93	-0,31	0,88	0,77	0,83	1

En la Figura 4-92 A y B se grafican las relaciones entre variables medidas sobre la superficie y en C y D se representan las relaciones entre variables medidas en solución, al igual que se hizo con las muestras del proceso industrial.

Al disminuir L\* aumentó K/S ( $r = -0,97$ ) en coincidencia con el desarrollo de pigmentos y la disminución de la opacidad de las muestras por la gelatinización del almidón. Como la generación de pigmentos pardos produjo al mismo tiempo una variación de la cromaticidad de las muestras K/S, que integra la variación de luminosidad normalizada por los efectos dispersivos, también correlacionó con el ángulo de tono ( $h'_{ab}$ ), ( $r = -0,94$ ).

Las gráficas de Abs a 420 nm, (relacionada con la concentración de pigmentos pardos), vs. fluorescencia en solución ( $r = 0,63$ ), por un lado, y vs. contenido de HMF por el otro ( $r =$

0,70), indican que estas últimas variables a partir de un punto se tornan muy sensibles para realizar el seguimiento de la reacción en las muestras que contienen glucosa agregada (Figura 4-92 C y D).

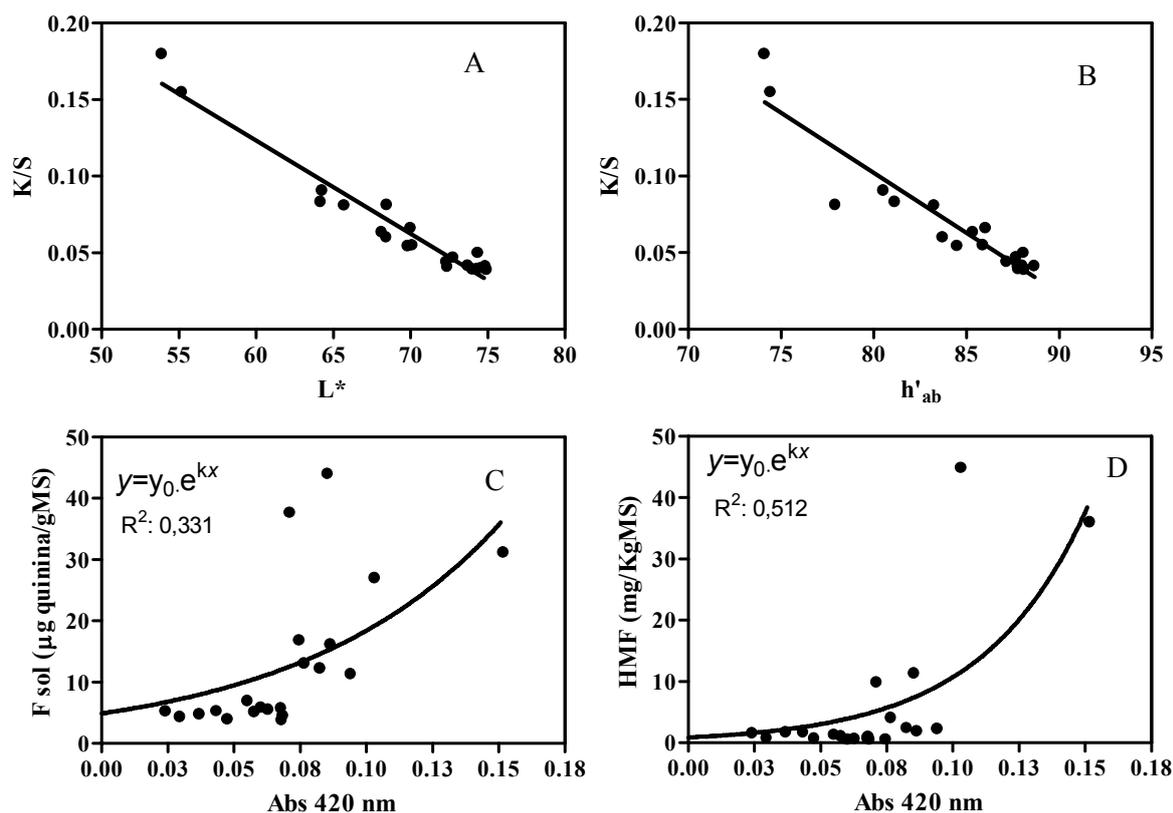


Figura 4-92: Relaciones entre variables medidas sobre la superficie de las muestras (A y B) y en extractos obtenidos por tratamiento enzimático o extracción acuosa (C y D). En estas gráficas se omitieron las barras de error para mayor claridad de la figura.

En la Figura 4-93 se grafican algunos ejemplos de las relaciones entre variables medidas en solución con otras medidas sobre la superficie de las muestras. A diferencia del caso de las muestras correspondientes a las etapas del proceso industrial, para estas variables las correlaciones fueron significativas (Tabla 4-27). En ausencia de cambios profundos de aspecto, como el que produjo el laminado,  $K/S$ , que tiene en cuenta los cambios de color y de

aparición, reflejó adecuadamente la evolución del pardeamiento, a diferencia de lo que ocurrió cuando hubo cambios de forma y opacidad de las muestras en forma simultánea. Respecto de la fluorescencia en solución es conveniente recordar que se observó una disminución a los 60 minutos de cocción (sección 4.4.2.2) que podría atribuirse a la conversión de los compuestos fluorescentes en otros productos. Este efecto hizo que empeoren las correlaciones entre  $F_{sol}$  y otras variables que varían en un solo sentido a medida que progresa la cocción.

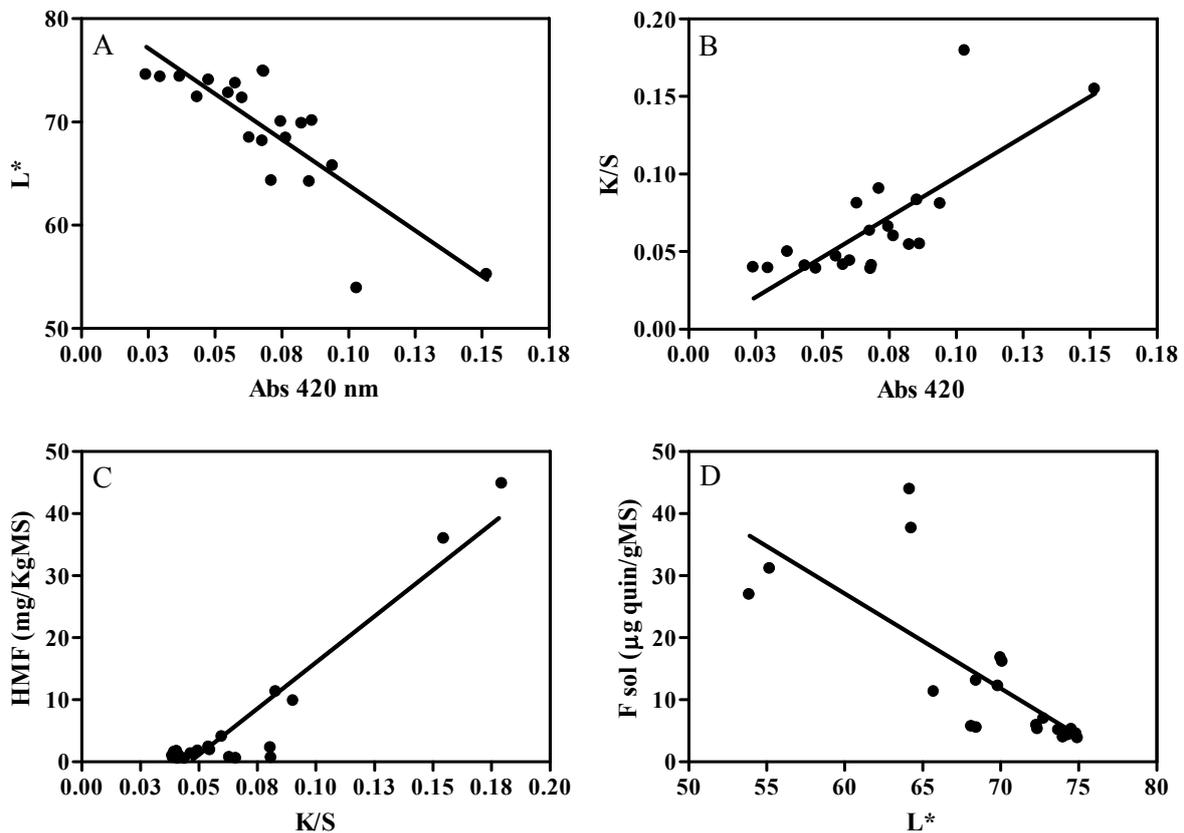


Figura 4-93: Relaciones entre variables medidas sobre la superficie de las muestras ( $L^*$ , K/S) y en extractos obtenidos por tratamiento enzimático o extracción acuosa ( $F_{sol}$ , HMF y Abs 420 nm) para sistemas modelo.

En la Tabla 4-28 se muestra un resumen de las variables medidas en los sistemas modelo producidos en el laboratorio. En este caso también se realizó el análisis de componentes principales sobre los datos estandarizados analizando la matriz de correlación.

Tabla 4-28: Estadísticas descriptivas de las variables medidas en los sistemas modelo preparados en el laboratorio.

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Media</b>	<b>D.E.</b>	<b>Mín</b>	<b>Máx</b>
<b>L*</b>	21	69	6	54	75
<b>a*</b>	21	5	3	1	12
<b>b*</b>	21	59	5	47	64
<b>h'<sub>ab</sub></b>	21	85	5	74	89
<b>S<sub>uv</sub></b>	21	1,4	0,4	1,1	2,4
<b>K</b>	21	0,19	0,06	0,13	0,35
<b>S</b>	21	3,2	0,6	1,9	4,1
<b>K/S</b>	21	0,07	0,04	0,04	0,18
<b>OP</b>	21	0,90	0,02	0,84	0,93
<b>HMF</b>	21	5,9	11,9	0,5	44,8
<b>F<sub>sol</sub></b>	21	13	12	4	44
<b>Abs 420</b>	21	0,07	0,03	0,02	0,15
<b>F<sub>sup</sub></b>	21	1,3	0,2	1,1	1,7

En la Tabla 4-29 se observan los autovalores obtenidos mediante el análisis de componentes principales de los datos de los sistemas modelo. El primer componente principal explica un 78 % de la variación de los datos y el segundo un 11 %, por lo tanto entre los dos primeros componentes acumulan un 89 % de la varianza.

Tabla 4-29: Autovalores de la matriz de correlación. Se indica la proporción de la varianza explicada por cada uno y la proporción acumulada.

Componente	Valor	Proporción	Prop. Acumulada
1	10,11	0,78	0,78
2	1,42	0,11	0,89
3	0,49	0,04	0,92
4	0,42	0,03	0,96
5	0,36	0,03	0,99
6	0,08	0,01	0,99
7	0,06	0,0048	1,0

En la Tabla 4-30 se muestran los valores de los autovectores correspondientes a los dos primeros componentes principales y las correlaciones de las variables originales con los mismos, CP1 y CP2 respectivamente. El CP1 estuvo relacionado con el color superficial ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) y con los marcadores químicos del desarrollo de las reacciones de pardeamiento. Valores menores del CP1 indicaron desarrollo del pardeamiento y la fluorescencia de las muestras. El CP2 estuvo relacionado principalmente con la opacidad de las muestras y también con el coeficiente de dispersión  $S$ , valores mayores de este componente indicaron muestras más opacas y con mayores valores de  $S$ . Por lo tanto, a diferencia de lo ocurrido para las muestras del proceso industrial, en las que los dos primeros CP separaron las variables medidas en superficie de las medidas en solución, aquí ambos componentes principales separaron el desarrollo de color y pigmentos de los cambios referentes a la distribución espacial de la luz.

Tabla 4-30: Autovectores (e1 y e2) asociados a las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2) y correlación de los nuevos ejes con las variables originales.

Variables	Autovectores		correlación con las variables originales	
	e1	e2	CP 1	CP 2
<b>L*</b>	0,310	-0,01	0,99	-0,01
<b>a*</b>	-0,29	-0,04	-0,93	-0,05
<b>b*</b>	0,28	-0,24	0,89	-0,29
<b>h'<sub>ab</sub></b>	0,31	0,00091	0,97	0,001
<b>S<sub>uv</sub></b>	-0,3	-0,04	-0,97	-0,04
<b>K</b>	-0,3	0,22	-0,96	0,26
<b>S</b>	0,25	0,49	0,79	0,59
<b>K/S</b>	-0,31	-0,04	-0,98	-0,04
<b>OP</b>	0,11	0,77	0,35	0,92
<b>HMF</b>	-0,28	0,12	-0,9	0,14
<b>F<sub>sol</sub></b>	-0,24	0,18	-0,77	0,22
<b>Abs 420</b>	-0,26	0,07	-0,82	0,08
<b>F<sub>sup</sub></b>	-0,3	0,05	-0,95	0,06

En la Figura 4-94 se observa una gráfica de las muestras y su ubicación en los ejes compuestos por los dos primeros componentes principales. Además se muestra la relación entre las variables mediante vectores como se explicara para el caso de las muestras del proceso industrial. Se han identificado los puntos correspondientes a los distintos tiempos de cocción y composición. A lo largo del eje correspondiente al CP1 pueden separarse las muestras más pardeadas de las menos pardeadas. Las muestras con menor tiempo de cocción o con formulaciones que no desarrollaron pigmentos se encuentran a la derecha y las muestras más pardeadas a la izquierda. Las muestras menos opacas, (control con el almidón totalmente

gelatinizado) y con poco desarrollo de color, se encuentran en la zona intermedia del eje del CP1 y en la zona negativa del CP2.

Las muestras que desarrollaron más color tienen mayores valores de CP2 que el control cocido 120 minutos debido al efecto que hace que al decrecer la luminosidad por oscurecimiento disminuya la transparencia, (o sea que la opacidad aumenta por cambios de luminosidad y no por aspectos de dispersión de la luz).

El punto correspondiente a la muestra de *grit* crudo se encuentra en una posición intermedia sobre el eje del CP1 debido a su color anaranjado y a la relativa transparencia del endosperma. Puede verse además el efecto de la imbibición sobre el color y la opacidad (ver sección 4.3.3.2) en las muestras correspondientes a 5 minutos que se ubican más a la derecha y en valores más altos del CP1 respecto del *grit* crudo.

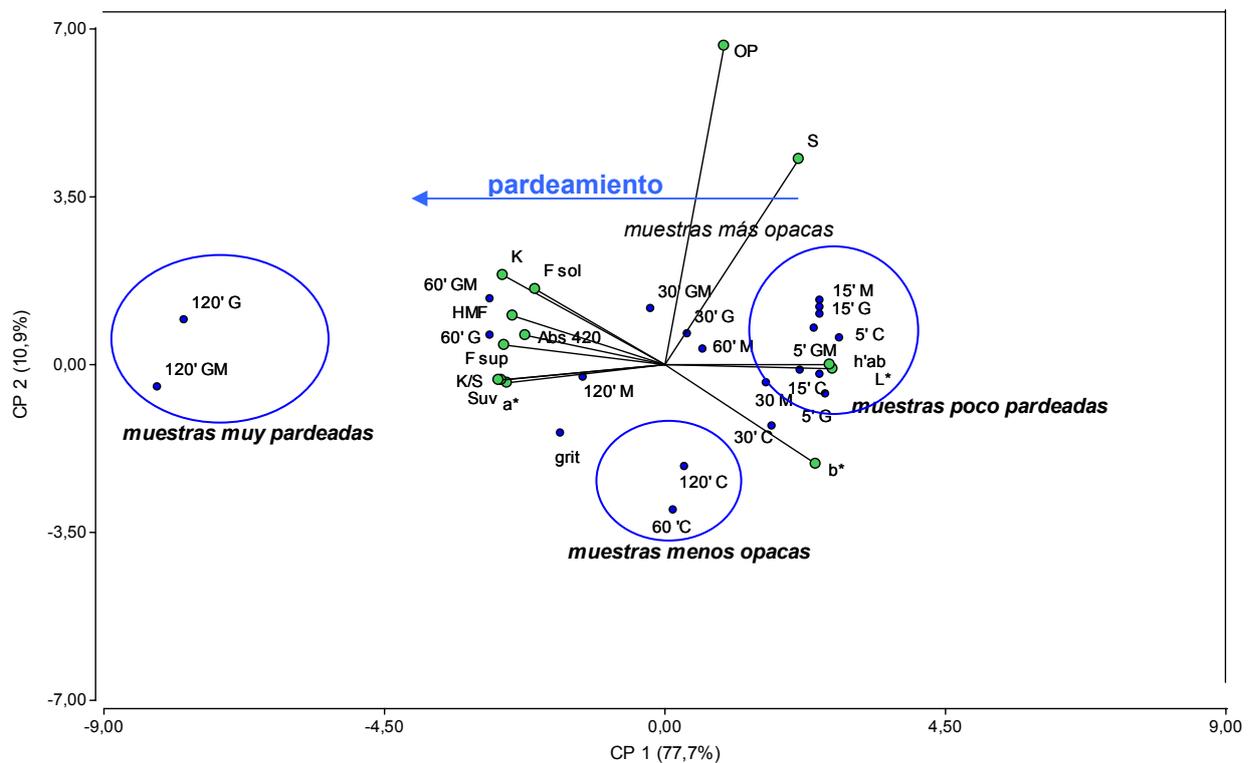


Figura 4-94: Gráfica de los dos primeros componentes principales para los sistemas modelo. Se indican las posiciones de las muestras en los nuevos ejes (puntos azules). Los vectores representan las variables originales.

En el caso de los sistemas modelo los cambios en la apariencia están provocados principalmente por cambios en la transparencia y en la concentración de pigmentos sin que ocurran cambios dramáticos de forma, como el que produjo el laminado, o de estructura, como en el tostado. Esto se vio reflejado en el ACP por la mayor asociación entre las variables correspondientes a la medición de color en la superficie y los marcadores químicos que se observó en los sistemas modelo.

### **4.5.3. Resumen de los cambios observados**

#### **4.5.3.1. Proceso industrial**

En la Tabla 4-31 se han resumido las variaciones en el aspecto visual de las muestras mediante las variables de cromaticidad, opacidad y luminosidad, en cada etapa del proceso industrial y las causas de las mismas. La principal causa de los cambios en la apariencia se debió a la formación y destrucción de interfases y los cambios de forma de las muestras.

Tabla 4-31: Evolución del aspecto visual durante cada etapa del proceso industrial de producción de copos de maíz y sus causas.

Etapa	Aspecto visual			Causa
	Croma	Luminosidad	Opacidad	
imbibición	Rojo al amarillo	↑	↑	Generación de fase acuosa con componentes insolubles que cubren el color de los pigmentos carotenoides
cocción	Amarillo al marrón	↓	↓	Generación de pigmentos pardos. Destrucción de interfases por gelatinización del almidón.
laminado	Marrón al amarillo	↑	↓	Disminución del espesor y homogenización de la matriz por compactación.
tostado	Desplazamiento al amarillo	↑	↑	Generación interfases matriz aire por la formación de burbujas.

En la Tabla 4-32 se resumió la evolución de los marcadores químicos en las etapas del proceso. Aquí la causa principal de variación se debió al desarrollo de las reacciones de formación de pigmentos pardos, principalmente reacción de Maillard.

Tabla 4-32: Evolución de los marcadores químicos durante cada etapa del proceso industrial de producción de copos de maíz y sus causas.

Etapa	Marcadores químicos					Causa
	HMF	CML	Abs 420	F <sub>sup</sub>	F <sub>sol</sub>	
cocción	↑	↑	↑	↑	↑	Generación de pigmentos y compuestos fluorescentes por la reacción de Maillard.
laminado	=	↑	=	=	=	Proceso breve y sin tratamiento térmico (CML: probable efecto de la compresión)
tostado	↑	=	=	=	=	Condiciones favorables para la deshidratación que produce HMF.

Los cambios en el color de las muestras no siempre fueron paralelos al desarrollo de pigmentos. Esto ocurrió cuando se produjeron cambios en la matriz que afectaron los aspectos de la distribución espacial de la luz, fundamentalmente desarrollo y destrucción de interfases. Esto fue especialmente notorio durante la imbibición de las muestras, luego de la cual se percibieron como más claras y más amarillas. También se manifestó este efecto en el laminado dónde la compactación y el cambio de forma produjeron un aclaramiento y la muestra se volvió más transparente sin que se produjeran cambios de fluorescencia, indicadores de pigmentos o de daño térmico. Finalmente el tostado produjo la formación de burbujas y por lo tanto la creación de interfases matriz aire hizo que la muestra se volviera más opaca.

### 4.5.3.2. Sistemas modelo

En la Tabla 4-33 se resumen los cambios de apariencia visual ocurridos durante la cocción y sus causas para los sistemas modelo. Se tomó como referencia el sistema con glucosa y malta porque es el más se parece a lo que ocurre durante el proceso industrial.

En este caso las mayores causas de variación están dadas por la formación de pigmentos y por el efecto del agua sobre la creación o destrucción de interfases. En una primera etapa el ingreso del agua al *grit*, previo a la gelatinización del almidón, produce una nueva interfase afectando la opacidad y la cromaticidad. Avanzando la cocción, durante la gelatinización del almidón, el agua actúa de manera opuesta interactuando íntimamente con el almidón y haciendo desaparecer interfases y por lo tanto la muestra se hace menos opaca. Este efecto es evidente en la muestra control (Figura 4-68). En la muestra que contiene glucosa y malta (G-M), que simultáneamente se colorea intensamente por generación de pigmentos pardos, el efecto de disminución de opacidad está enmascarado por la pérdida de luminosidad. Por lo tanto, el índice K/S resultó más sensible ya que integra los efectos de la dispersión (S) y de los pigmentos (K).

Tabla 4-33: Evolución del aspecto visual durante la cocción de los sistemas modelo con glucosa y malta en función del tiempo y sus causas.

Tiempo de cocción (min)	Aspecto visual				Gelatinización del almidón	Causa
	Croma	Luminosidad	Opacidad	K/S		
0-5	rojo al amarillo	↑	↑	↓	80%	Generación de fase acuosa con componentes insolubles
5-15	No cambia	=	=	↑	95%	Período de inducción de las reacciones químicas. Destrucción de interfases
15-30	Se desplaza al rojo	↓	=	↑	98 %	Generación de pigmentos, destrucción de interfases
30-60	Se desplaza al rojo	↓	=	↑	100 %	Generación de pigmentos, destrucción de interfases
60-120	Se desplaza al rojo	↓	↓	↑	100 %	Generación de pigmentos, destrucción de interfases

En la Tabla 4-34 se muestran los cambios químicos en los sistemas modelo y su principal causa de variación, se indican la reacción de Maillard y caramelización ya que esta última no puede descartarse debido a la presencia de glucosa agregada, además hay trabajos que demuestran que ocurre caramelización de la glucosa a temperaturas moderadas y altas  $a_w$  (Buera y col., 1987). Se observó un período de inducción, posiblemente relacionado con el tiempo necesario para el ingreso de agua al *grit*, la hidratación del almidón necesaria para lograr la movilidad molecular y la disolución de los reactivos que permita su interacción. Por otro lado, en sistemas líquidos se ha demostrado que el pardeamiento no enzimático presenta una fase de retardo (Matiacevich y col., 2008). En el último período (60 a 120 minutos) se observó una disminución de la fluorescencia que puede estar relacionada con la conversión de fluoróforos en otros productos.

Tabla 4-34: Evolución de los marcadores químicos durante la cocción de los sistemas modelo con glucosa y malta en función del tiempo y sus causas.

Tiempo de cocción (min)	Cambios químicos				causa
	HMF	Abs 420	F <sub>sol</sub>	F <sub>sup</sub>	
0-5	=	=	=	=	Período de inducción
5-15	=	=	=	=	Período de inducción
15-30	↑	=	↑↑	↑	Avance de reacción de Maillard y caramelización
30-60	↑↑	↑	↑↑	↑	Avance de reacción de Maillard y caramelización
60-120	↑↑	↑	↓	↑	Conversión de fluoróforos en compuestos derivados

\* La doble flecha indica un aumento más importante

A partir del análisis de las Tablas 4-33 y 4-34 es importante destacar que la gelatinización del almidón, determinada por DSC, ocurre casi completamente a los 15-30 minutos de la cocción y sin embargo, esto no marca el fin del proceso que dura de dos horas a dos horas y media. Otros indicadores de las reacciones de pardeamiento no enzimático (el color y los marcadores químicos) se revelan mucho más adecuados para el seguimiento de la cocción y el establecimiento de valores de referencia. De esta manera, mediciones no destructivas, como las de reflectancia, que tienen la ventaja de ser sencillas y rápidas podrían proponerse como índice para el monitoreo del proceso de cocción.

### 4.6. Productos volátiles medidos en muestras almacenadas

Para observar los cambios producidos durante el almacenamiento y el efecto de los componentes de la formulación se realizó un experimento con muestras de copos de maíz comunes procesados con y sin extracto de malta provistos por un fabricante local.

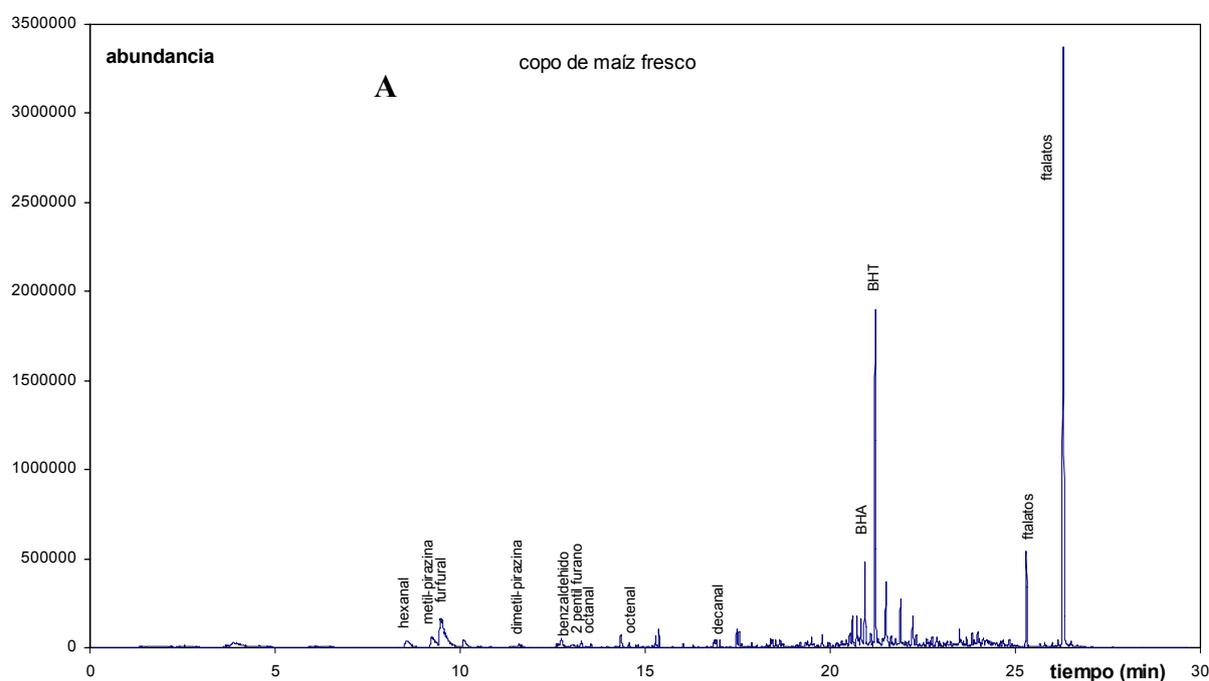
Las muestras se almacenaron a temperatura ambiente bajo dos condiciones de iluminación: luz natural y luz ultravioleta (254 nm, 1,69 mW·cm<sup>-2</sup>), durante tiempos de hasta 120 días, respectivamente. Como control se utilizó una muestra de menos de 20 días de fabricación, obtenida en el momento de abrir el envase. Luego se analizaron los compuestos volátiles mediante la técnica de concentración por purga y trampa y se identificaron por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa según fue descrito en la sección 3.21.

#### 4.6.1. Productos de oxidación

Para ejemplificar las variaciones observadas debido a la oxidación, en la Figura 4-95 se muestran los cromatogramas de una muestra de copos de maíz frescos (A) (recientemente fabricados) y de otra que presentaba alto deterioro oxidativo, evidenciado por su claro aroma a rancio (B). Se han marcado los picos que pudieron ser identificados mediante sus espectros de masa. En los copos de maíz control (frescos) (Figura 4-95 A) se encontraron algunos aldehídos producidos por la oxidación de ácidos grasos como hexanal, octanal y decanal, que, como indicaron Bredie y col. (1998) se producen en una mínima proporción (sin afectar negativamente el producto) durante la elaboración a causa de la oxidación de lípidos insaturados. Además se observaron picos correspondientes a compuestos volátiles de Maillard como pirazinas y furfurales. Con un tiempo de retención de aproximadamente 21 min. aparecieron los picos correspondientes a butil-hidroxi-tolueno (BHT) y butil-hidroxi-anisol

(BHA) los cuales se agregan durante la elaboración para que actúen como antioxidantes para evitar el desarrollo de rancidez en alimentos (García Freitas y Fatibello-Filho, 2010). Finalmente entre los 25 y 26 min se observaron dos picos correspondientes a ftalatos que son compuestos utilizados como plastificantes en la fabricación de envases y provienen de la migración desde el envase.

En el cromatograma de la muestra con deterioro oxidativo (Figura 4-95 A) puede verse un incremento de la presencia de compuestos correspondientes a aldehídos de 5 a 10 carbonos (pentanal, hexanal, heptanal, octanal, octenal, nonanal, decanal y decadienal) y una disminución importante de los picos correspondientes a los antioxidantes BHT y BHA (Anderson y col., 1963).



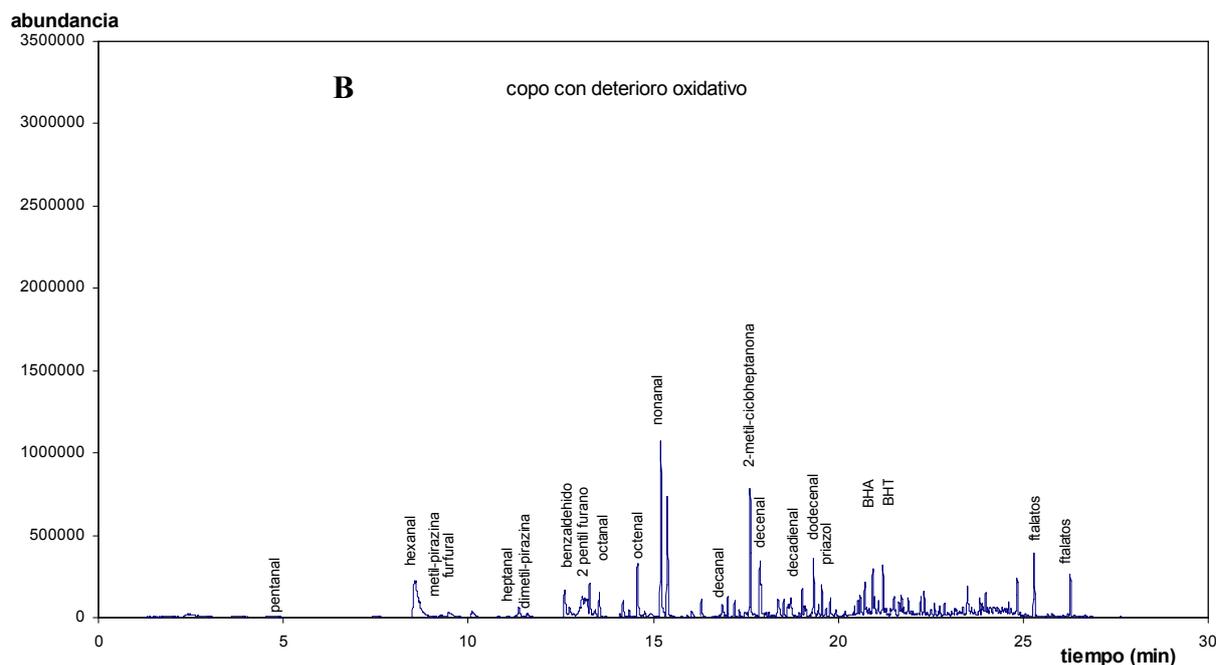


Figura 4-95: Ejemplos de cromatogramas de un copo de maíz fresco (A) y uno con deterioro oxidativo (B). Se indican los picos principales según fueron identificados por su espectro de masas.

Con el fin de medir los productos de oxidación de ácidos grasos globalmente, se sumaron los valores correspondientes a las áreas corregidas de los aldehídos volátiles con cadenas de 5 hasta 10 carbonos para muestras sin agregado de malta y aquellas conteniendo malta en su formulación (Figura 4-96 A y B), respectivamente. Los datos mostrados se obtuvieron corrigiendo el área del pico del analito correspondiente por el área del pico del estándar interno y la masa de muestra utilizada. En la Figura 4-96 (A) se observa que las muestras sometidas a luz natural mostraron un aumento de los aldehídos volátiles totales en función del tiempo de almacenamiento, mientras que en aquellas sujetas a radiación UV la suma de las áreas correspondientes a los aldehídos tuvo un gran aumento a los 60 días pero luego disminuyó. En trabajos previos en los que se han medido aldehídos provenientes de la oxidación lipídica (principalmente hexanal), también se halló este decaimiento en las concentraciones a cierto tiempo de tratamiento (Goodridge y col., 2003; Iglesias y col., 2007). Esto es debido a que el contacto prolongado de hexanal con las proteínas conduce a la

formación de aductos aldehído/proteína, y este queda retenido en la matriz, formando parte de los entrecruzamientos (Smith y col., 1999). Por otro lado, las muestras con malta incorporada en su formulación (Figura 4-96 B) presentaron mayores valores de aldehídos totales que las que no tenían extracto de malta, y en ellas las áreas correspondientes a los aldehídos volátiles continuaron aumentando con el tiempo de almacenamiento hasta los 120 días. El conocido efecto antioxidante de la malta (debido principalmente a su contenido de polifenoles y a ciertas propiedades antioxidantes de las vitaminas del grupo B (Qingming y col., 2010)) no se manifestó. Existen dos posibilidades: una de ellas es que la presencia de malta impida la reacción del hexanal con las proteínas, y esto conduzca a su mejor detección, y la otra es que el extracto de malta favorezca la formación de aldehídos volátiles, lo cual podría ocurrir a través de la presencia de polifenoles previamente oxidados.

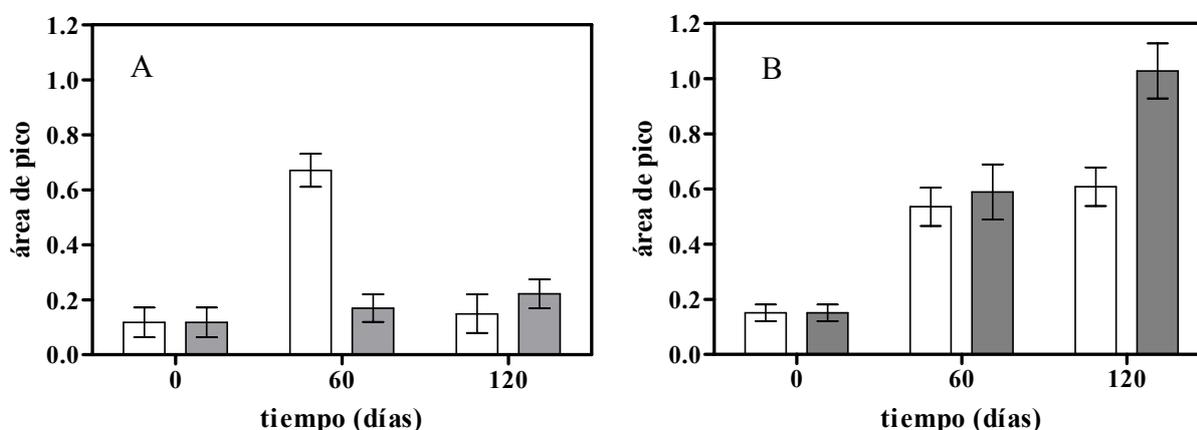


Figura 4-96: Contenido de aldehídos volátiles totales en muestras de copos de maíz almacenadas con exposición a: luz UV (barras claras) y luz natural (barras grises). Sin agregado de malta A, y con agregado de malta en la formulación: B. (I) desviación estándar.

#### 4.6.2. Productos volátiles de la reacción de Maillard

En la Tabla 4-35 se muestran los valores de las áreas corregidas de los picos correspondientes a los compuestos volátiles provenientes de la reacción de Maillard que

fueron encontrados en las muestras almacenadas bajo luz natural y ultravioleta. Los mismos se dividieron en tres grupos: furfurales, furanos y pirazinas. Los valores están expresados como el área del pico corregida por el estándar interno y la masa seca de la muestra. Los furfurales provienen de la reacción de deshidratación de azúcares, que pueden ocurrir tanto en la cocción como en el tostado, mientras que los furanos y pirazinas son típicos compuestos que se generan durante en el tostado a través de la degradación de Strecker (Fennema, 1996), ver Figura 1-7. Los volátiles que se detectaron en mayor cantidad fueron las pirazinas. Bajo luz natural la detección compuestos de volátiles aumentó con el tiempo de almacenamiento, comparado con la muestra control para ambas formulaciones. En las que fueron expuestas a la luz UV para las pirazinas se observó un máximo a los 60 días y una disminución a los 120 días. La detección de furfurales mostró una disminución a los 120 días en las muestras con malta expuestas a luz UV. Los furanos no se detectaron en la muestra control y luego de 60 días de almacenamiento mostraron valores muy bajos. Como tendencia general puede indicarse que bajo las condiciones de almacenamiento utilizadas los compuestos mencionados se encontraban retenidos en la matriz y fueron liberados durante el calentamiento en el dispositivo de purga y trampa. El aumento en la detección de estos compuestos pudo deberse a cambios en la matriz producidos durante el almacenamiento que favorezcan su liberación y eventualmente puedan llevar a su disminución. La pérdida de estos compuestos en los copos de maíz almacenados bajo luz UV indica un deterioro en las cualidades organolépticas en esas condiciones por liberación acelerada o destrucción de los mismos (Lindsay, 1993).

Tabla 4-35: Productos volátiles de reacción de Maillard detectados por GC-MS. Los compuestos se agruparon en furfurales, furanos y pirazinas. Los valores están expresados como área de pico corregida por el estándar interno y la masa de muestra. (Desviación estándar).

		Productos de la reacción de Maillard					
		furfurales		furanos		pirazinas	
tratamiento		Luz natural	UV	Luz natural	UV	Luz natural	UV
sin malta	Control	0,019 (0,011)	0,019 (0,011)	nd	nd	0,121 (0,057)	0,121 (0,057)
	60 días	0,042 (0,010)	0,024 (0,011)	0,007 (0,005)	0,013 (0,003)	0,292 (0,063)	0,415 (0,073)
	120 días	0,064 (0,005)	0,052 (0,012)	0,012 (0,003)	nd	0,465 (0,008)	0,258 (0,060)
con malta	Control	0,042 (0,012)	0,042 (0,012)	nd	nd	0,137 (0,021)	0,137 (0,021)
	60 días	0,068 (0,010)	0,063 (0,009)	0,010 (0,005)	0,008 (0,001)	0,494 (0,050)	0,488 (0,075)
	120 días	0,094 (0,017)	0,030 (0,008)	0,052 (0,013)	0,011 (0,003)	0,850 (0,071)	0,286 (0,052)

nd: no detectable

#### **4.7. El proceso de producción de copos de maíz en el diagrama de estado.**

Los procesos de producción de alimentos a base de cereales se llevan a cabo en etapas que someten a los materiales a un amplio rango de temperaturas y a importantes variaciones en el contenido de agua. Estas condiciones producen transformaciones físicas y químicas en ciertos componentes clave, que conducen a las características deseadas del producto final. Las transformaciones físicas implican cambios de estado y transiciones de fase. Estos cambios pueden ser descriptos e interpretados con la ayuda de diagramas de estado suplementados. Estos diagramas son gráficos de temperatura vs. composición, e incluyen las curvas de gelatinización de almidón, fusión de hielo y temperatura de transición vítrea.

En la Figura 4-97 se observa un diagrama de estado que comprende las transformaciones que tienen lugar durante la producción de copos de maíz, construido a partir de las mediciones realizadas por DSC sobre las muestras provenientes de las diferentes etapas de proceso. Se representaron las curvas de transición vítrea de los copos de maíz y del *grit* crudo y la temperatura de inicio de la gelatinización del almidón del *grit* en función del contenido de sólidos. Algunos datos referentes a las variables de proceso que no pudieron ser reproducidas en el laboratorio fueron aportados por la empresa fabricante.

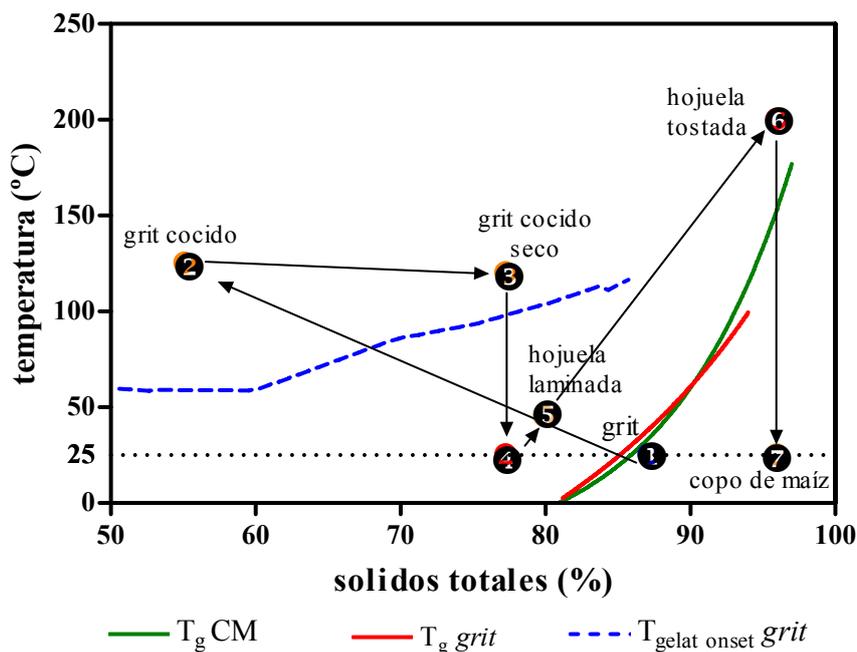


Figura 4-97: Diagrama de estado del proceso de fabricación de copos de maíz. La ubicación de las muestras durante el proceso se indican con números y las flechas indican el sentido del proceso.

El proceso comienza con el *grit* crudo (punto ❶ en el diagrama de la Figura 4-97) a temperatura ambiente, cuyo contenido de agua, de aproximadamente 15 %bs, es mayor que el del grano de maíz almacenado, debido a que durante la molienda seca se somete a un paso de humidificación para facilitar el desprendimiento del pericarpio. En esta etapa el almidón se encuentra en estado nativo y es semicristalino. Con ese contenido de agua (15%) el *grit* se encuentra en la zona vítrea (para las regiones amorfas), casi sobre la curva de T<sub>g</sub>. En este estado es estable durante varios meses según la indicación de los proveedores. Antes de la cocción el *grit* se mezcla con los ingredientes de formulación, (azúcar, sal y agua). El proceso de cocción se produce bajo presión de vapor saturado, esto hace que el contenido de agua aumente y, a la temperatura que alcanza (125 °C), la muestra está en la zona de gelatinización del almidón, por encima de la curva de T<sub>gela</sub> (punto ❷ en el diagrama de la Figura 4-97). Además, en esta etapa existe un importante desarrollo de la reacción de Maillard como se discutiera en la sección 4.4.1. Al final de este proceso el *grit* cocido tiene un contenido de

agua del 80 %bs. Luego de la cocción el contenido de agua se reduce hasta aproximadamente un 30 %bs exponiendo los *grits* cocidos a una corriente de aire a 120 °C, (punto ③ en el diagrama de la Figura 4-97). A esta temperatura la muestra aún se encuentra por encima de la curva de gelatinización. Luego los *grits* cocidos se dejan enfriar hasta temperatura ambiente y permanecen durante 18 a 24 horas en una tolva en un proceso llamado temperado que tiene por objetivo permitir que se homogenice la distribución del agua y el almidón alcance cierto grado de retrogradación para facilitar el laminado. En esta etapa el material se encuentra en la zona de estado gomoso (punto ④ en el diagrama de la Fig. Figura 4-97), de esta manera es lo suficientemente maleable para poder laminarlo sin que se quiebre. Durante el laminado se produce un leve aumento de la temperatura ocasionado por la fricción de los rodillos y se pierde algo de humedad debido a la presión ejercida. En este punto (25 %bs de humedad y 45 °C, punto ⑤ del diagrama) la muestra se encuentra aún en la zona de estado gomoso y es perfectamente maleable. Durante el tostado posterior el *grit* laminado es sometido a altas temperaturas en un sistema de chorros de aire caliente que maximizan la transferencia térmica (punto ⑥ en el diagrama de la Figura 4-97). De esta manera, pierde agua rápidamente pero la alta temperatura hace que se encuentre siempre en la zona de estado gomoso y por lo tanto la violenta evaporación del agua deforma la matriz generando burbujas y produce poros en la estructura (Figura 4-53). El contenido de agua con el que ingresa a la etapa de tostado permite también un buen desarrollo de la reacción de Maillard (manifestado por el contenido de HMF) que genera aromas y pigmentos característicos de este producto (no medidos en este trabajo).

Al salir del horno de tostado el copo de maíz se enfría y atraviesa la zona de  $T_g$ , el material pasa al estado vítreo y las burbujas quedan atrapadas en el interior del copo de maíz (punto ⑦ en el diagrama de la Figura 4-97). La típica estructura ampollada del copo de maíz

contiene discontinuidades que hacen que matriz se torne más opaca comparada con el *grit* laminado.

Por otro lado, después del tostado el contenido de agua fue inferior al del agua límite de hidratación (determinado como el valor de  $m_0$  por la ecuación de GAB). Esto permite que el producto final sea crocante (sección 4.2.4) y estable desde el punto de vista microbiológico (Gervats y col., 1988; Davey, 1989). En el mapa de estabilidad de la Figura 4-98 se integran estas características. El bajo contenido de agua también es responsable de que la principal causa de deterioro de estos alimentos sea la oxidación de lípidos (Labuza y col., 1972; Nelson Katherine y Labuza, 1992; Barbosa Canovas y col., 2003). En el mismo diagrama se ha indicado la curva de  $T_g$  en función de  $a_w$ , que presentó una forma sigmoidea, a partir de esta curva se puede determinar un contenido de agua crítico para la estabilidad de los alimentos considerando como criterio de estabilidad el estado vítreo (Roos, 1995a; 2010). Como se ve en la Figura 4-98, teniendo en cuenta que los copos de maíz se almacenan y consumen a temperatura ambiente, y considerando una  $T_g$  de 25 °C se puede determinar un  $a_w$  de 0,75 el cual corresponde a un contenido de 16 (%bs). Como se vio al analizar las propiedades mecánicas y sensoriales para estos productos, se detectaron cambios que afectan a la calidad de los mismos a contenidos de agua menores que 16 %bs y correspondientes al estado vítreo a 25 °C. Por lo tanto para la definición de un contenido de agua crítico para productos laminados de maíz de textura crocante debe tenerse en cuenta que cuanto más bajo es el contenido de agua se hace más importante la velocidad de generación de rancidez (Labuza y col. 1972) y al aumentar el contenido de agua se detecta la pérdida de crocancia sensorial. De esta manera el contenido de agua límite de hidratación parece un mejor indicador de estabilidad para estos productos.

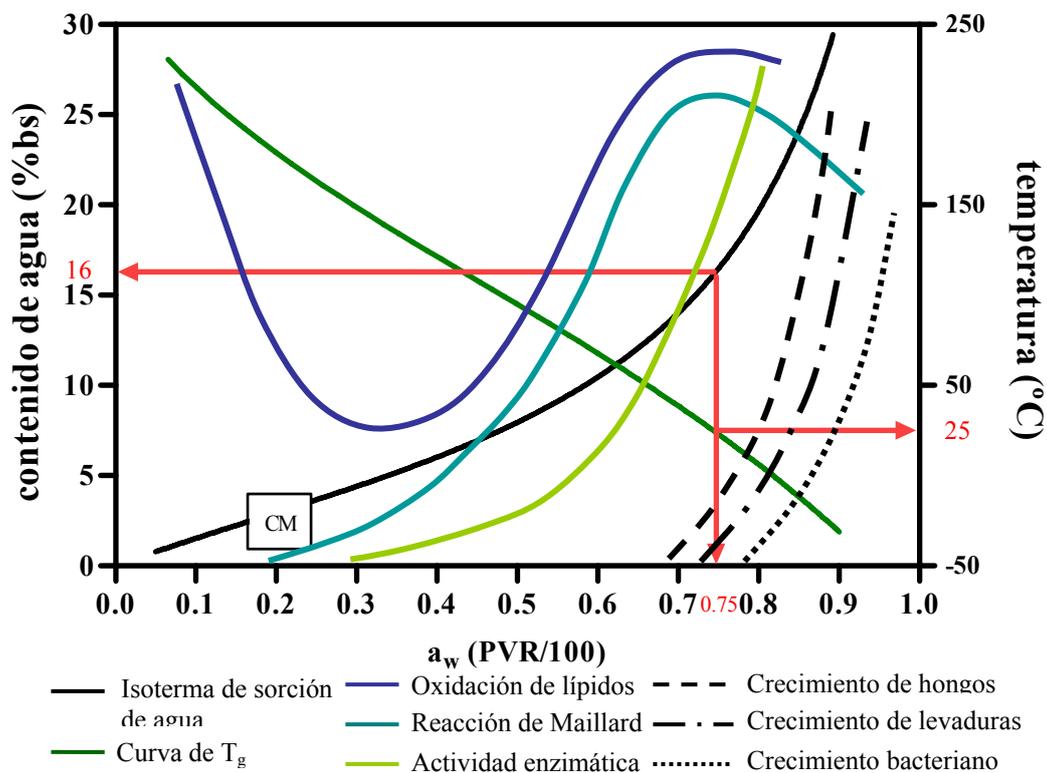


Figura 4-98: Diagrama de estabilidad mostrando la isoterma de sorción y la curva de  $T_g$  de los copos de maíz junto con las velocidades relativas de las diferentes reacciones de deterioro. El contenido de agua promedio de los copos de maíz frescos se indica como CM. Las flechas rojas indican los contenidos de agua y  $a_w$  que corresponden a una  $T_g$  de 25 °C. Adaptado de (Labuza y col., 1972).

A los efectos de comprender el estado del agua en cada etapa del proceso industrial se realizaron mediciones de movilidad molecular mediante resonancia nuclear magnética de protones resuelta en el tiempo  $^1\text{H-TD-RMN}$  sobre muestras representativas de cada etapa del proceso industrial.

En la Tabla 4-36 se detallan las poblaciones encontradas y las técnicas de eco de espín consideradas más convenientes según el tiempo de relajación a medir. El tiempo de relajación transversal ( $T_2$ ) obtenido por decaimiento libre de la inducción (FID) representa la movilidad de los protones del sólido y del agua íntimamente relacionada a los sólidos y se midió en todas las muestras. En todas las muestras estudiadas, a contenidos de agua inferiores a 25 %bs

se utilizó además la técnica de ecos de espín empleando la secuencia de pulsos de Hahn y, para contenidos de agua superiores, se empleó la secuencia de Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), que como comprende varios re-enfoques permite determinar tiempos de relajación mayores al rango de los ms. La muestra correspondiente al copo de maíz en las condiciones en que se comercializa presentó una sola población de protones caracterizada por un tiempo de relajación  $T_{2FID}$  de 7 microsegundos, determinada por la técnica de FID. En todas las muestras con contenido de agua entre 5 % y 25 % (bs) se detectaron dos poblaciones por ecos de espín empleando la secuencia de Hahn. Una de ellas estuvo caracterizada por el tiempo de relajación corto ( $T_{2SHahn}$ ) y la otra con tiempo de relajación más largo ( $T_{2LHahn}$ ) que correspondió a poblaciones de protones más móviles pertenecientes al agua con menor interacción con los sólidos. Las poblaciones con tiempo de relajación corto,  $T_{2SHahn}$ , son equivalentes a las detectadas por FID ( $T_{2FID}$ ) (protones del sólido y del agua íntimamente relacionada a los sólidos) y la diferencia en la constante de relajación se debe a la técnica empleada. Cuando se utilizó la técnica de CPMG a contenidos de agua menores que 25 %bs se detectó una sola población de protones, ya que esta técnica no es adecuada para detectar protones poco móviles (a contenidos de agua bajos) debido a que durante los tiempos de interpulso van relajando los protones menos móviles. A contenidos de agua mayores que 25 %bs se detectaron dos poblaciones de protones por CPMG. La de menor tiempo de relajación se denominó  $T_{2SCPMG}$  y la de mayor tiempo  $T_{2LCPMG}$ .

De esta manera, para contenidos de agua menores que 5 % se presentó solo una población de protones ( $T_{2FID}$  o  $T_{2SHahn}$ ). Entre 5 y 25 % se observó la existencia de dos poblaciones de protones caracterizadas por los tiempos de relajación denominados  $T_{2SHahn}$  y  $T_{2LHahn}$ . Para contenidos de agua mayores que 25 %bs se detectaron tres poblaciones de protones, la primera caracterizada por el valor de  $T_{2SHahn}$ , el agua con menor interacción con

los sólidos que la anterior ( $T_{2SCPMG}$ ) y una población de agua con mayor movilidad ( $T_{2LCPMG}$ ). Con respecto a esta última población más móvil, es interesante notar que se detectó a los contenidos de agua a los cuales se forma hielo al congelar la muestra, tal como se demostró por DSC (sección 4.1.4.2).

Tabla 4-36: Tiempos de relajación en milisegundos medidos por RMN para las muestras del proceso industrial. Media (desviación estándar).

muestra	contenido de agua (% bs)	tiempos de relajación (ms) según técnica empleada				
		FID	Hahn		CPMG	
		$T_{2FID}$	$T_{2SHahn}$	$T_{2LHahn}$	$T_{2SCPMG}$	$T_{2LCPMG}$
<i>grit</i>	11,7	0,009 (0,0002)	0,025 (0,0001)	1,1 (0,07)	----	----
<i>grit</i> cocido (sistema modelo)	74,0	0,016 (0,0005)	0,046 (0,003)	2,6 (0,2)	0,96 (0,07)	10,8 (0,05)
<i>grit</i> temperado	27,5	0,014 (0,0003)	0,035 (0,001)	2,3 (0,3)	0,18 (0,04)	3,1 (0,06)
laminado	21,2	0,010 (0,0002)	0,034 (0,0007)	1,9 (0,071)	----	----
copo de maíz	3,0	0,007 (0,0002)	0,024 (0,0007)	----	----	----

FID: decaimiento libre de la inducción

Hahn: ecos de espín luego de la secuencia de pulsos de Hahn

CPMG: ecos de espín luego de la secuencia de Carr-Purcell-Meiboom-Gill.

En la Figura 4-99 se grafican las poblaciones de agua determinadas por RMN en función del contenido de agua y se ubican los resultados de las muestras de las diferentes etapas de proceso industrial. Sobre el gráfico se indicaron además las distintas zonas correspondientes a la isoterma de sorción de agua (I, II y III), tal como se analizó en la Figura 4-27 para las muestras del producto terminado. El *grit* crudo (1) se encontró en la zona II de la isoterma. Según lo discutido previamente en esta sección, a los contenidos de agua que presenta el *grit* crudo (15 %bs) se encontraron dos poblaciones de protones medidas por ecos de espín de Hahn, una de baja movilidad que se asoció a los protones pertenecientes los

sólidos y al agua que interactúa íntimamente con ellos, con tiempo de relajación  $T_{2SHahn}$ , y otra, de mayor movilidad,  $T_{2LHahn}$ . El aumento del contenido de agua durante la cocción (2) hizo que la muestra se desplazara a la zona III de la isoterma donde se encuentra la tercera población de protones, con tiempos de relajación caracterizados por tiempos  $T_{2LCPMG}$ , en esta zona se presenta suficiente movilidad para permitir la gelatinización del almidón. Luego de la cocción y el secado el *grit* cocido listo para laminar (4) (a menor temperatura que el punto 3, que no se muestra en esta figura) se ubicó en el límite de la zona II y III de la isoterma de sorción, que se corresponde con la zona de aparición de agua congelable detectada por DSC. La reducción en el contenido de agua que se produjo durante el laminado (5) colocó a las muestras en la zona II de la isoterma. En estas muestras se observaron mismas poblaciones de protones que en *grit* crudo pero con mayor movilidad debido al mayor contenido de agua. Luego del tostado el copo de maíz (7) se ubicó en la zona I de la isoterma, por debajo del contenido de agua límite de hidratación y por lo tanto mostró una sola población de protones.

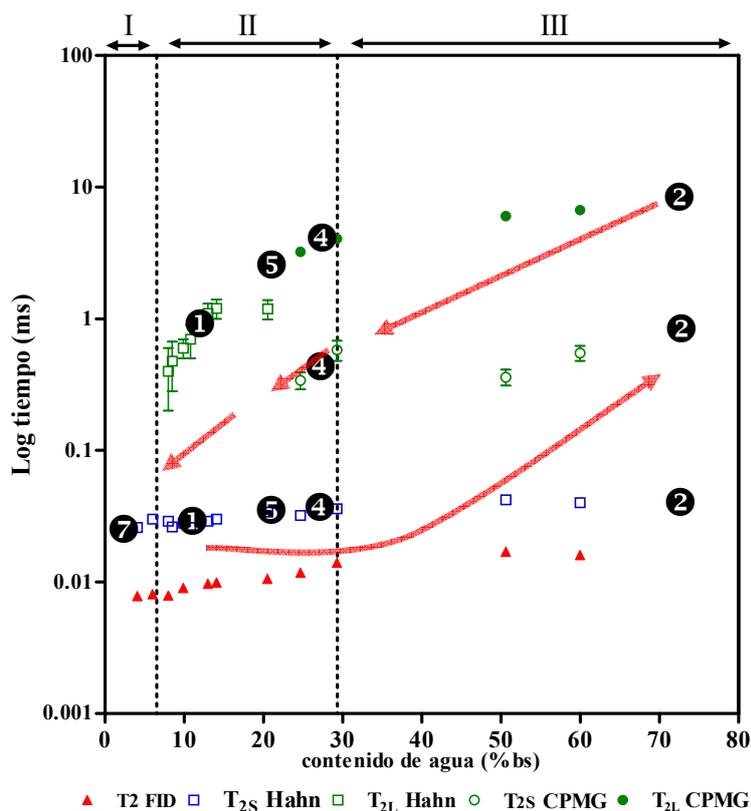


Figura 4-99: Variación en la movilidad de las poblaciones de protones durante el proceso de producción industrial. Las flechas indican el sentido del proceso. Los números romanos en la parte superior indican las zonas de la isoterma de sorción.

#### 4.7.1. Resumen de la interpretación de las etapas del proceso en relación a los diagramas de estado y a la movilidad de protones:

❶ *grit* crudo: se humedece en el proceso de molienda. El almidón se encuentra en estado nativo semicristalino, en estado vítreo y con protones de movilidad intermedia.

❷ Proceso de cocción: alto contenido de agua para permitir la gelatinización del almidón. El material se encuentra en la zona III de la isoterma (agua congelable), y a alta temperatura, por encima de la  $T_g$  y de la  $T_{gela}$ , con una población importante de protones de alta movilidad.

③ Proceso de secado: se reduce el contenido de agua para facilitar la laminación, aún está en zona donde es posible la gelatinización del almidón debido a la temperatura del aire de secado por encima de la  $T_g$  y de la  $T_{gela}$ , con una población importante de protones de alta movilidad.

④ *grit* cocido seco: se encuentra en zona de estado gomoso pero fuera de la zona de gelatinización del almidón. Por encima de la  $T_g$  y debajo de la  $T_{gela}$ , con una población importante de protones de movilidad intermedia. Zona II de la isoterma cerca del límite de la aparición de agua congelable.

⑤ *grit* laminado: por la fricción ocurre un leve aumento de la temperatura. Su estado gomoso permite el laminado sin rotura.

⑥ Proceso de tostado: pierde agua rápidamente pero por la alta temperatura durante esta etapa permanece en estado gomoso: mayor movilidad, mejor desarrollo de pardeamiento (manifestado por el contenido de HMF) y ampollado de la superficie lo que produce la apariencia característica.

⑦ Copo de maíz: al enfriarse entra en zona vítrea (debajo de la  $T_g$ ) con contenido de agua inferior al valor de agua límite de hidratación ( $m_0$  de GAB, en la zona I de la isoterma). Se desarrolla la textura crocante y es estable microbiológicamente. Su principal causa de deterioro es la oxidación de lípidos. Se encuentra una sola población de protones de baja movilidad.

# **5. Resultados destacados**

En esta tesis se realizó una caracterización fisicoquímica de los copos de maíz y productos intermedios seleccionados durante el proceso de producción.

Se realizó un modelado de las isotermas de sorción de agua y nitrógeno y de la variación de la  $T_g$  con el contenido de agua. La isoterma de sorción de agua de los copos de maíz recubiertos con azúcar mostró la influencia de la sacarosa cristalina que es poco higroscópica, lo que puede ayudar a retardar la absorción de agua cuando los copos se sumergen en leche para su consumo, en comparación con los copos sin cubierta azucarada. El área específica de sorción de nitrógeno fue mucho menor que la de sorción de agua, y resultó un parámetro más sensible a las transformaciones producidas durante el proceso industrial, reflejando la diferencia en los sitios de adsorción para ambos gases, debido a la fuerza impulsora de los enlaces por puentes de hidrógeno que es capaz de desplegar el agua.

Además del estudio de la variación de la  $T_g$  con el contenido de agua, se caracterizaron otras transiciones térmicas, como gelatinización, retrogradación del almidón, presencia de agua congelable y descomposición de azúcares que se ubicaron en diagramas suplementados temperatura/composición. Entre las transiciones térmicas de los materiales estudiados (tanto materias primas como productos o intermediarios de los procesos de industrialización) se observaron relajaciones entálpicas. Las mismas no están aún completamente explotadas para el control del proceso en alimentos producidos a base de almidón. La continuación de los estudios de estas transiciones puede sin embargo ser de gran interés para proveer información sobre las características del material y los cambios estructurales producidos en relación al proceso.

El panel de evaluadores de textura logrado con alto grado de entrenamiento fue capaz de asimilar las escalas de referencia con precisión y emitir respuestas concordantes al evaluar las

muestras problema. Así mismo se desarrolló con éxito por primera vez una escala de crocancia utilizando como muestras de referencia alimentos argentinos.

La variación en las diferentes propiedades texturales se produjo en un rango de contenido de agua y por lo tanto es probable que dependan, además de la humedad de la muestra (o de su  $T_g$ ), de múltiples factores como ser diferentes ingredientes y/o separación de fases.

A contenidos de agua inferiores que 6 %bs se observó la máxima fracturabilidad y crocancia, mínima cohesividad y baja dureza sensorial de los copos de maíz además de bajos valores de las propiedades mecánicas  $E_d$  y  $\sigma_E^m$ . Se observó una disminución importante de la fracturabilidad y la crocancia al alcanzar un contenido de agua crítico de los copos de maíz (~ 10 %bs) y, con subsiguientes aumentos del contenido de agua, ambas propiedades se redujeron a cero concomitantemente con la disminución abrupta de  $E_d$  y  $\sigma_E^m$  y la obtención de curvas de compresión sin perfil aserrado. Lo inverso ocurrió con la cohesividad sensorial, la cual alcanzó un máximo a contenidos de agua correspondientes al estado gomoso para luego permanecer constante. La dureza sensorial, por su parte, presentó el máximo desplazado hacia contenidos de agua un poco mayores (17 %bs) que el máximo de  $E_d$  y  $\sigma_E^m$  y también disminuyó cuando la muestra pasó al estado gomoso, indicando que el efecto antiplastificante del agua pudo ser detectado sensorialmente. Este máximo ocurrió en la zona de la transición vítrea antes de la aparición del agua de mayor movilidad. Por lo tanto es en las propiedades mecánicas dónde se manifiestan el efecto antiplastificante y plastificante y no en la continua disminución de la  $T_g$  que se produce con el incremento del contenido de agua.

Los principales cambios en las propiedades mecánicas y en la textura oral ocurrieron antes de la transición vítrea o en la zona muy cercana a esta.

El estudio de los tiempos de relajación por  $^1\text{H}$ -RMN provee datos del movimiento a nivel molecular y esto facilitó la interpretación de las propiedades térmicas y mecánicas que dependen de las interacciones supramoleculares las cuales son relevantes en el entendimiento de la calidad de los productos laminados de maíz.

La reacción de Maillard se produjo fundamentalmente en la cocción. De esta forma, el desarrollo de productos fluorescentes, de CML y pigmentos pardos puede servir como indicadores útiles durante la cocción de los *grits* al vapor. La función de color tono ( $h'_{ab}$ ) y el contenido de HMF resultaron marcadores adecuados durante el tostado. El valor de estos indicadores dependió de la formulación, tiempo y condiciones del tratamiento térmico. Por otro lado, los compuestos volátiles característicos generados en el tostado a través de la reacción de Maillard quedaron retenidos en la matriz, luego se liberaron durante el almacenamiento y la cantidad detectada dependió de la formulación y las condiciones de almacenamiento aplicadas. La detección de productos de la oxidación de ácidos grasos (expresados en este trabajo como aldehídos volátiles) también mostró un comportamiento dependiente de la formulación y de las condiciones de almacenamiento. Bajo luz UV se observó un máximo en el área cromatográfica correspondiente a estos productos en función del tiempo, para los copos formulados sin extracto de malta. En el caso de los copos con malta se observó un aumento constante durante el almacenamiento tanto bajo luz UV como natural.

Los cambios en la apariencia fueron provocados principalmente por modificaciones de forma, (como la que ocurre en el laminado de los *grits*), de transparencia (por aparición o desaparición de interfases) o de concentración de pigmentos (como la que ocurre en la cocción). Los cambios en la forma o transparencia afectaron la correlación entre la concentración de marcadores químicos, compuestos fluorescentes o pigmentos y el color medido por reflectancia.

# **6. Conclusiones**

Los productos de las diferentes etapas del proceso industrial pudieron ubicarse en un diagrama de estado suplementado y relacionarse con la movilidad molecular en cada etapa, determinada por relajación magnética de protones. Esto permitió generar un mapa completo de los cambios de fase y estado que se producen a lo largo del proceso en relación a la movilidad de agua y entender los mecanismos que intervienen en las transformaciones físicas y químicas. De esta manera pueden utilizarse como herramientas para el diseño de procesos, desarrollo de productos y el control de su estabilidad.

La utilización de distintos modelos matemáticos permitió caracterizar con éxito la evolución de los atributos sensoriales estudiados (fracturabilidad; crocancia; cohesividad y dureza) con el contenido de agua de los copos de maíz. Dicho modelado es de utilidad para predecir los cambios ocurridos durante el almacenamiento en productos de baja humedad y que puedan ser detectados por los consumidores.

El agua es considerada un componente que aumenta la flexibilidad de los materiales, sin embargo ciertos materiales experimentan aumento de rigidez. Este efecto no se correlaciona con los cambios de  $T_g$ , que disminuye continuamente. El efecto antiplastificante del agua, determinado tanto por medición de propiedades mecánicas como sensoriales, debe ser tenido en cuenta en el estudio de los cambios organolépticos en alimentos de baja humedad y textura frágil.

El agua límite de hidratación surge entonces como un mejor indicador que la  $T_g$  para mantener las propiedades de crocancia deseadas en este tipo de muestras. Sin embargo por debajo del contenido de agua límite de hidratación debe prestarse atención a la principal causa de deterioro organoléptico que es el cambio en el perfil de compuestos volátiles liberados de la matriz, ya sea por pérdida de compuestos con *flavor* deseados como por generación de compuestos indeseables. La manera en que la formulación del producto afecta estos cambios

debe estudiarse para cada tipo de proceso e ingredientes en particular, combinando mediciones químicas y sensoriales, a fin de lograr la mejor estabilidad en el almacenamiento.

En el desarrollo de esta tesis se mostraron varias correlaciones existentes entre mediciones de reflectancia o de fluorescencia de superficie y características físicas y químicas de los sistemas, tanto durante la elaboración como en el almacenamiento de los productos laminados de maíz.

En los estudios sobre la apariencia visual de alimentos el análisis de color prevalece por sobre otros atributos, y a su vez están mucho mejor estandarizadas las técnicas analíticas para su determinación. En este trabajo de tesis se analizó además la translucidez de las muestras, que se relacionó con distintas etapas del proceso de elaboración. Los cambios en la forma y en estructura (burbujas) afectan la apariencia por la creación y destrucción de interfases. Esto es de importancia en la interpretación de los resultados de las medidas de reflectancia y su correlación con los marcadores químicos. Sería conveniente complementar las investigaciones sobre aplicaciones de reflectancia con estudios de las características mecánicas de los *grits* cocidos tendientes a establecer su estado óptimo para la laminación y los efectos de la cocción, formulación y temperado (retrogradación del almidón) sobre estas características de manera de lograr un entendimiento más integrado sobre las condiciones que permiten un adecuado desarrollo de color y *flavor* y además se eviten pérdidas por rotura o pegado de los *grits* al rodillo laminador. Una profundización de estos estudios impulsaría el desarrollo de métodos no destructivos y rápidos, y sus aplicaciones redundarían en beneficios tecnológicos para el control de los productos en las distintas etapas, con impacto en la calidad y en aspectos económicos de la producción.

El conjunto de datos que correlacionan la materia prima con el producto final podría ser de utilidad para el desarrollo de germoplasma de maíz con calidad diferenciada. La

caracterización de los maíces nacionales y de sus cambios durante los procesos de elaboración permitirá aportar datos para el diseño y construcción de equipos y obtener tecnología adaptada a los requerimientos específicos de las materias primas de origen argentino.

# **7. Bibliografía**

- AACC (1996). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*. St. Paul, MN, The Association.
- Ablett S., Darke A., Izzard M. y Lillford P. J. (1993). "Studies of the glass transition in malto-oligomers." En: *The Glassy State of Foods*. J. Blanshard y P. Lillford. Loughborough, Leicestershire, UK, Nottingham University Press: 189-206.
- Acevedo N. C., Schebor C. y Buera M. D. P. (2008). "Non-enzymatic browning kinetics analysed through water-solids interactions and water mobility in dehydrated potato." *Food Chemistry* 108(3): 900-906.
- Adhikari H. R. (1973). "Fluorescent products in a glucose-glycine browning reaction." *Journal of Food Science* 38: 486-488.
- Aguirrezabal L. y Andrade F. (1998). "Calidad de productos agrícolas. Bases ecofisiológicas, genéticas y de manejo agronómico". INTA, FCA UNMP. 336 p.
- Ahmed M. U., Thorpe S. R. y Baynes J. W. (1986). "Identification of N epsilon-carboxymethyllysine as a degradation product of fructoselysine in glycated protein." *Journal of Biological Chemistry* (261): 4889-4894.
- Ajandouz E. H. y Puigserver A. (1999). "Nonenzymatic browning reaction of essential amino acids: effect of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 1786-1793.
- Akoh C. C. y Min D. B. (2002). *Food Lipids. Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. New York, Marcel Dekker. 1014 pp.
- Álvarez A. (2006). "Aplicaciones del maíz en la tecnología alimentaria y otras industrias." *Maíz y Nutrición*. 2: 9-13.
- Alzamora S., Guerrero S., Viollaz P. y Welti-Chanes J. (2005). Experimental protocols for modeling the response of microbial populations exposed to emerging technologies: Some points of concern. En: *Novel Food Processing*. G. V. Barbosa Canovas. New York, Marcel Dekker: 591-608.
- Ameur L. A., Mathieu O., Lalanne V., Trystram G. y Birlouez-Aragon I. (2007). "Comparison of the effects of sucrose and hexose on furfural formation and browning in cookies baked at different temperatures." *Food Chemistry* 101(4): 1407.
- Ameur L. A., Trystram G. y Birlouez-Aragon I. (2006). "Accumulation of 5-hydroxymethyl-2-furfural in cookies during the backing process: Validation of an extraction method." *Food Chemistry* 98(4): 790.
- Anderson R., Huntley T., Schwecke W. y Nelson J. (1963). "Disappearance of BHA and BHT in relation to peroxide content in breakfast cereals." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 40(8): 349-352.
- Anton A. A. y Luciano F. B. (2007). "Instrumental texture evaluation of extruded snack foods: a review." *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5(4): 245-251.
- Appelqvist I. A. M., Cooke D., Gidley M. J. y Lane S. J. (1993). "Thermal properties of polysaccharides at low moisture: I An endothermic melting process and water-carbohydrate interactions." *Carbohydrate Polymers* 20(4): 291.
- ASTM (1968). *Basic Principles of Sensory Evaluation*. Standard Technical Publication 433, American Society for Testing and Materials: 110.
- Attenburrow G. E., Goodbrand R. M., Taylor L. J. y Lillford P. (1989). "Structure, mechanics and texture of a food sponge." *Journal of Cereal Science* 9: 61-70.

- Atwell W.A., Hood L.F., Lineback, D.R., Varriano-Marston, E. y Zobel H. F. (1988). "The terminology and methodology associated with basic starch phenomena." *Cereal Foods World* 33: 306 – 311.
- Badii F., MacNaughtan W. y Farhat I. A. (2005). "Enthalpy relaxation of gelatin in the glassy state." *International Journal of Biological Macromolecules* 36(4): 263-269.
- Baisier W. M. y Labuza T. P. (2002). "Maillard browning kinetics in a liquid model system." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40(5): 707.
- Balabán M. O. (2008). "Quantifying nonhomogeneous colors in agricultural materials part I: Method development." *Journal of Food Science* 73(9): 431-437.
- Barbosa Canovas G. V., Fernández-Molina J. J., Alzamora S., Tapia M. S., López-Malo A. y Welti-Chanes J. (2003). Handling and preservation of fruits and vegetables by combined methods for rural areas. F. A. A. Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Barrett A. (2002). Structure-functionality relationships in foods. *Engineering and Food for the 21st Century*, CRC Press.
- Barrett A. M., Normand M. D., Peleg M. y Ross E. (1992). "Characterization of the jagged stress-strain relationships of puffed extrudates using the fast fourier transform and fractal analysis." *Journal of Food Science* 57(1): 227-232.
- Batterman-Azcona S. J., Lawton J. W. y Hamer R. J. (1999). "Effect of specific mechanical energy on protein bodies and a-zeins in corn flour extrudates." *Cereal Chemistry* 76: 316-320.
- Bell L. N. (1995). "Kinetics of non-enzymatic browning in amorphous solid systems: distinguishing the effects of water activity and the glass transition." *Food Research International* 28(6): 591-597.
- Bell L. N. (1996). "Nonenzymatic browning in reduced-moisture amorphous systems as impacted by water activity and glass-rubber transition." *ISOPOW VI Meeting*, Santa Rosa, California.
- Bell L. N. (1997). "Maillard reaction as influenced by buffer type and concentration." *Food Chemistry* 1: 143-147.
- Bell L. N. y Hageman M. J. (1994). "Differentiating between the effects of water activity and glass transition dependent mobility on a solid state chemical reaction: aspartame degradation." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(11): 2398-2401.
- Bell L. N. y Touma D. E. (1996). "Glass Transition Temperatures Determined using a Temperature-Cycling Differential Scanning Calorimeter." *Journal of Food Science* 61(4): 807-810.
- Berjak P., Pammenter N. W. y Vertucci C. (1992). "Homohydrous (recalcitrant) seeds. Developmental status, desiccation sensibility and the state of water in axes of *Landolphia kirkii* Dyer." *Planta* 186: 249-261.
- Bhandari B. R. y Roos Y. H. (2003). "Dissolution of sucrose crystals in the anhydrous sorbitol melt." *Carbohydrate Research* 338(4): 361-367.
- Biliaderis C. G., Page C. M., Maurice T. J. y Juliano B. O. (1986). "Thermal characterization of rice starches: a polymeric approach to phase transitions of granular starch." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34(1): 6-14.
- Birlouez-Aragon I., Locquet N., Louvent E., Jouan-Rimbaud Bouveresse D. y Stahl P. (2005). "Evaluation of the maillard reaction in infant formulas by means of front-face fluorescence." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1043 (The Maillard Reaction: Chemistry at the Interface of Nutrition, Aging, and Disease): 308-318.

- 
- Bizot H., Le Bail P., Leroux B., Davy J., Roger P. y Buleon A. (1997). "Calorimetric evaluation of the glass transition in hydrated, linear and branched polyanhydroglucose compounds." *Carbohydrate Polymers* 32(1): 33.
- Borenstein B., Caldwell E. F., Gordon H. T., Johnson L. A. y Labuza T. P. (1990). Fortification and preservation of cereals. *Breakfast cereals and how they are made*. R. B. Fast y E. F. Caldwell. St. Paul, American Association of Cereal Chemists: 188-199.
- Bourne M. (1982). *Food Texture and Viscosity*. New York, Academic Press.
- Bourne M. C. (1976). Interpretation of force curves from instrumental texture measurements. En: *Rheology and Texture in Food Quality*. J. M. Deman, P. W. Voisey, V. F. Rasper y D. W. Stanley, A V I Publishing Company.
- Bourne M. C. (1979). "Rupture tests vs. Small strain tests in predicting consumer response to texture." *Food Technology* 33(10): 67-70.
- Brandt M. A., Skinner L. Z. y Coleman J. A. (1963). "Texture profile method." *Journal of Food Science* 28: 404-409.
- Bredie W. L. P., Mottram D. S. y Guy R. C. E. (1998). "Aroma volatiles generated during extrusion cooking of maize flour." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (4): 1479-1487.
- Bressani R. y Mertz E. T. (1958). "Studies on corn protein. IV. Protein and amino acid content of different com varieties." *Cereal Chemistry* 35: 227-235.
- Briones V. y Aguilera J. M. (2005). "Image analysis of changes in surface color of chocolate." *Food Research International* 38(1): 87-94.
- Brunauer S., Deming L. S., Deming W. E. y Teller E. (1940). "On a theory of the van der waals adsorption of gases." *Journal of the American Chemical Society* 62(7): 1723.
- Brunauer S., Emmett P. H. y Teller E. (1938). "Adsorption of gases in multimolecular layers." *Journal of the American Chemical Society* 60(2): 309.
- Buera M. D. P. y Karel M. (1995). "Effect of physical changes on the rates of nonenzymic browning and related reactions." *Food Chemistry* 52(2): 167-173.
- Buera M. D. P. y Resnik S. (1990). "Colorimetric measurements in a turbid medium: hydrolyzed concentrated cheese whey." *Die Farbe*(35): 268-272.
- Buera M. D. P., Chirife J., Resnik S. y Lozano R. D. (1987). "Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: kinetics of color changes due to caramelization of various single sugars." *Journal of Food Science* 52(4): 1059-1062.
- Buera M. D. P., Farroni A. E. y Dalla Rosa M. (2010). Early markers for chemical reactions affecting food stability. *Food Processing*. K. Kristbergsson y S. Otlés, ISEKI-Food Association. En prensa.
- Buera M. D. P., Hough G., Martínez E. y Resnik S. (1991). Colorimetric, spectrophotometric and sensory color measurements of dulce de leche. *Anales de la Asociación de Química Argentina*.
- Buera M. d. P., Petriella C. y Lozano R. D. (1985). "Definition of colour in the non-enzymatic browning." *Die Farbe* 33: 316-326.
- Burton H. S., McWeeny D. J., Pandhi P. N. y Biltcliffe D. O. (1962). "Fluorescent compounds and non-enzymatic browning." *Nature* 196(4858): 948-950.
- Caivano J. L. (1991). "Cesía: A system of visual signs complementing color." *Color Research & Application* 16(4): 258-268.
- Caivano J. L. (1995). "Sistemas de color." *Serie de difusión N° 12*. Facultad de Arquitectura y Diseño. Buenos Aires, Universidad de Buenos Aires.

- 
- Caldwell E. F., Fast R. B. y Faubion J. M. (2000). The cereal grains. *Breakfast cereals and how they are made*. R. B. Fast y E. F. Caldwell. St. Paul, Minesota, American Association of Cereal Chemists: 1-16.
- Cardona S., Schebor C., Buera M. d. P. y Chirife J. (1997). "Thermal stability of invertase in reduced-moisture amorphous matrices in relation to glassy state and role of trehalose crystallization." *Journal of Food Science* 62: 105-112.
- Carr H. Y. y Purcell E. M. (1954). "Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments." *Physical Review* 94(3): 630-638.
- Castro-Prada E. M., Primo-Martín C., Meinders M. B. J., Hamer R. J. y Van Vliet T. (2009). "Relationship between water activity, deformation speed, and crispness characterization." *Journal of Texture Studies* 40(2): 127-156.
- Chan R. K., Pathmanathan K. y Johari G. P. (1986). "Dielectric relaxations in the liquid and glassy states of glucose and its water mixtures." *The Journal of Physical Chemistry* 90(23): 6358-6362.
- Chang Y. P., Cheah P. B. y Seow C. C. (2000). "Plasticizing-antiplasticizing effects of water on physical properties of tapioca starch films in the glassy state." *Journal of Food Science* 65(3): 445-451.
- Charissou A., Ait-Ameur L. y Birlouez-Aragon I. (2007a). "Evaluation of a gas chromatography/mass spectrometry method for the quantification of carboxymethyllysine in food samples." *Journal of Chromatography A* 1140(1-2): 189-194.
- Charissou A., Ait-Ameur L. y Birlouez-Aragon I. (2007b). "Kinetics of formation of three indicators of the Maillard reaction in model cookies: Influence of baking temperature and type of sugar." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(11): 4532-4539.
- Chaunier L., Della Valle G. y Lourdin D. (2007). "Relationships between texture, mechanical properties and structure of cornflakes." *Food Research International* 40(4): 493.
- Chauvin M. A., Younce F., Ross C. y Swanson B. (2008). "Standard scales for crispness, crackliness and crunchiness in dry and wet foods: Relationship with acoustical determinations." *Journal of Texture Studies* 39(4): 345-368.
- Chen T., Fowler A. y Toner M. (2000). "Literature review: Supplemented phase diagram of the trehalose-water binary mixture." *Cryobiology* 40(3): 277.
- Chinachoti P. y Vittadini E. (2006). Water stress of bacteria and molds from NMR water mobility stand points. En: *Water Properties of Food, Pharmaceutical, and Biological Materials*. M. D. P. Buera, J. Welti-Chanes, P. J. Lillford y H. Corti. Boca Raton, CRC Press.
- Chio K. S. y Tappel A. L. (1969). "Synthesis and characterization of the fluorescent products derived from malonaldehyde and amino acids." *Biochemistry* 8(7): 2821.
- CIE (1993). "Comision Internationale de l'Éclariage". *CIE Symposium of Advanced Colorimetry*, Viena.
- CIE (1995). Industrial colour-difference evaluation. Technical Report. Viena, Central Bureau of the CIE: Pub. N° 116.
- CIE (2001). Improvement to Industrial colour-difference evaluation. Technical Report. Viena, Central Bureau of the CIE: Pub No 142.
- Cirilo A. (2007). "El manejo del cultivo y la calidad comercial de maíz colorado duro." *Actualización Técnica. Maíz, Girasol y Sorgo*. Serie Extensión n° 44. Paraná, EEA Paraná, INTA: 17-23.
- Civille G. V. y Szczesniak A. S. (1973). "Guidelines to training a texture profile panel." *Journal of Texture Studies* 4(2): 204-223.

- Colquhoun I. y Goodfellow B. (1994). Nuclear magnetic resonance spectroscopy. En: *Spectroscopic Techniques for Food Analysis*. W. Reingald. New York, VCH Publishers Inc: 87-145.
- Condon J. B. (2006). *Surface Area and Porosity Determinations by Physisorption*. Elsevier, Amsterdam. 274 pag.
- Corradini M. G. y Peleg M. (2008). Solid food foams. En: *Food Material Science, Principles and Practice*. J. M. Aguilera y P. J. Lillford. New York, Springer: 169-202.
- Couchman P. R. y Karasz F. E. (1978). "A classical thermodynamic discussion of the effect of composition on glass transition temperatures." *Macromolecules* 11: 117-119.
- Culbertson J. D. (2004). Grain, cereal: ready to eat breakfast cereals. En: *Food processing: principles and applications*. S. J. Smith y Y. H. Hui. Oxford, Blackwell.
- Cuq B. y Icard-Vernière C. (2001). "Characterization of glass transition of durum wheat semolina using modulated differential scanning calorimetry." *Journal of Cereal Science* 33(2): 213.
- Cuq B., Abecassis J. y Guilbert S. (2003). "State diagrams to help describe wheat bread processing." *International Journal of Food Science & Technology* 38(7): 759-766.
- Davey K. R. (1989). "A predictive model for combined temperature and water activity on microbial growth during the growth phase." *Journal of Applied Microbiology* 67(5): 483.
- Debenedetti P. G. (1996). *Metastable Liquids. Concepts and Principles*, Princeton University Press.
- Delgado-Andrade C., Rufián-Henares J., A. y Morales F. J. (2006). "Study on fluorescence of Maillard reaction compounds in breakfast cereals." *Molecular Nutrition & Food Research* 50(9): 799-804.
- Delgado-Andrade C., Rufián-Henares J., A. y Morales F. J. (2008). "Optimized procedure to analyse Maillard reaction-associated fluorescence in cereal-based products." *Czech Journal of Food Science* 26(5): 339-346.
- Doane W. (1989). "New industrial uses of corn". *42<sup>nd</sup> Annual Corn and Sorghum Research Conference*.
- Dove W. E. (1946). "Developing food acceptance research." *Science* 103: 187.
- Dove W. E. (1947). "Food acceptability: its determination and evaluation." *Food Technology* 1: 39.
- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A. y Smith F. (1956). "Colorimetric method for determination of sugars and related substances." *Analytical Chemistry* 28(3): 350-356.
- Dunlap F., White P. y Pollak L. M. (1995). "Fatty acid composition of oil from exotic corn breeding materials." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 72(9): 989-993.
- Dunn J. A., Ahmed M. U., Murtiashaw M. H., Richardson J. M., Walla M. D., Thorpe S. R. y Baynes J. W. (1990). "Reaction of ascorbate with lysine and protein under autoxidizing conditions: formation of N epsilon-(carboxymethyl) lysine by reaction between lysine and products of autoxidation of ascorbate." *Biochemistry* 29(49): 10964.
- Echevarria R. (2003). *Fractura de materiales*, Universidad Nacional del Comahue.
- Eichner K. (1981). "Antioxidative effect of maillard reaction intermediates." *Progress in food science and nutrition* 5: 441-451.
- Ellis G. (1959). "The Maillard reaction." En: *Advances in carbohydrate chemistry*. M. L. Wolfrom. New York, Academic Press: 63-134.
- Ericksson C. E. (1987). "Oxidation of lipids in food systems." En: *Autoxidation of unsaturated lipids*. H. W. S. Chan. London, Academic Press: 207-231.

- Eyhérabide G.H., Lorea R.D., Delucchi C., López C.G., Ferrer M.E., Presello D.A. y Defacio R.A. (2005). Evaluación del potencial de variedades nativas de maíz como recurso para el mejoramiento de un cruzamiento entre líneas duras coloradas. En: *VIII Congreso Nacional de Maíz*. 16 – 18 de noviembre. Rosario, Santa Fe (AR). P. 354-357.
- Eyherabide G. H. (2004a). "Incorporación de germoplasma indígena de maíz en materiales elite." *IDIA XXI*: 6: 105-110.
- Eyherabide G. H. (2004b). "Aportes Tecnológicos del INTA al Cultivo de Maíz." *IDIA XXI*: 6: 105-110.
- Eyherabide G. H., Robutti J. L., Percibaldi M., Presello D. A. y Alvarez M. D. P. (2004). "Association between grain yield and endosperm hardness in maize cultivars." *Maydica*: 319-326.
- Eyherabide G. H., Robutti J. L., Puig R. C. y Luqui B. (1996). "Caracterización de la calidad física de híbridos comerciales de maíz." *INTA Pergamino, Informe Técnico N° 313*: 16.
- FAO (1992). *Maize in human nutrition*. Roma, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fast R. B. (1999). "Origins of the U. S. breakfast cereal industry." *Cereals Foods World* 44(6): 394-397.
- Fast R. B. (2000). Manufacturing technology of ready-to-eat cereals. En: *Breakfast Cereals and How They are Made*. R. B. Fast y E. F. Caldwell. St. Paul, Minesota, U.S.A., American Association of Cereal Chemist. 1: 17-54.
- Felker F. C. y Paulis J. W. (1993). "Quantitative estimation of corn endosperm vitreosity by video image analysis." *Cereal Chemistry* 70(6): 685-689.
- Fennema O. (1996). *Food Chemistry*. New York, Marcel Dekker: 1144.
- Ferrer E., Alegría A. y Farre R. (2000). "Advanced glycosilation end products (AGEs) and colour in milk and milk resembling systems. A review." *Recent Research Developments in Agricultural & Food Chemistry* 4: 269-290.
- Ferrer, M. (2007) "Importancia de las variedades primitivas y razas locales de maíz." *Diario La Nación, Suplemento Maíz: Tecnología/Producción/Mercado*. 28 de junio de 2007.
- Fizman S. y Durán L. (1997). Reología de sólidos y textura. En: *Temas en tecnología de alimentos*. J. M. Aguilera. México D.F., Instituto Politécnico Nacional, Dirección de Publicaciones y Material Educativo: 229.
- Fontanet I., Davidou S., Dacremont C. y Le Meste M. (1997). "Effect of water on the mechanical behaviour of extruded flat bread." *Journal of Cereal Science* 25(3): 303-311.
- Ford R. H. (2000) Inheritance of kernel color in corn: Explanations & investigations. *The American Biology Teacher*, volume 62, no. 3, march 2000 181-188.
- Francis F. J. y Clydesdale F. M. (1975). *Food colorimetry: theory and applications*. Westport, Connecticut, Avi Publishing Company Inc.
- Franks, F., (1994). Long term stabilization of biologicals. *Biotechnology N. Y.*, 12, 253-256.
- Friedman M. (1996). "Food browning and its prevention." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 631-653.
- Fullerton G. D. y Cameron I. L. (1988). Relaxation of biological tissues. En: *Biomedical Magnetic Resonance Imaging Principles, Methodology, and Application*. F. W. Wehrli y J. B. Kneeland. New York, VCH Publishers Inc.: 115-155.

- Furmaniak S., Terzyk A. P., Golembiewski R., Gauden P. A. y Czepirski L. (2009). "Searching the most optimal model of water sorption on foodstuffs in the whole range of relative humidity." *Food Research International* 42(8): 1203-1214.
- Garcia Freitas K. H. y Fatibello-Filho O. (2010). "Simultaneous determination of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) in food samples using a carbon composite electrode modified with  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$  immobilized in polyester resin." *Talanta* 81(3): 1102-1108.
- Gardner H. W. (1979). "Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids: a review." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 27(2): 220-229.
- Gaurav S., Wencheng W. y Edul N. D. (2005). "The CIEDE2000 color-difference formula: Implementation notes, supplementary test data, and mathematical observations." *Color Research & Application* 30(1): 21-30.
- Gear J.R. (2006). "El cultivo de maíz en la Argentina". Maíz y nutrición. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal. *Revista Maizar* 2: 4-8.
- Gervats P., Molin P., Grajek W. y Bensoussan M. (1988). "Influence of the water activity of a solid substrate on the growth rate and sporogenesis of filamentous fungi." *Biotechnology and Bioengineering* 31(5): 457-463.
- Gharsallaoui A., Rogé B. y Mathlouthi M. (2008). "Water–disaccharides interactions in saturated solution and the crystallisation conditions." *Food Chemistry* 106: 1329–1339.
- Goff H. D. (1996). "The use of thermal analysis in the development of a better understanding of frozen food stability." *Pure and Applied Chemistry* 67: 1801-1808.
- Gondek E. y Lewicki P. P. (2006). "Antiplasticization of cereal-based products by water. Part II: Breakfast cereals." *Journal of Food Engineering* 77(3): 644.
- González R. y Woods R. (1992). *Digital imaging processing*. Boston, Addison-Wesley Longman Publishing.
- Goodridge C. F., Beaudry R. M., Pestka J. J. y Smith D. M. (2003). "Solid phase microextraction-gas chromatography for quantifying headspace hexanal above freeze-dried chicken myofibrils." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (15): 4185-4190.
- Gordon M. y Taylor J. S. (1952). "Ideal copolymers and the 2<sup>nd</sup>-order transitions of synthetic rubbers. I. Non-crystalline copolymers." *Journal Of Applied Chemistry* 2 2: 493-500.
- Grassmann H. G. (1954). "On the theory of compound colors." *Philosophical Magazine S.4* 7(45): 254-264.
- Green-Armytage P. (1992). "Colour and other aspects of appearance." *Spectrum* 6(3): 1-11.
- Greenspan L. (1977). "Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions." *Journal of Research of the National Bureau of Standards. Section A. Physics and Chemistry* 81: 89-95.
- Greenwood C. T. (1984). "Starches", En *Advances in Cereal Science and Technology*. Vol VI. American Association of Cereal Chemists.
- Gregg S. J. y Sing K. S. W. (1982). *Adsorption, surface area, and porosity*. London, Academic Press.
- Gregory J. F. (2008). *Vitamin En: Food Chemistry*. S. Damodaran, K. L. Parkin y O. Fennema. New York, CRC Press. 439-521.
- Hahn E. L. (1950). "Spin echoes." *Physical Review* 80(4): 580-594.
- Halek G. W., Paik S. y Chang K. (1989). "The effect of moisture content on mechanical properties and texture profile parameters of corn meal extrudates." *Journal of Texture Studies* 20(1): 43-56.

- Hancock B. C., Shamblin S. L. y Zografi G. (1995). "Molecular mobility of amorphous pharmaceutical solids below their glass transition temperatures." *Pharmaceutical Research* 12: 799-806.
- Harris M. y Peleg M. (1996). "Patterns of textural changes in brittle cellular cereal foods caused by moisture sorption." *Cereal Chemistry* 73(2): 225.
- Hellman N. N. y Melvin E. H. (1950). "Surface area of starch and its role in water sorption." *Journal of the American Chemical Society* 72(11): 5186-5188.
- Henry Z. A., Zhang H. y Onks D. O. (2000). "New model for elastic behaviour of cellular material." *Journal of Agricultural and Engineering Research* 76(4): 399.
- Herman E. M. y Larkins B. A. (1999). "Protein storage bodies and vacuoles." *Plant Cell* 11(4): 601-614.
- Hewedy M. M., Kiesner C., Meissner K., Hartkopf J. y Erbersdobler H. F. (1994). "Effects of UHT heating of milk in an experimental plant on several indicators of heat treatment." *Journal of Dairy Research* 61(02): 305-309.
- Hicsasmaz Z. y Rizvi S. S. H. (2005). "Effect of size and shape on modulus of deformability." *LWT - Food Science and Technology* 38(4): 431-435.
- Hidalgo F. J. y Zamora R. (2000). "Modification of bovine serum albumin structure following reaction with 4,5 (E)-epoxy-2 (E)-heptenal." *Chemical Research in Toxicology* 13(6): 501-508.
- Hidalgo F. J., Nogales F. y Zamora R. (2005). "Nonenzymatic browning, fluorescence development, and formation of pyrrole derivatives in phosphatidylethanolamine/ ribose/lysine model systems." *Journal of Food Science* 70(6): c387-c391.
- Hizukuri S., Takeda J., Abe I., Hanashiro G., Matsunobu G. y Kiyota H. (1997). Analytical developments: molecular and microstructural characterization. *Starch: Structure and Functionality*. P. J. Frazier, A. M. Donald y P. Richmond. London, The Royal Society of Chemistry: 121-128.
- Hlebowicz J., Wickenberg J., Fahlstrom R., Bjorgell O., Almer L. O. y Darwiche G. (2007). "Effect of commercial breakfast fibre cereals compared with corn flakes on postprandial blood glucose, gastric emptying and satiety in healthy subjects: a randomized blinded crossover trial." *Nutrition Journal* 6(1): 22.
- Hodge, J., & Osman, E. (1976). Carbohydrates. En: Principles of Food Science. Part I. En: *Food Chemistry*. O. Fennema, New York, Marcel Dekker. 41-138.
- Hough G., Contarini A. y Muñoz A. (1994). "Training a texture profile panel and constructing standard rating scales in Argentina." *Journal of Texture Studies* 25(1): 45-57.
- Hough G., Martínez E., Contarini A., Barbieri T. y Vega M. J. (1995). "Selection of assessors based on their skill in identifying basic tastes in low concentration solutions." *Journal of Sensory Studies* 10: 1-14.
- Hough J. S. (1990). *Bioteología de la cerveza y de la malta*. Zaragoza, Acribia.
- Hourquescos M. J., Eyherabide G. H., Robutti J. L., Percibaldi M. y Borrás F. S. (1999). "Características de interés industrial en híbridos simples de maíz." *INTA Pergamino, Informe Técnico N° 320*.
- Hunter R. S. (1975). *The measurement of appearance*. Nueva York, John Wiley.
- Hutchings J., Luo R. y Ji W. (2002). Calibrated colour imaging analysis of food. En: *Colour in Food*. D. B. Macdougall. Boca Raton, CRC Press LLC.
- İbanoglu E. (2002). "Kinetic study on colour changes in wheat germ due to heat." *Journal of Food Engineering* 51(3): 209.

- Iglesias J., Lois S. y Medina I. (2007). "Development of a solid-phase microextraction method for determination of volatile oxidation compounds in fish oil emulsions." *Journal of Chromatography A*, 1163 (1-2): 277-287.
- Ilo S. y Berghofer E. (1999). "Kinetics of colour changes during extrusion cooking of maize grits." *Journal of Food Engineering* 39(1): 73-80.
- Inoue C. y Suzuki T. (2006). "Enthalpy relaxation of freeze concentrated sucrose–water glass." *Cryobiology* 53: 83-89.
- IRAM 200013 (2001). Análisis sensorial. Metodología. Perfil de textura, Instituto Argentino de Normalización.
- IRAM 20005-1 (1996). Análisis sensorial. Guía general para la selección y seguimiento de los evaluadores. Parte 1. Evaluadores seleccionados, Instituto de Normalización de Materiales. 20005-1.
- IRAM 20005-2 (1996). Análisis sensorial. Guía general para la selección y seguimiento de los evaluadores. Parte 2. Expertos, Instituto de Normalización de Materiales. 20005-2.
- Jellinek G. (1985). *Sensory Evaluation of Food - Theory and Practice*. Chichester, England, Ellis Horwood, Ltd.
- Jouppila K. (1999). Crystallization of amorphous carbohydrates: studies on lactose and starch. Helsinki, Finlandia. Doctor.
- Jouppila K. y Roos Y. (1997). "The physical state of amorphous corn starch and its impact on crystallization." *Carbohydrate Polymers* 32(2): 95..
- Juszczak L., Fortuna T. y Wodnicka K. (2002). "Characteristics of cereal starch granules surface using nitrogen adsorption." *Journal of Food Engineering* 54(2): 103-110.
- Kalichevsky M. T., Jaroszkiewicz E. M., Ablett S., Blanshard J. M. V. y Lillford P. J. (1992). "The glass transition of amylopectin measured by DSC, DMTA and NMR." *Carbohydrate Polymers* 18(2): 77.
- Karel M. (1975). Physico-chemical modification of the state of water in foods- a speculative survey. En: *Water Relations of Foods*. R. Duckworth. New York, Academic press: 639-675.
- Karmas R., Buera M. d. P. y Karel M. (1992). "Effect of glass transition on rates of non-enzymatic browning in food systems." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 873–879.
- Katkov I. I. y Levine F. (2004). "Prediction of the glass transition temperature of water solutions: comparison of different models." *Cryobiology* 49(1): 62.
- Kato Y., Matsuda T., Kato N., Watanabe K. y Nakamura R. (1986). "Browning and insolubilization of ovalbumin by the Maillard reaction with some aldohexoses." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34(2): 351-355.
- Kawai K., Hagiwara T., Takai R. y Suzuki T. (2005). "Comparative investigation by two analytical approaches of enthalpy relaxation for glassy glucose, sucrose, maltose, and trehalose." *Pharmaceutical Research* 22(3): 490-495.
- Kim Y. J., Hagiwara T., Kawai K., Suzuki T. y Takai R. (2003). "Kinetic process of enthalpy relaxation of glassy starch and effect of physical aging upon its water vapour permeability property." *Carbohydrate Polymers* 53(3): 289-296.
- Knutson C. A. (1986). "A simplified colorimetric procedure for determination of amylose in maize starches." *Cereal Chemistry* 63(2): 89-92.
- Knutson C. A. (1990). "Annealing of maize starches at elevated temperatures." *Cereal Chemistry* 67(4): 376-384.

- Kou Y., Dickinson L. C. y Chinachoti P. (2000). "Mobility characterization of waxy corn starch using wide-line  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(11): 5489-5495.
- Kroh L. W. (1994). "Caramelisation in food and beverages." *Food Chemistry* 51(4): 373-379.
- Krueger B. R., Walker C. A., Knutson C. A. y Inglett G. E. (1987). "Differential scanning calorimetry of raw and annealed starch isolated from normal and mutant maize genotypes." *Cereal Chemistry* 64(3): 187-190.
- Kubelka P. y Munk F. (1931). "Ein beitrage zur optik der farbanstriche." *Z. Techn. Physik* 12: 591-601.
- Kuhn H. y Medlin D. (2000). "ASM Handbook Volume 08: Mechanical Testing and Evaluation" ASM Internacional. 998 pag.
- Labuza T. P. (1994). Interpreting the complexity of the kinetics of the Maillard reaction. *Maillard reactions in chemistry, food and health*. Cambridge, The Royal Society of Chemistry: 176-181.
- Labuza T. P., Mc Nally L., Gallagher D., Hawkes J. y Hurtado F. (1972). "Stability of intermediate moisture foods. I. Lipid oxidation." *Journal of Food Science* 37(1): 154-159.
- Labuza T. y Baisier W. M. (1992). The kinetics of nonenzymatic browning. En: *Physical chemistry of foods*. H. Schwartzber. Marcel Dekker, New York: 595-649.
- Landry J., Delhaye S. y Damerval C. (2004). "Protein distribution pattern in floury and vitreous endosperm of maize grain." *Cereal Chemistry* 81(2): 153-158.
- Lawless H. T. y Heymann H. (1998). Color and appearance. En: *Sensory evaluation of food: principles and practices*. New York, Chapman & Hall: 406-429.
- Lawless H. T. y Heymann H. (2010). *Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices*, Springer.
- Lechuga, D. (2010). "The rol of water in the formation and stability of micro - particulate pharmaceutical products." 11<sup>th</sup> International Symposium on the Properties of Water (ISOPOW XI), Querétaro, México, Instituto Politécnico Nacional.
- Leclère J. y Birlouez-Aragon I. (2001). "The fluorescence of advanced Maillard products is a good indicator of lysine damage during the maillard reaction." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(10): 4682-4687.
- Lenihan E., Pollak L. M. y White P. J. (2005). "Thermal properties of starch from exotic-by-adapted corn (zea mays L.) Lines Grown in Four Environments." *Cereal Chemistry* 82(6): 683-689.
- León K., Mery D., Pedreschi F. y León J. (2006). "Color measurement in  $L^* a^* b^*$  units from RGB digital images." *Food Research International* 39: 1084-1091.
- Levine H. y Slade L. (1986). "Polymer physico-chemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products." *Carbohydrate Polymers* 6: 213-244.
- Lewicki P. P. (2004). "Water as the determinant of food engineering properties. A review." *Journal of Food Engineering* 61(4): 483-495.
- Lezcano, E. (2008) "Cadenas Alimentarias. Maíz y productos derivados". Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, Dirección Nacional de Alimentos
- Lii C. Y. y Lineback D. R. (1977). "Characterization and comparison of cereal starches." *Cereal Chemistry* 54: 138 – 149
- Lim S. T., Chang E. H. y Chung H. J. (2001). "Thermal transition characteristics of heat-moisture treated corn and potato starches." *Carbohydrate Polymers* 46(2): 107-115.
- Lin A. A., Kwei T. K. y Reiser A. (2002). "On the physical meaning of the Kwei equation for the glass transition temperature of polymer blends." *Macromolecules* 22(10): 4112.

- Lin X., Ruan R. R., Chen P. L., Chung M., Ye X., Yang T., Doona C. y Wagner T. (2006). "NMR State diagram concept." *Journal of Food Science* 71(9): R136-R145.
- Lindsay R. C. (1993). Flavor. En: *Química de los alimentos*. O. R. Fennema. Zaragoza, Acribia S. A.: 659-707.
- Little A. C. (1964). "Color measurement of translucent food samples." *Journal of Food Science* 29(6): 782-789.
- Little A. C. y Brinner L. (1981). "Optical properties of instant tea and coffee solutions." *Journal of Food Science* 46: 519-525.
- Lomauro C. J., Bakshi A. S. y Labuza T. P. (1985). "Evaluation of food moisture sorption isotherm equations part I: Fruit, vegetable and meat products." *LWT - Food Science and Technology* 18(2): 111.
- López M. A. y Larkins B. A. (1993). "Endosperm origin, development, and function." *The Plant Cell* 5: 1383-1399.
- Lozano R. D. (1978). *El color y su medición*. Buenos Aires, Américalee.
- Lu R. y Abbott J. A. (2004). Force/deformation techniques for measuring texture. En: *Texture in Food: Solids Food*. D. Kilcast. Cambridge, Woodhead Publishing. 2: 109.
- Luo M. R., Cui G. y Rigg B. (2001). "The development of the CIE 2000 colour-difference formula: CIEDE2000." *Color Research & Application* 26(5): 340-350.
- Luyten H., Plijter J. J. y Van Vliet T. (2004). "Crispy/crunchy crusts of cellular solid foods: A literature review with discussion." *Journal of Texture Studies* 35(5): 445-492.
- Mackinney G., Little A. C. y Brinner L. (1966). "Visual appearance of foods." *Food Technology* 20: 60-68.
- Maga, J. A. (1978). "Cereal volatiles. A review." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26(1): 175-178.
- Maillard L. C. (1912). "Action des acides amines sur les sucres: formation des melanoidines par voie methodologique." *Comp. Rend. Acad. Sci.* 156: 148-149.
- Maroder L. H. (2008). Reacciones de deterioro de semillas de sauce: aspectos fisiológicos, químicos y ultraestructurales. Departamento de Industrias. Buenos Aires, Universidad de Buenos Aires. Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el Ares Industrias: 124.
- Martínez-Navarrete N., Moraga G., Talens P. y Chiralt A. (2004). "Water sorption and the plasticization effect in wafers." *International Journal of Food Science & Technology* 39(5): 555-562.
- Marzec A. y Lewicki P. P. (2006). "Anti-plasticization of cereal-based products by water. Part I. Extruded flat bread." *Journal of Food Engineering* 73(1): 1-8.
- Mathlouthi M. y Rogé B. (2003). "Water vapour sorption isotherms and the caking of food powders." *Food Chemistry* 82(1): 61.
- Matiacevich S. B. (2008). Caracterización y fotoestabilidad de compuestos fluorescentes y pardos generados en reacciones enzimáticas y no enzimáticas. Implicancias en la conservación de materiales orgánicos. Director: M. D. P. Buera. Universidad de Buenos Aires. Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Industrias. 215 páginas.
- Matiacevich S. B. y Buera M. d. P. (2006). "A critical evaluation of fluorescence as a potential marker for the Maillard reaction." *Food Chemistry* 95(3): 423-430.

- Matiacevich S. B., Santagapita P. y Buera M. d. P. (2005). "Fluorescence from the Maillard reaction and its potential applications in food science." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45: 483-495.
- Mazumder P., Roopa B. S. y Bhattacharya S. (2007). "Textural attributes of a model snack food at different moisture contents." *Journal of Food Engineering* 79(2): 511-516.
- Meilgaard M. C., Strauss S., Carr B. T. y Civille G. V. (1999). *Sensory Evaluation Techniques*. Boca Raton, Florida, USA, CRC Press LLC.
- Mendoza F., Dejmek P. y Aguilera J. M. (2006). "Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis." *Postharvest Biology and Technology* 41(3): 285-295.
- Mestres C. y Matencio F. (1996). "Biochemical basis of kernel milling characteristics and endosperm vitreousness of maize." *Journal of Cereal Science* 24(3): 283-290.
- Miller B. D. F. y Gillespy R. A. (2000). Unit operations and equipment II. Drying and dryers. *Breakfast Cereals and How They are Made*. R. B. Fast y E. F. Caldwell. St. Paul, Minesota, U.S.A., American Association of Cereal Chemist. 1: 133.
- Mohsenin N. N. y Mittal J. P. (1977). "Use of rheological terms and correlation of compatible measurements in food texture research." *Journal of Texture Studies* 8(4): 395-408.
- Momany F. A., Sessa D. J., Lawton J. W., Selling G. W., Hamaker S. A. H. y Willett J. L. (2005). "Structural characterization of  $\alpha$ -zein." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(2): 543-547.
- Moore D. y McCabe G. (1993). *Introduction to the Practice of Statistics*. New York, W.H. Freeman and Company.
- Moros E. E., Darnoko D., Cheryan M., Perkins E. G. y Jerrell J. (2002). "Analysis of xanthophylls in corn by HPLC." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(21): 5787-5790.
- Morrison W. R. (1995). "Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality." *Cereals Foods World* 40(6): 347-446.
- Morrison W. R., Tester R. F., Sanpe C., E., Law R. y Gidley M. J. (1993). "Swelling and gelatinization of cereal starches. IV. Some effects of lipid-complexed amylose and free amylose in waxy and normal starches." *Cereal Chemistry* 70(4): 385-391.
- Nawar W. W. (1993). "Lípidos." En: *Química de los alimentos*. O. R. Fennema. Zaragoza, Acribia S. A. 157-273.
- Nelson Katherine A. y Labuza T. P. (1992). Relationship between water and lipid oxidation rates. En: *Lipid Oxidation in Food*, American Chemical Society. 500: 93-103.
- Noel T. R., Ring S. G. y Whittam M. A. (1992). "Dielectric relaxations of small carbohydrate molecules in the liquid and glassy states." *The Journal of Physical Chemistry* 96(13): 5662-5667.
- Nursten H. E. (2005). The Chemistry of non enzymatic browning. *Maillard Reaction. Chemistry, Biochemistry and Implications*. London, Royal Society of Chemistry.
- Nussinovitch A. (2005). "Production, properties and applications of hydrocolloid cellular solids." *Molecular Nutrition & Food Research* 49: 195-213.
- Osborne T. B. (1897). "the amount and properties of the proteins of the maize kernel.2." *Journal of the American Chemical Society* 19(7): 525-532.
- Osella C. A. (2002). Pan sin gluten: Influencia de la composición y de la historia térmica de los constituyentes sobre sus propiedades termofísicas. Director: M. D. P. Buera. Universidad Nacional del Litoral. *Magister en ciencia y tecnología de los alimentos*. 100 páginas.

- Overby L. y Frost D. (1951). "The effects of heat on the nutritive value of protein hydrolysates with dextrose." *The Journal of Nutrition* 56: 539-547.
- Padovani R. M., Lima D. M., Colugnati F. A. B. y Rodríguez-Amaya D. B. (2007). "Comparison of proximate, mineral and vitamin composition of common Brazilian and US foods." *Journal of Food Composition and Analysis* 20(8): 733-738.
- Padua G. W. y Schmidt S. J. (1992). "Proton nuclear magnetic resonance measurements on various sugar solutions." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 1524-1527.
- Pal S., Bandyopadhyay S., Balasubramanian S. y Bagchi B. (2004). Dynamics of water at surface of complex systems: Study of aqueous micelles and proteins. En: *Femtochemistry and Femtobiology*. M. M. Martin y J. T. Hynes. Elsevier, Amsterdam: 213-220.
- Palou E., López-Malo A. y Argaiz A. (1997). "Effect of temperature on the moisture sorption isotherms of some cookies and corn snacks." *Journal of Food Engineering* 31(1): 85-93.
- Pangborn R. M. (1964). "Sensory evaluation of food: a look backward and forward." *Food Technology* 18: 1309.
- Partanen R., Marie V., Macnaughtan W., Forssell P. y Farhat I. (2004). "<sup>1</sup>H NMR study of amylose films plasticized by glycerol and water." *Carbohydrate Polymers* 56(2): 147-155.
- Pedreschi F., León J., Mery D. y Moyano P. (2006). "Development of a computer vision system to measure the color of potato chips." *Food Research International* 36: 1092-1098.
- Pedreschi F., León J., Mery D., Moyano P., Pedreschi R., Kaack K. y Granby K. (2007). "Color development and acrylamide content of pre-dried potato chips." *Journal of Food Engineering* 79(3): 786.
- Peleg M. (1998). Mechanical properties of dry brittle cereal products. En: *The Properties of Water in Foods*. E. Reid. London, CRC Press: 233-253.
- Peng G., Chen X., Wu W. y Jiang X. (2007). "Modeling of water sorption isotherm for corn starch." *Journal of Food Engineering* 80(2): 562-567.
- Peng Y. y Lu R. (2005). "Modeling multispectral scattering profiles for prediction of apple fruit firmness." *Transactions of the ASAE* 48(1): 235-242.
- Pereyra González A., Burin L. y Buera M. D. P. (1999). "Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color." *Food Research International* 32: 185-191.
- Petrie S. E. B. (1972). "Thermal behavior of annealed organic glasses." *Journal of Polymer Science* 10: 1255-1252.
- Pfenninger H. B. (1979). "Methods of quality control in brewing." *Schweizer Brauerei-Rundschau* 90: 121.
- Pittia P. y Sacchetti G. (2008). "Antiplasticization effect of water in amorphous foods. A review." *Food Chemistry* 106(4): 1417-1427.
- Pollak L. M. (2003). The history and success of the public-private project on germoplasm enhancement of maize (GEM). *Advances in Agronomy*, Academic Press. 78: 45-87.
- Pordesimo L. O., Anantheswaran R. C. y Mattern P. J. (1991). "Quantification of horny and floury endosperm in popcorn and their effects on popping performance in a microwave oven." *Journal of Cereal Science* 14(2): 189-198.
- Pouiller C. y Umaran M. I. (2010). "Cereales." *Revista Alimentos Argentinos*. 48.
- Purlis E. y Salvadori V. O. (2009). "Modelling the browning of bread during baking." *Food Research International* 42(7): 865.

- Qingming Y., Xianhui P., Weibao K., Hong Y., Yidan S., Li Z., Yanan Z., Yuling Y., Lan D. y Guoan L. (2010). "Antioxidant activities of malt extract from barley (*Hordeum vulgare* L.) toward various oxidative stress in vitro and in vivo." *Food Chemistry*, 118 (1): 84-89.
- Ramírez-Jiménez A., García-Villanova B. y Guerra-Hernández E. (2001). "Effect of toasting time on the browning of sliced bread." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81(5): 513-518.
- Ramírez-Jiménez A., Guerra-Hernández E. y García-Villanova B. (2000). "Browning indicators in bread." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(9): 4176.
- Rasper V. F. (1991). Quality evaluation of cereals and cereal products. En: *Handbook of cereal science and technology*. K. J. Lorenz y K. Kulp. New York, Marcel Dekker: 595-638.
- Reid D. S. y Fennema O. R. (2008). Water and ice. En: *Food Chemistry*. S. Damodaran, K. L. Parkin y O. R. Fennema. Boca Ratón, CRC Press: 18-77.
- Robutti J. L. (2004). Calidad y usos del maíz. *IDIA XXI*, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria: 100-104.
- Robutti J. L., Borrás F. S. y Colazo J. C. (1994). "Las zeínas de alto contenido de azufre y su relación con la textura endospermica del maíz." *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 25(2): 105-114.
- Robutti J. L., Borrás F. S. y Eyherabide G. H. (1997). "Zein composition and mechanically separated coarse end fine portions of maize kernels." *Cereal Chemistry* 74: 75-78.
- Robutti J. L., Borrás F. S., Di Martino A. y Eyherabide G. H. (2005). "Estudio de la composición de las zeínas y glutelinas en híbridos comerciales de maíz cultivados en diferentes ambientes. Su asociación con la dureza del grano." *VII Congreso Nacional del Maíz*, Rosario, Argentina.
- Robutti J. L., Borrás F. S., Ferrer M., Percibaldi M. y Knutson C. A. (2000). "Evaluation of quality factors in argentine maize races." *Cereal Chemistry* 77(1): 24-26.
- Robutti J. L., Borrás F. S., González R., Torres R. y De Greef D. (2002). "Endosperm properties and extrusion cooking behavior of maize cultivars." *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 35(8): 663-669.
- Rodríguez-Sandoval E., Fernández-Quintero A., Sandoval-Aldana A. y Cuvelier G. (2008). "Effect of processing conditions on the texture of reconstituted cassava dough." *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 25: 713-722.
- Roos Y. H. (1992). Reaction kinetics and thermodynamics in food systems; Part II, Phase transitions and transformations. *Handbook of Food Engineering*. D. Lund y D. Heldman. New York, Marcel Dekker.
- Roos Y. H. (1995a). "Characterization of food polymers using state diagrams." *Journal of Food Engineering* 24(3): 339-360.
- Roos Y. H. (1995b). The physical state of amorphous materials. En: *Phase Transitions in Foods*. J. S. Taylor. New York, Academic Press: 26-34 y 193.
- Roos Y. H. (1998). Role of water in phase – transition phenomena in foods. *Phase/State Transitions in Foods*. M. Rao y R. W. Hartel, Marcel Dekker.
- Roos Y. H. (2010). "Glass transition temperature and its relevance in food processing." *Annual Review of Food Science and Technology* 1(1): 469-496.
- Roos Y. H. y Himberg M. J. (1994). "Nonenzymic browning behavior, as related to glass transition, of a food model at chilling temperatures." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(4): 893-898.
- Roos Y. H. y Karel M. (1991a). "Amorphous state and delayed ice formation in sucrose solutions." *International Journal of Food Science and Technology* 26(6): 553-566.

- Roos Y. H. y Karel M. (1991b). "Applying state diagrams to food processing and development." *Food Technology* 45(12): 66, 68-71, 107.
- Roos Y. H. y Karel M. (1991c). "Phase transitions of mixtures of amorphous polysaccharides and sugars." *Biotechnology Progress* 7(1): 49.
- Roos Y. H. y Karel M. (1991d). "Plasticizing effect of water on thermal behavior and crystallization of amorphous food models." *Journal of Food Science* 34: 324-329.
- Roos Y. H. y Karel M. (1991e). "Water and molecular weight effects on glass transitions in amorphous carbohydrates and carbohydrate solutions." *Journal of Food Science* 56(6): 1676-1681.
- Roos Y. H., Jouppila K. y Zielasko B. (1996). "Non-enzymatic browning-induced water plasticization." *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 47(5): 1437.
- Roos Y. H., Karel M. y Kokini J. L. (1996). "Glass transitions in low moisture and frozen foods: effects on shelf life and quality." *Food Technology* 50(11): 95-108.
- Roos Y. H., Stefan K., Ian T. N. y Johan B. U. (2009). Mapping the different states of food components using state diagrams. *Modern Biopolymer Science*. San Diego, Academic Press: 261-276.
- Rosenthal A. J. (1999). *Food texture: measurement and peception*. Gaithersburg, Aspen Publishers Inc.
- Roudaut G., Dacremont C., Vallès Pàmies B., Colas B. y Le Meste M. (2002). "Crispness: a critical review on sensory and material science approaches." *Trends in Food Science & Technology* 13(6-7): 217-227.
- Rouquerol F., Rouquerol J. y Sing K. (1999). Introduction. En: *Adsorption by Powders and Porous Solids*. London, Academic Press: 1.
- Ruan R. R. y Chen P. L. (1998a). Mobility of water in food and biological materials. En: *Water in Foods and Biological Materials: A Nuclear Magnetic Resonance Aproach*. Lancaster, Pennsylvania, USA, Technomic Publishing AG: 149-228.
- Ruan R. R. y Chen P. L. (1998b). Nuclear magnetic resonance techniques. En: *Water in Foods and Biological Materials: A Nuclear Magnetic Resonance Aproach*. Lancaster, Pennsylvania, USA, Technomic Publishing AG: 17-24.
- Rufián-Henares J. A., Delgado-Andrade C. y Morales F. J. (2006). "Analysis of heat-damage indices in breakfast cereals: Influence of composition." *Journal of Cereal Science* 43(1): 63.
- Saarela J. M. S., Heikkinen S. M., Fabritius T. E. J., Haapala A. T. y Myllyla R. A. (2008). "Refractive index matching improves optical object detection in paper." *Measurement Science and Technology* 19: 1-8.
- Sablani S. S., Bruno L., Kasapis S. y Symaladevi R. M. (2009). "Thermal transitions of rice: Development of a state diagram." *Journal of Food Engineering* 90(1): 110.
- Samapundo S., Devlieghere F., Meulenaer B. D., Atukwase A., Lamboni Y. y Debevere J. M. (2007). "Sorption isotherms and isosteric heats of sorption of whole yellow dent corn." *Journal of Food Engineering* 79(1): 168-175.
- Sauvageot F. y Blond G. (1991). "Effect of water activity on crispness of breakfast cereals." *Journal of Texture Studies* 22(4): 423-442.
- Schiffman H. R. (1996). *Sensation and Perception. An Integrated Approach*. New York, John Wiley & Sons.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (1997) Resolución 757. Boletín Oficial de la República Argentina, 17 de octubre, 28754: 17.

- Seetharaman K., Tziotis A., Borrás F. S., White P. J., Ferrer M. y Robutti J. L. (2001). "Thermal and functional characterization of starch from Argentinean corn." *Cereal Chemistry* 78(4): 379-386.
- Serignese, A. D. y Pescio F. E. (1995). "Maíz duro colorado. Una alternativa interesante." *Serie Divulgación Nro. 1*. Dirección de Producción Agrícola. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. 35 p.
- Sherwing C. P. y Labuza Theodore P. (2006). Beyond water activity and glass transition: a broad perspective of the manner by which water can influence reaction rates in foods. En: *Water Properties of Food, Pharmaceutical, and Biological Materials*. M. D. P. Buera, J. Welti-Chanes, P. J. Lillford y H. Corti. Boca Raton, CRC Press.
- Shibukawa S., Sugiyama K. y Yano T. (1989). "Effects of heat transfer by radiation and convection on browning of cookies at baking." *Journal of Food Science* 54(3): 621-624.
- Shimada Y., Roos Y. H. y Karel M. (1991). "Oxidation of methyl-linoleate encapsulated in amorphous lactose based food model." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 39: 637-641.
- Shogren R. L., Swanson C. L. y Thompson A. R. (1992). "Extrudates of cornstarch with urea and glycols: Structure/mechanical property relations." *Starch - Stärke* 44(9): 335-338.
- Sikorski Z., Pokorny J. y Damodaran S. (2007). Physical and chemical interactions of components in food systems. *Food Chemistry*. K. L. Parkin y O. Fennema. New York, CRC Press.
- Skoog D. A. (2001). Cap 15. En: *Principios de análisis instrumental*. D. A. Skoog, F. J. Holler y T. A. Nieman. Madrid, Mc Graw Hill/Interamericana: 382-400.
- Slade L. y Levine H. (1991). "Beyond water activity: recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 30: 115-360.
- Slade L. y Levine H. (1995). "Water and the glass transition -- Dependence of the glass transition on composition and chemical structure: Special implications for flour functionality in cookie baking." *Journal of Food Engineering* 24(4): 431-509.
- Smith S. A., Pestka J. J., Gray J. I. y Smith D. M. (1999). "Production and specificity of polyclonal antibodies to hexanal-lysine adducts." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (4): 1389-1395.
- Song A., Eckhoff S., Paulsen M. y Litchfield J. (2001). "Effects of kernel size and genotype on popcorn popping volume and number of unpopped kernels." *Cereal Chemistry* 68(5): 464-467.
- Sopade P. A., Halley P. J. y Junming L. L. (2004). "Gelatinisation of starch in mixtures of sugars. II. Application of differential scanning calorimetry." *Carbohydrate Polymers* 58(3): 311.
- Sperling L. H. (1986). *Introduction to Physical Polymer Science*. New York, John Wiley & Sons.
- Sperling L. H. (2005). *Introduction to Physical Polymer Science*. New York, John Wiley & Sons.
- Subsecretaría de Economía Agropecuaria (2004). Análisis de las exportaciones agroindustriales primer semestre de 2004. Área de Análisis Económico de la Dirección de Economía Agropecuaria.
- Sumithra B. y Bhattacharya S. (2008). "Toasting of corn flakes: Product characteristics as a function of processing conditions." *Journal of Food Engineering* 88(3): 419.
- Svihus B., Uhlen A. K. y Harstad O. M. (2005). "Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review." *Animal Feed Science and Technology* 122(3-4): 303-320.
- Swonsichon T. y Peleg M. (1998). "Instrumental and sensory detection of simultaneous brittleness loss and moisture toughening in three puffed cereals." *Journal of Texture Studies* 29: 255-274.

- Szczesniak A. S. (1963). "Classification of textural characteristics." *Journal of Food Science* 28: 385-389.
- Szczesniak A. S. (1990). "Texture: Is it still an overlooked food attribute?" *Food Technology* 44(9): 86-95.
- Szczesniak A. S. (2002). "Texture is a sensory property." *Food Quality and Preference* 13: 215-225.
- Szczesniak A. S. y Kahn E. L. (1971). "Consumer awareness of and attitudes to food texture." *Journal of Texture Studies* 2(3): 280-295.
- Tanaka W., Cirilo A. y Ruiz R. (2005). "El manejo agronómico del maíz colorado duro afecta la calidad comercial del grano". *VII Congreso Nacional de Maíz*, Rosario, Argentina.
- Tananuwong K. y Reid D. S. (2004). "Differential scanning calorimetry study of glass transition in frozen starch gels." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(13): 4308.
- Thiewes H. J. y Steeneken P. A. M. (1997). "The glass transition and the sub-T<sub>g</sub> endotherm of amorphous and native potato starch at low moisture content." *Carbohydrate Polymers* 32(2): 123.
- Tian Y., Buriak P. y Eckhoff S. (2001). "Effect of hybrid and physical properties of individual popcorn kernels on expansion volume." *Cereal Chemistry* 78(5): 578-582.
- Timmermann E. O. (2003). "Multilayer sorption parameters: BET or GAB values?" *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 220(1-3): 235-260.
- U.S. Council Grain. <http://www.grains.org/grains/corn.html>
- Ulbricht D., Normand M. D. y Peleg M. (1995). "Creating typical jagged force-deformation relationships from the irregular and irreproducible compression data of crunchy foods." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 67(4): 453-459.
- UNE (1979). "Análisis sensorial. Guía para la instalación de una sala de cata, UNE 87-004-79". Madrid, Asociación Española de Normalización (AENOR).
- USDA (2010). World agricultural production. United States Department of Agriculture. AP 11-10
- Valles Pamies B., Roudaut G., Dacremont C., Le Meste M. y Mitchell J. R. (2000). "Understanding the texture of low moisture cereal products: mechanical and sensory measurements of crispness." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80(11): 1679-1685.
- Van Boekel M. A. J. S. (2001). "Kinetic aspects of the Maillard reaction: a critical review." *Nahrung/Food*. 45: 150-159.
- Van Den Berg C. y Bruin S. (1981). Water activity and its estimation in food systems: Theoretical aspects. En: *Water Activity: Influence on Food Quality*. L. Rockland y G. Stewart. New York, Academic Press: 1-61.
- Varela P., Salvador A. y Fiszman S. (2009). "On the assessment of fracture in brittle foods II. Biting or chewing?" *Food Research International* 42(10): 1468-1474.
- Vincent J. F. V. (2004). "Application of fracture mechanics to the texture of food." *Engineering Failure Analysis* 11(5): 695-704.
- Vertucci C. W. (1990). "Calorimetric Studies of the state of water in seed tissues." *Biophysical Journal* 58: 1463-1471.
- Vittadini E. y Chinachoti P. (2003). "Effect of physico-chemical and molecular mobility parameters on *Staphylococcus aureus* growth." *International Journal of Food Science & Technology* 38(8): 841-847.
- Wall J. S., Cooker L. A. y Bietz J. A. (1988). "Structure and origin of maize endosperm alcohol-insoluble glutelin." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36(4): 722.

- Watson S. A. (1987). Structure and composition. En: *Corn: Chemistry and Technology*. S. A. Watson y P. E. Ramstad. St. Paul, Minnesota, AACC: 125-183
- Watson S. A. (1988). Corn marketing, processing and utilization. En: *Corn and Corn Improvement*. G. F. Sprague y J. W. Dudley, American Society of Agronomy. 18: 881-940.
- Webb P. A. (2001). "Volume and density determinations for particle technologists." From [http://www.particletesting.com/docs/density\\_determinations.pdf](http://www.particletesting.com/docs/density_determinations.pdf).
- Weber E. (1987a). "Carotenoids and tocopherols of corn grain determined by HPLC." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 64(8): 1129-1134.
- Weber E. (1987b). Lipids of the kernel. *Corn: Chemistry and Technology*. S. A. Watson y P. E. Ramstad. St. Paul, Minnesota, American Association of Cereals Chemists: 311-349.
- Wells-Knecht M. C., Thorpe S. R. y Baynes J. W. (1995). "Pathways of formation of glycoxidation products during glycation of collagen." *Biochemistry* 34(46): 15134-15141.
- White P. J. y Pollak L. M. (1985). "Corn as a food source in the United States. II. Processes, products, composition, and nutritive values." *Cereals Foods World* 40(10): 756-762.
- Wilson C. M. (1991). "Multiple zeins from maize endosperms characterized by reversed-phase high performance liquid chromatography." *Plant Physiology* 95: 777-786.
- Wolfe J., Bryant G. y Koster K. L. (2002). "What is 'unfreezable water', how unfreezable is it and how much is there?" *Cryo Letters* 23: 157-166.
- Wolff S. P. y Dean R. T. (1987). "Glucose autoxidation and protein modification." *Biochemical Journal* (245): 243-250.
- Wu Y. V. (1992). "Corn hardness as related to yield and particle size of fractions from a micro hammer-cutter mill." *Cereal Chemistry* 69(3): 343-347.
- Yam K. L. y Papadakis S. E. (2004). "A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces." *Journal of Food Engineering* 61(1): 137.
- Yan Z., Sousa-Gallagher M. J. y Oliveira F. A. R. (2008). "Shrinkage and porosity of banana, pineapple and mango slices during air-drying." *Journal of Food Engineering* 84(3): 430.
- Yang J., Huang M., Peng J. y Shi J. (2010). "Rapid determination of the moisture content of milk powder by microwave sensor." *Measurement In Press, Accepted Manuscript*.
- Yilmaz Y. y Toledo R. (2005). "Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products." *Food Chemistry* 93(2): 273-278.
- Yven C., Guessasma S., Chaunier L., Della Valle G. y Salles C. (2010). "The role of mechanical properties of brittle airy foods on the masticatory performance." *Journal of Food Engineering* 101(1): 85-91.
- Zhong Z. y Sun S. (2005). "Thermal characterization and phase behavior of cornstarch studied by differential scanning calorimetry." *Journal of Food Engineering* 69(4): 453-459.
- Ziegler K. E. (2001). Popcorn. *Corn: Chemistry and Technology*. P. J. White y L. A. Johnson, American Association of Cereals Chemist.
- Ziegler K. E., Ashman R. B., Whitte G. y Wysong D. (1984). Popcorn production and marketing. *Corn Handbook*. West Lafayette, Purdue University.
- Zobel H. F. (1988a). "Molecules to granules: a comprehensive starch review." *Starch - Stärke* 40(2): 44-50.
- Zobel H. F. (1988b). "Starch crystal transformations and their industrial importance." *Starch - Stärke* 40(1): 1-7.