



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**EFFECTO DE LAS INTERACCIONES PROTEÍNA-  
PROTEÍNA (CLARA DE HUEVO-SOYA, SUERO DE  
LECHE Y GRENETINA) EN UNA ESPUMA SÓLIDA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERA EN ALIMENTOS**

**PRESENTA:**

**TANIA HERNÁNDEZ MONDRAGÓN**

**ASESOR: I.Q GUADALUPE FRANCO  
RODRÍGUEZ**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO.DEMEX.**

**2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.  
**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**



**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ**  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Efecto de las interacciones proteína-proteína (clara de huevo-soya, suero de leche y grenetina) en una espuma sólida

Que presenta la pasante: **Tania Hernández Mondragón**

Con número de cuenta: **40702538-9** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**

**“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 19 de enero de 2012.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PRESIDENTE</b>	I. Q. Guadalupe Franco Rodríguez	
<b>VOCAL</b>	M. en C. Soledad Carreto García	
<b>SECRETARIO</b>	I. A. Patricia Muñoz Aguilar	
<b>1er SUPLENTE</b>	I. A. Miriam Edith Fuentes Romero	
<b>2do SUPLENTE</b>	I. Q. Guillermo Martínez Morua	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
HHA/pm

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi madre, por su infinita capacidad de dar, por su amor, su apoyo y cuidado, sin ella nada de esto hubiera sido posible.

A mi padre por su ejemplo de trabajo, disciplina y determinación, por siempre alentarme a seguir adelante y apoyarme incondicionalmente.

A Marif por ser mi hermana y amiga, por todo siempre ser un soporte para mi no tengo como agradecer su ayuda incondicional te amo hermana.

A mi hermana Paulina por estar conmigo y brindarme las personitas más bellas, mis sobrinos: Danna, Diego e Issa razones para sonreír día a día.

A mi asesora de tesis Guadalupe Franco por ayudarme con todo lo que implico este trabajo.

A mis amigas Angélica, Madelaine y Erika por brindarme su amistad incondicional desde el primer momento.

# ÍNDICE GENERAL

Índice de tablas	4
Índice de Figuras	5
Resumen	7
Introducción	2
Capítulo 1 ANTECEDENTES	11
1.1 Espumas	11
1.1.1 Métodos de generación y estabilización de espumas	11
1.1.2 Metodos para medir propiedades espumas	13
1.1.3 Factores ambientales que influyen en la formación y estabilización de espumas	15
1.1.4 Desestabilización de las espumas	17
1.2 Proteínas	19
1.2.1 Clasificación de las proteínas	20
1.2.2 Estructura proteica	20
1.2.3 Propiedades funcionales de las proteínas	23
1.2.4 Interacción proteína- proteína	26
1.2.5 Proteínas aireantes	27
1.2.5.1 Proteínas de clara de huevo	28
1.2.5.2 Proteínas de suero de leche	32
1.2.5.3 Proteína de soya	34
1.2.5.4 Grenetina	36
1.3. Productos aireados	38
1.3.1 Pastel ángel	38
1.3.1.1 Proceso de elaboración del pastel ángel	39
1.4 Análisis térmico	40
1.4.1 Técnicas de análisis térmico	41
1.4.1.1 Calorimetría Diferencial de Barrido (DCS)	41
1.4.1.2 Análisis térmico diferencial	41
1.4.1.3 Análisis termogravimétrico	42
1.4.2 Analizador termogravimétrico con termoanálisis diferencial	44
1.5 Evaluación de propiedades texturales	46
1.5.1 Métodos Fundamentales	47
1.5.2 Métodos Empíricos	47

<b>1.5.3 Métodos Imitativos</b>	<b>48</b>
1.5.3.1 Análisis de Perfil de Textura	48
<b>1.5.4 Métodos Sensoriales</b>	<b>51</b>
1.5.4.1 Pruebas descriptivas	53
1.5.4.2 Pruebas discriminativas	53
1.5.4.2.1 Pruebas de preferencia	54
<b>Capítulo 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b>	<b>55</b>
<b>Cuadro Metodológico</b>	<b>55</b>
<b>Descripción del cuadro metodológico</b>	<b>55</b>
<b>2.1 Materiales</b>	<b>56</b>
<b>2.2 Objetivo General</b>	<b>56</b>
<b>2.2.1 Objetivo específico 1</b>	<b>57</b>
2.2.1.1 Análisis termogravimétrico y térmico diferencial	57
<b>2.2.2 Objetivo específico 2</b>	<b>60</b>
2.2.2.1 Preparación de las espumas de pastel ángel	60
2.2.2.2 Determinación del tiempo $\frac{1}{2}$ de drenado (estabilidad)	61
2.2.2.3 Determinación de la capacidad espumante	61
2.2.2.4 Distribución del diámetro de burbuja	61
<b>2.2.3 Objetivo específico 3</b>	<b>62</b>
2.2.3.1 Determinación del porcentaje de aumento de volumen	62
2.2.3.2 Análisis de perfil de textura	64
2.2.3.3 Prueba sensorial	65
2.2.3.4 Análisis de imagen de la Miga	65
<b>2.3 Análisis estadístico</b>	<b>67</b>
<b>Capítulo 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>68</b>
<b>3.1 Análisis térmico diferencial y termogravimétrico</b>	<b>68</b>
<b>3.2 Tiempo de batido</b>	<b>81</b>
<b>3.3 Capacidad espumante</b>	<b>83</b>
<b>3.4 Tiempo <math>\frac{1}{2}</math> de drenado</b>	<b>86</b>
<b>3.5 Porcentaje de aumento de volumen</b>	<b>87</b>
<b>3.6 Análisis de Perfil de textura</b>	<b>90</b>
<b>3.7 Distribución de tamaño de burbuja</b>	<b>93</b>
<b>3.8 Imagen de la miga</b>	<b>96</b>
<b>3.9 Prueba sensorial</b>	<b>98</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>100</b>

<b>Bibliografía</b>	<b>102</b>
<b>Apéndice 1. Análisis de varianza (ANOVA) de una vía</b>	<b>113</b>
<b>Apéndice 2. Cuestionario de evaluación sensorial. Prueba de preferencia</b>	<b>117</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1. Definiciones y cálculo de los términos de textura</b>	<b>57</b>
<b>Tabla 2. Definiciones físicas y sensoriales de atributos de textura</b>	<b>59</b>
<b>Tabla 3. Formulación espuma testigo de pastel ángel</b>	<b>62</b>
<b>Tabla 4. Formulación de las muestras a evaluar mediante análisis térmico diferencial y termogravimétrico</b>	<b>59</b>
<b>Tabla 5. Formulación de la espuma para preparar el pastel ángel</b>	<b>63</b>
<b>Tabla 6. Perfil de aminoácidos de proteínas de clara de huevo y soya</b>	<b>76</b>
<b>Tabla 7. Tiempo <math>\frac{1}{2}</math> de drenado a los tiempos de batido seleccionados</b>	<b>88</b>
<b>Tabla 8. Porcentaje de sobrerrendimiento en las espumas proteicas</b>	<b>89</b>
<b>Tabla 9. Valores de hidrofobicidad para las proteínas estudiadas.</b>	<b>91</b>
<b>Tabla 10. Valores de pH de las soluciones proteicas.</b>	<b>91</b>
<b>Tabla 11. Tiempo <math>\frac{1}{2}</math> de drenado para las espumas proteicas</b>	<b>86</b>
<b>Tabla 12. Porcentaje de aumento de volumen de las espumas de pastel ángel durante el horneado.</b>	<b>88</b>
<b>Tabla 13. Parámetros de textura del pastel ángel.</b>	<b>97</b>
<b>Tabla 14. Número de objetos captados por el programa Image Pro</b>	<b>98</b>



# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de cinética de drenado. ....	14
Figura 2. Succión capilar del líquido del centro de la película hasta los bordes de Plateau .....	18
Figura 3. Evolución del mecanismo de desproporción de una espuma por difusión gaseosa .....	19
Figura 4. Estructura primaria de la proteína. ....	21
Figura 5. Esquema de una proteína .....	22
Figura 6. Tipos de enlace que estabilizan la estructura de una proteína .....	23
Figura 7. Análisis Térmico Diferencial (DTA).....	42
Figura 8. Curva termogravimétrica. ....	43
Figura 9. Imagen del SDT 2960. ....	50
Figura 10. Esquema del SDT 2960.....	52
Figura 11. Curva característica del análisis del perfil de textura. ....	49
Figura 12. Cuadro metodológico. ....	55
Figura 13. Carga de la muestra en el SDT 2960 Simultaneous DSC-TGA. ....	66
Figura 14. Imagen obtenida por el dispositivo Moticam. ....	62
Figura 15. Diagrama de proceso de la elaboración del pastel ángel. ....	69
Figura 16. Curva de TPA de pastel ángel obtenida en el texturómetro TA-XT2i. .	71
Figura 17. Conversión a imagen binaria y conteo de objetos Image Pro.....	72
Figura 18. Termograma diferencial de las proteínas de clara de huevo y su mezcla con los ingredientes de la formulación.....	69
Figura 19. Termograma de pérdida de peso de las proteínas de clara de huevo y su mezcla con los ingredientes de la formulación.....	79
Figura 20. Termograma diferencial de la espuma testigo de pastel ángel y las añadidas con proteínas. ....	80
Figura 21. Termograma de pérdida de peso de las espuma testigo de pastel ángel y las añadidas con proteínas. ....	77
Figura 22. Termograma diferencial de la espuma sólida (pastel ángel).....	79
Figura 23. Termograma de pérdida de peso de las espumas sólidas (pastel ángel). ....	86
Figura 24. Imágenes del volumen final de los pasteles.....	89
Figura 25. Curvas de TPA para los pasteles testigo y añadidos con proteína.....	97
Figura 26. Imágenes de las espumas.....	100
Figura 27. Histograma de distribución del tamaño de burbuja para las espumas de pastel ángel.....	101

<b>Figura 28. Tipos de distribución de la celda en productos horneados .....</b>	<b>102</b>
<b>Figura 29. Imágenes de las migas a color real y en blanco y negro.....</b>	<b>97</b>
<b>Figura 30. Resultados de la prueba sensorial de preferencia. ....</b>	<b>99</b>

## RESUMEN

Las proteínas están presentes en los alimentos aireados para estabilizar la interfase aire/agua mediante la reducción de la tensión interfacial y la formación de fuertes películas interfaciales. La interacción de proteínas puede resultar en un efecto positivo o negativo en las propiedades espumantes del sistema así como en la estabilidad térmica, y características macroscópicas de las espumas.

En el presente trabajo se investigó el efecto de los mecanismos de interacción de las proteínas de clara de huevo con el aislado de proteína de soya, aislado de proteína de suero de leche, y grenetina en la formación y desarrollo de una espuma sólida de panificación (pastel ángel).

El pastel ángel se realizó sustituyendo el 25% de la clara de huevo en la formulación, por las dispersiones proteicas en estudio. Como base estructural de esta investigación se llevó a cabo el análisis térmico diferencial y termogravimétrico de las soluciones proteicas, espumas y pasteles con el fin de evaluar el grado de desnaturalización térmica de las proteínas y su grado de interacción a nivel molecular.

Además se evaluaron la estabilidad de las espumas proteicas, el porcentaje de sobrerrendimiento, el aumento de volumen en el horneado, la textura, la distribución de diámetros de burbuja, el número de celdas presentes en la miga, finalizando con una prueba sensorial de preferencia.

Las mezclas proteicas con grenetina presentaron una mayor temperatura de desnaturalización; es decir mayor estabilidad térmica, debido a la interacción sinérgica desarrollada con las proteínas de clara de huevo, se obtuvo mayor estabilidad en el horneado resultando en la mayor capacidad de retención de agua y mejores propiedades organolépticas (distribución de tamaños de burbuja más uniforme, mejores atributos de textura y mayor grado de preferencia).

Las proteínas de suero de leche fueron poco estables ante las temperaturas del proceso, provocando el colapso del pastel dentro del horno y por ende el menor volumen final del pastel generando la textura de la miga compacta y

deshidratada. Estos factores contribuyeron a la poca preferencia en la evaluación sensorial de esta muestra.

La mezcla de proteínas de clara de huevo con aislado proteico de soya obtuvo resultados similares que los de la clara de huevo por sí sola en todos los casos, sin embargo la soya causo notas de sabor desagradables en el pastel que causaron un menor grado de preferencia en la evaluación sensorial.

# INTRODUCCIÓN

Actualmente, en la industria de alimentos ha representado un reto el encontrar nuevas fuentes de proteína para mejorar las propiedades funcionales sin afectar a la calidad del alimento.

Las proteínas, especialmente las de clara de huevo son ampliamente usadas como agentes espumantes por sus excelentes propiedades interfaciales. Por esta razón existe un gran interés en el entendimiento de las relaciones entre su estructura y dichas propiedades (Damodaran, 2004), así como también de las interacciones entre diferentes mezclas de estas macromoléculas; por la compleja naturaleza de los sistemas alimenticios (Damodaran, *et al.*, 1998).

A pesar de su alto peso molecular y su compleja estructura, las proteínas son capaces de difundirse desde la fase acuosa y adsorberse en la interfase en la formación de la espuma, debido a la compatibilidad de sus regiones hidrofóbicas con el aire. En la interfase se despliegan y desnaturalizan exponiendo los grupos polares y no polares hacia el agua y a la fase gaseosa respectivamente (Zayas, 1997). Aunado a este proceso, las proteínas deben interaccionar por medio de enlaces no covalentes: fuerzas electrostáticas, hidrofóbicas, enlaces de hidrógeno y algunas veces por medio de enlaces disulfuro dando lugar a una película viscoelástica continua, fuerte y cohesiva capaz de retener el agua y proporcionar la suficiente fuerza a la matriz estructural dando lugar a la estabilidad de la espuma, (Kinsella y Phillips, 1989), la cual está determinada por la capacidad de las proteínas del sistema de mantener su estructura frente a esfuerzos mecánicos o gravitatorios (Fennema, 2000).

Las proteínas son el principal agente espumante en productos aireados tales como merengues, mousses y productos de panificación. Con todas estas aplicaciones, éstas deben presentar el nivel de volumen deseado y posteriormente mantener la estabilidad durante y después del proceso, incluyendo la mezcla de ingredientes y los procesos térmicos (Foegeding, 2006).

Los productos de panificación, especialmente los pasteles son sistemas en los que un número de componentes proteicos, que difieren tanto en su estructura como en funcionalidad, interactúan entre sí para producir una red de

proteína de fases separadas y coagulada (Tolstoguzow, 1996) exhibiendo características estructurales y texturales únicas en estos sistemas. Ejemplo de estos sistemas es el pastel ángel el cual es tradicionalmente hecho mediante la combinación del merengue de clara de huevo, ingrediente estándar para las espumas culinarias con una gran capacidad de generar altos volúmenes y estabilidad, con harina y azúcar formando una pasta que se hornea dando como resultado una espuma sólida. (Foegeding, 2006).

No obstante el avance que se ha tenido en aspectos de tecnología en alimentos aplicados a los productos aireados, el mecanismo molecular de la interacción proteína-proteína para la formación y estabilización de espumas aún está en estudio y la literatura que se tiene hoy en día es relativamente pobre (Schmitt y Kolodzi, 2007).

La falta de comprensión acerca de este mecanismo dificulta la utilización de nuevas proteínas, en productos como el pastel ángel ya que los fabricantes buscan mayor flexibilidad en la elección de ingredientes para sus formulaciones, tales como la sustitución de leche, soya o otras proteínas por la clara de huevo (Foegeding, 2006). La grenetina, el suero de la leche, y las proteínas de soya son utilizadas como ingredientes funcionales; dentro de sus propiedades destacan su solubilidad, sus propiedades emulsionantes, espumantes y su capacidad de gelificación (Vohra y Kratzer, 1991).

Considerando la importancia de la generación de una espuma estable y de volumen válido para el pastel ángel, en este estudio se evalúa el efecto de la adición de tres proteínas en la espumabilidad, estabilidad, volumen y propiedades sensoriales de la espuma incluyendo un estudio calorimétrico para determinar la estabilidad estructural de las proteínas del sistema en función de la temperatura, con el fin de identificar el efecto ya sea aditivo, sinérgico o antagonista sobre las propiedades de la espuma y así tener mayor información acerca del campo de aplicación de éstas en la producción de pastel ángel y productos de panificación similares.

# CAPÍTULO 1

## ANTECEDENTES

### 1.1 Espumas

Las proteínas tienen la capacidad de formar espumas; esta característica depende de la facilidad de establecer una película interfacial cohesiva a una concentración muy baja y que sea capaz de atrapar y retener el aire, así como de soportar esfuerzos mecánicos. Las espumas se pueden considerar como dispersiones de burbujas de gas (generalmente aire) en una fase continua que puede ser líquida o semisólida; la función de las proteínas es reducir la tensión interfacial orientando sus grupos hidrófilos hacia el exterior de la burbuja en contacto con el agua, y los hidrófobos hacia el interior, con el aire (Murria y Ettelaie, 2004). En este fenómeno influyen muchos factores que al modificar las proteínas alteran la capacidad de espumado: pH, sales, azúcares, lípidos, temperaturas elevadas, viscosidad, grado de ionización, etc.

Las proteínas son indudablemente los principales agentes espumantes en mucho productos alimenticios, debido a que forman una película interfacial estable que puede ser altamente cohesiva por medio de la interacción entre proteínas vecinas por enlaces de hidrogeno, hidrofóbicos e incluso enlaces covalentes (Croguennec *et al.*, 2006) resultando una película fuerte capaz de evitar la coalescencia y desproporción de la estructura.

#### 1.1.1 Métodos de generación de espumas

Cuando se formula una espuma, el interés primordial es el aumento de volumen respecto al volumen inicial y la estabilidad de la misma a lo largo del tiempo (Cheftel y Lorient, 1989). El tamaño de las burbujas también es de gran importancia para las propiedades de las espumas, ya que influyen en la textura, palatabilidad y estabilidad de los productos aireados (Balerin *et al.*, 2007).

En el proceso de formación de espumas a partir de una dispersión proteica, la proteína tiene que ser rápidamente adsorbida (difundirse, penetrar, reordenarse) en la interfase para ejercer acción tensoactiva. Por ello es indispensable que sea soluble, flexible, que tenga relativamente un bajo peso mole-

cular o sea disociable y que posea un adecuado balance lipofílico-hidrofílico dado por la relación hidrofobicidad superficial/carga superficial.

Las espumas producidas en a nivel industrial se pueden generar de diferentes maneras. El gas puede ser introducido en el producto, ya sea mecánicamente, o por la liberación de gas disuelto debido a una reducción de la presión. Como ejemplos de este último se encuentran las bebidas espumantes, aerosoles o bebidas estilo cappuccino. En estos productos, el gas se encapsula en el polvo secado por aspersión y se libera al solubilizarlo en agua caliente.

Los métodos mecánicos ofrecen más oportunidades de control de proceso y en general son los métodos más utilizados para la generación de espumas para estudios detallados. Los principales métodos mecánicos para la formación de espuma se pueden dividir en cuatro categorías: burbujeo, batido, agitación y vertido.

**a) Burbujeo.** Este método implica introducir gas a través del líquido por medio de una abertura para crear burbujas generando así la espuma. Las aplicaciones de este método incluyen la espuma de extinción de incendios y fermentadores. En fermentadores la espuma no es el producto deseado.

**b) Batido.** Este método implica el movimiento a alta velocidad de batidores o aspas a través de un líquido, introduciendo así el aire en la espuma, los como ejemplo de espumas generadas mediante el batido están los merengues, mousses, helados. El batido es el método que generalmente produce las espumas más estables, ya que disminuye progresivamente el tamaño de la burbuja y aumenta la fracción líquida de la espuma con el aumento de tiempo, dando una más rígido, espuma más estable. Existe un gran interés en el uso del proceso de batido como una herramienta de investigación para estudiar a las espumas (Nakamura y Sato, 1964). Los dispositivos utilizados para la generación de espuma van desde batidores domésticos (Poole *et al.*, 1984) a precisos dispositivos compuestos de seis navajas de alto esfuerzo cortante (Meda *et al.*, 1991). Ambos han producido resultados satisfactorios, (Phillips *et al.*, 1987). Un extenso estudio por investigadores en diferentes laboratorios (Phillips *et al.*, 1990) mostró que el tiempo y la velocidad de los batidores da resultados dife-



rentes. Utilizando sólo un batidor no se forman espumas uniformes, el tamaño y la forma de tazón también puede producir la variabilidad.

A pesar de que el batido no puede ser altamente controlado como el método de burbujeo, si se controla cuidadosamente, los resultados pueden ser altamente reproducibles.

**c) Agitación.** Este proceso se utiliza como un método de investigación simple para generar espuma en un sistema cerrado (Graham y Phillips, 1976). Tiene poco interés para la industria. En general, consiste en la agitación mecánica o manual de un frasco sellado o cilindro graduado. La tasa de producción de espuma es inferior que en el batido o burbujeo porque es poco efectivo en la producción de burbujas de gas. La agitación tiene sus usos en sistemas reales; en espumas generadas por aerosol, se requiere agitación para dispersar el aire en el líquido antes de la espuma final se dispense. Este movimiento es esencial, de lo contrario no se generaría la espuma.

**d) Vertido.** Este método es, obviamente, de interés comercial pues es a menudo utilizado por el consumidor para generar espumas (verter un vaso de cerveza). De nuevo este método de generación de espuma no se controla como el burbujeo o el batido, por lo que los mecanismos específicos no siempre son investigados (Hall, 1996).

### 1.1.2 *Métodos para medir propiedades espumantes*

Las espumas de proteínas son estructuras complejas que fluctúan en función de un sin número de variables. La concentración de proteína en la solución y el método de hidratación tiene un alto impacto en las propiedades de la espuma (Phillips *et al.*, 1990).

Al batir una espuma, el volumen inicial de solución de proteína afecta a la cantidad de aire incorporado. El mezclador utilizado para producir la espuma es de gran importancia. La cantidad y tipo de batidores, velocidad de batido y modelo de mezclador deben ser mantenidos para producir resultados consistentes.

La necesidad de métodos estandarizados es indispensable para que se puedan comparar los datos obtenidos entre investigadores y laboratorios. Los siguientes **sin** algunos métodos comúnmente utilizados para la caracterización de espumas:

**1) Tiempo de drenado (estabilidad de la espuma).** La estabilidad de la espuma o tiempo de drenado puede ser cuantificada de muchas maneras. Generalmente las espumas más estable tiene un tiempo más largo de drenado, el cual cuantifica el proceso de desestabilización originado por la acción que ejerce la fuerza de gravedad en el líquido presente en la lamela. Un método para cuantificar la estabilidad de la espuma consiste en la medición del tiempo necesario para que la mitad de la masa de la espuma drene (Phillips *et al.*, 1987).

La cinética de drenado se determina midiendo el volumen de líquido drenado en función del tiempo tal y como se muestra en la figura 1:

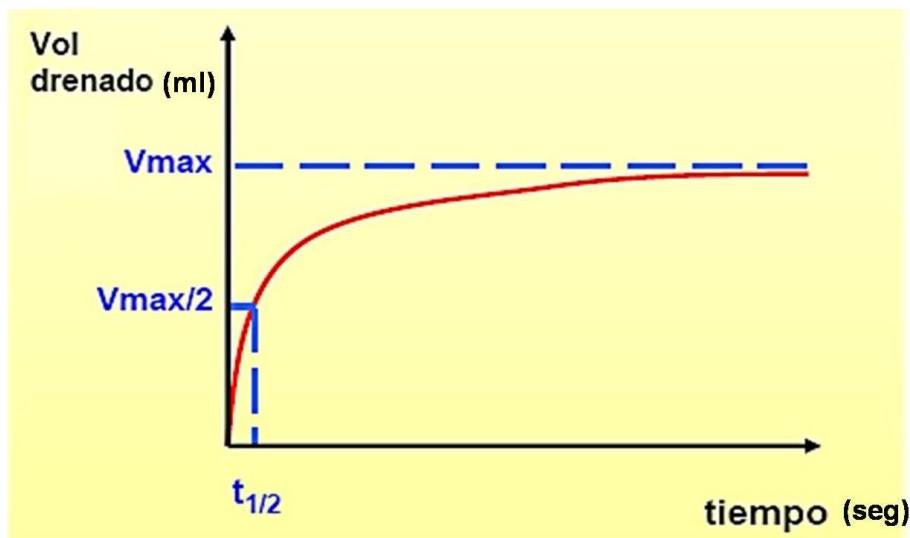


Figura 1. Gráfico de cinética de drenado.

**2) Capacidad espumante.** Las propiedades espumantes de las proteínas derivan de su capacidad de formar una película delgada y tenaz en la interfase gas-líquido lo que permite la incorporación y estabilidad de múltiples burbujas de gas. La capacidad espumante de una proteína es el área interfacial que puede ser creada por ella. Se puede expresar en términos de porcentaje relativo al volumen inicial (<<sobrerrendimiento>>) el cual se define así:

$$\llcorner \llcorner \text{ sobrerrendimiento } \gg \gg = \frac{\text{Volumen de la espuma} - \text{volumen del liquido inicial}}{\text{volumen del liquido inicial}} \times 100 \quad (1)$$

El sobrerrendimiento es la medida de la cantidad de aire incorporada a una espuma. Un método estandarizado para la medición de esta propiedad consiste en pesar un volumen conocido de la solución (antes) y la espuma (después) del batido, e introducir ambos datos en la ecuación para el sobrerrendimiento (Ec. 1).

Esta propiedad depende del tiempo de batido. Generalmente tiempos largos de batido permiten un mayor despliegue de las proteínas, lo que genera una mayor interacción de éstas en la interfase. Sin embargo el prolongar el tiempo de batido puede causar un fenómeno denominado sobrebatido el cual se presenta cuando las proteínas coagulan, formando agregados insolubles y alteran la estructura de la espuma. Esto puede conducir a una espuma menos estable y con un menor rendimiento (Lau y Dickinson, 2004).

### 1.1.3 Factores ambientales que influyen en la formación y estabilización de espumas

Diversos factores, tales como la concentración, pH, temperatura, fuerza iónica y presencia de otros constituyentes, afectan a las fuerzas de interacción entre las proteínas. La mayoría de las propiedades funcionales tales como la formación de espumas vienen determinadas por el equilibrio entre estas fuerzas. Los principales factores extrínsecos que afectan la formación de espumas alimenticias son:

**a) pH.** Diversos estudios han mostrado que las proteínas que estabilizan espumas son el pH isoelectrico de la proteína que en cualquier otro pH, si no hay insolubilidad. La clara de huevo presenta buenas propiedades espumantes en el pH de 8-9 y su punto isoelectrico es de 4-5. En el pH isoelectrico o cerca de este, la reducida presencia de interacciones de repulsión promueven interacciones favorables proteína-proteína y la formación de una película viscosa en la interfase, lo que favorece tanto la capacidad de espumado como la estabilidad de la espuma.

**b) Sales.** El efecto de las sales sobre las propiedades espumantes de la proteína depende del tipo de sal y las características de la solubilidad de la proteína en esa solución salina. La capacidad de espumado y la estabilidad de la espuma de la mayoría de las proteínas globulares, como albumina sérica bovina, albumina de huevo, gluten y proteína de soya aumentan conforme se incrementa la concentración de NaCl.

**c) Azúcares.** La adición de sacarosa, lactosa y soluciones azucaradas pueden perjudican la capacidad espumante, pero mejorar la estabilidad de espuma. En alimentos como los merengues, soufflés y pasteles, es adecuado agregar azúcar después del batido ya que entonces se permite la adsorción de la proteína debido a que se despliega para deformar una película estable. Así mismo, la adición de azúcar incrementa la estabilidad al aumentar la viscosidad del líquido en la lamela.

**d) Lípidos.** Los lípidos especialmente los fosfolípidos cuando se presentan en una concentración mayor al 0.5% afectan desfavorablemente a las propiedades espumantes de la proteína, debido a que su superficie es más activa que la de las proteínas, se adsorben en la interfase aire-agua compitiendo con las proteínas e inhiben su adsorción durante la formación de la espuma. La película de los lípidos no es cohesiva ni viscoelástica, por lo que no puede resistir la presión interna de las burbujas de aire, las que se expanden y se colapsan durante el batido.

**e) Concentración de proteína.** Una mayor concentración de proteína da firmeza a la espuma. Esta firmeza se logra con un tamaño menor de burbuja y una mayor viscosidad. Al aumentar la viscosidad se facilita la formación de multicapas cohesivas de la película de proteína en la interfase. La albumina sérica fácilmente forma espuma y las estabiliza a concentraciones de proteína tan bajas como 1% en tanto que al aislado proteico de suero y la conglicina de soya requieren un mínimo de 2 al 5%.

**f) Temperatura.** Una desnaturalización parcial de las proteínas puede favorecer las propiedades espumantes hasta cierto punto ya que si se sobrecalientan

pueden perderse al ocurrir reacciones proteína-proteína vía intercambio de disulfuro, o reversión a sulfhidrilos. Esto aumenta el peso molecular y tamaño del polímero, lo que impide la adsorción en la interfase. Algunos alimentos tipo espuma como los malvaviscos, pasteles y pan se calientan después de que se forma la espuma y el calor provoca una expansión del aire y una disminución de viscosidad lo que puede ocasionar ruptura y colapso de la espuma. En estas circunstancias la integridad de la espuma depende de la gelación de la proteína en la interfase, lo que permite desarrollar suficiente fuerza mecánica para estabilizar la espuma. La gelatina, el gluten y la clara de huevo tienen tanto la capacidad de espumado como gelificante, por lo que son ingredientes adecuados para la aplicación en estos alimentos. (Badui, 2006)

#### 1.1.4 Desestabilización de las espumas

Existen dos tipos principales de espumas sobre la base de la fracción de volumen de gas incorporado en el líquido. Uno de ellos es una espuma burbujeante, que tiene una menor cantidad de gas y burbujas esféricas. El otro tipo de espuma que se produce con una mayor fracción de gases es una espuma poliédrica. En una espuma poliédrica, las burbujas están tan juntas entre sí, que se convierten en no-esféricas, formando una estructura de panal. La geometría de las espumas poliédricas tiene un gran impacto en la estabilidad de la espuma (Prins, 1988; Murray, 2007). Las espumas poliédricas consisten en láminas delgadas entre burbujas, siendo el borde de Plateau el área donde se cruzan tres películas como se muestra en la figura 2. La presión capilar mantiene el líquido dentro del borde de Plateau. El *drenaje* es el mecanismo de desestabilización resultante de la acción de la fuerza de gravedad sobre el líquido que se encuentra en las películas delgadas y en los bordes de Plateau de la espuma (Prins, 1988). Cuando la película entre dos burbujas drena, la película se adelgaza y eventualmente se rompe. Esto lleva a las dos burbujas a convertirse en una sola burbuja, mediante un proceso de desestabilización llamado coalescencia (Damodaran, 2005).

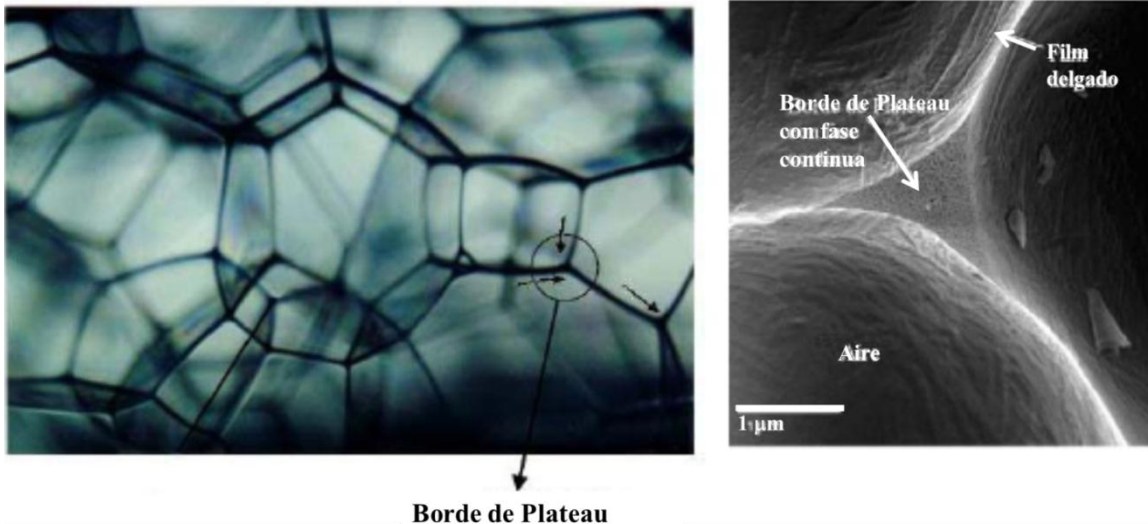


Figura 2. Succión capilar del líquido del centro de la película hasta los bordes de Plateau (Salager, *et al.*, 2005).

Otro mecanismo de desestabilización de las espumas se denomina *desproporción*. Este proceso consiste en el movimiento de gas de las burbujas pequeñas a burbujas más grandes. La ecuación de Laplace para la diferencia de presión entre una fase dispersa y continua (Damodaran, 2005):

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{R} \quad (3)$$

donde  $\Delta P$  es la diferencia de presión,  $\gamma$  es la tensión interfacial, y  $r$  es el radio de la burbuja de gas. La ecuación de Laplace indica que las pequeñas burbujas tienen una mayor diferencial de presión que las burbujas más grandes (Damodaran, 2005). Puesto que la solubilidad del gas es proporcional a la presión, el gas es más soluble en las burbujas pequeñas de la espuma. El mecanismo de desproporción se muestra en la figura 3, y se produce cuando el gas se difunde a partir de burbujas pequeñas a burbujas grandes. La desproporción es difícil de cuantificar en espumas poliédricas debido a la dificultad de la medición de las distribuciones de tamaño de burbuja (Ettelaie *et al.*, 2003). En su lugar, este mecanismo se ha estudiado observando sistemas de burbujas individuales (Dickinson *et al.*, 2002) y pares de burbujas (Ettelaie *et al.*, 2003).

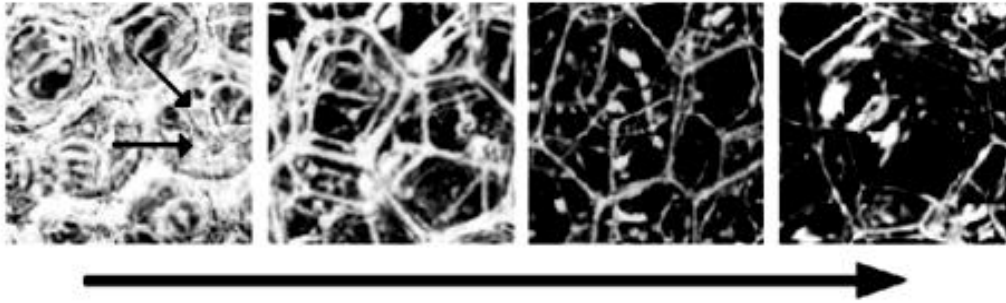


Figura 3. Evolución del mecanismo de desproporción de una espuma por difusión gaseosa (Salager, *et al.*, 2005).

Atributos tales como una alta viscosidad o solidificación de la espuma (tal como un pastel después de la cocción), pueden inhibir la desproporción (Dickinson *et al.*, 2002). Teóricamente, una película interfacial fuerte formada por una red proteica alrededor de burbujas de aire debe ser capaz de prevenir o al menos reducir en gran medida la desproporción (Damodaran, 2005). Sin embargo, la investigación ha encontrado que incluso las películas altamente viscoelásticas no detienen este mecanismo, sino que solo lo desaceleran (Dickinson *et al.*, 2002; Du *et al.*, 2003).

## 1.2 Proteínas

Las proteínas son macromoléculas complejas que pueden constituir el 50% o más del peso seco de las células y tienen un papel fundamental en su estructura y función. Su peso molecular oscila entre 5000 a varios millones de daltones. Estos biopolímeros están constituidos de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y, la mayoría de las veces, azufre.

Asimismo, algunas proteínas contienen hierro, cobre, fósforo o zinc. La hidrólisis completa (ácida, alcalina o enzimática) de las proteínas libera aminoácidos de configuración L, que se diferencian entre sí por la naturaleza de sus cadenas laterales. Para la mayoría de las proteínas, los aminoácidos constituyentes pertenecen a un grupo reducido de 20 de estos compuestos (Cheftel y Lorient, 1989). Estos aminoácidos están unidos entre sí mediante enlaces amida, llamados enlaces peptídicos, que se forman por una condensación entre un grupo carboxilo y un amino, con la consecuente eliminación de agua. La unión de dos aminoácidos genera una molécula llamada dipéptido, la de tres, tripéptido, y así sucesivamente. La condensación de un mayor número de ami-

noácidos produce los polipéptidos o proteínas, que tienen un grupo amino y un carboxilo terminal correspondientes a los dos aminoácidos que se localizan en los extremos de la cadena.

Todas las propiedades físicas y químicas de las proteínas dependen completamente del tipo, concentración y de la secuencia de unión de los monómeros constituyentes (Badui, 1994).

### 1.2.1 *Clasificación de las proteínas*

Las proteínas pueden clasificarse según su composición en dos grupos: las homoproteínas, compuestas exclusivamente de aminoácidos como la insulina; y las heteroproteínas, formadas por aminoácidos y diversos compuestos no proteicos, generalmente llamados grupo prostético. Según la naturaleza química del grupo prostético, se pueden distinguir: las nucleoproteínas (ribosomas, virus), las lipoproteínas (plasmática,  $\beta$ -lipoproteínas), las glicoproteínas (conalbúmina, ovomucoide, ovomucina), las fosfoproteínas (caseína, flavoproteínas) y las metaloproteínas (hemoglobina, mioglobina) (Cheftel y Lorient, 1989).

Otro criterio para clasificar las proteínas es de acuerdo a su solubilidad, dividiéndose en albúminas, globulinas, glutelinas, prolaminas y escleroproteínas. La solubilidad depende del tipo de aminoácidos que contenga, de tal forma que el polipéptido que tenga muchos residuos hidrófobos tenderá a ser menos soluble en agua que el que tenga un elevado número de grupos hidrófilos. Las albúminas son solubles en soluciones salinas diluidas y en agua (alactalbúmina, albúminas del suero sanguíneo, ovoalbúmina). Las globulinas son prácticamente insolubles en agua pero solubles en soluciones salinas diluidas (miosina,  $\beta$ -lactoglobulina, glicina de soya). Las glutelinas son solubles en ácidos y álcalis diluidos (glutelina del trigo y oricenina del arroz). Las prolaminas sólo se solubilizan en etanol (zeína del maíz y gliadina del trigo). Las escleroproteínas son insolubles prácticamente en todos los disolventes (colágeno, elastina, queratina) (Badui, 2006).

### 1.2.2 *Estructura proteica*



El primer nivel de organización de una proteína es su *estructura primaria*, su secuencia de aminoácidos esta secuencia es única y definida que componen la cadena polipeptídica y el orden de los aminoácidos se encuentran y depende del orden, la forma que adopten la función de cada proteína y su mecanismo de acción (Berge *et al.*, 2004). En la figura 4, se muestra el esquema de la estructura primaria de la proteína:

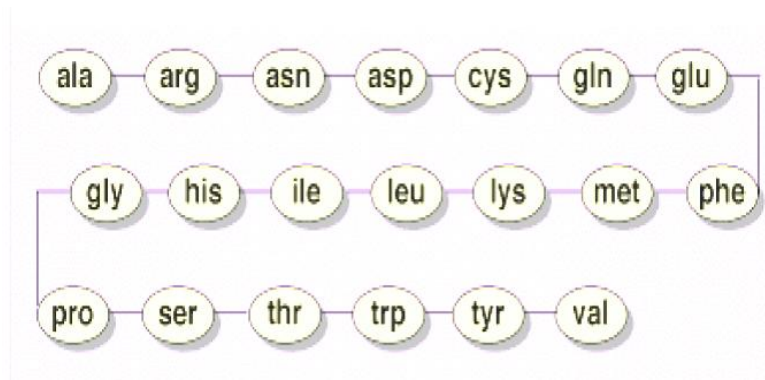


Figura 4. Estructura primaria de la proteína (Villa *et al.*, 2010).

A medida que la cadena de aminoácidos se va ensamblando, empiezan a tener lugar interacciones entre los diversos aminoácidos de la cadena. Pueden formarse puentes de hidrógeno entre el hidrógeno del amino de un aminoácido y el oxígeno del carboxilo de otro. A causa de estas uniones se forma la *estructura secundaria*, la cadena polipeptídica se pliega, adoptando dos posibles configuraciones espaciales que constituyen lo que se conoce como estructura secundaria de una proteína. Estas dos configuraciones son las llamadas  $\alpha$ -hélice y  $\beta$ -hoja plegada. Estas conformaciones no son las únicas que pueden adoptar las proteínas ya que en realidad cada proteína adopta una forma característica que depende de la secuencia lineal. Sin embargo las configuraciones antes mencionadas son las más frecuentes. La  $\alpha$ -hélice es un tipo de espiral cilíndrico estabilizado por puentes de hidrógeno, mientras que la  $\beta$ -hoja plegada está formada por cadenas polipeptídicas paralelas, mantenidas por puentes de hidrógeno intercatenarios (Salomon *et al.*, 1998).

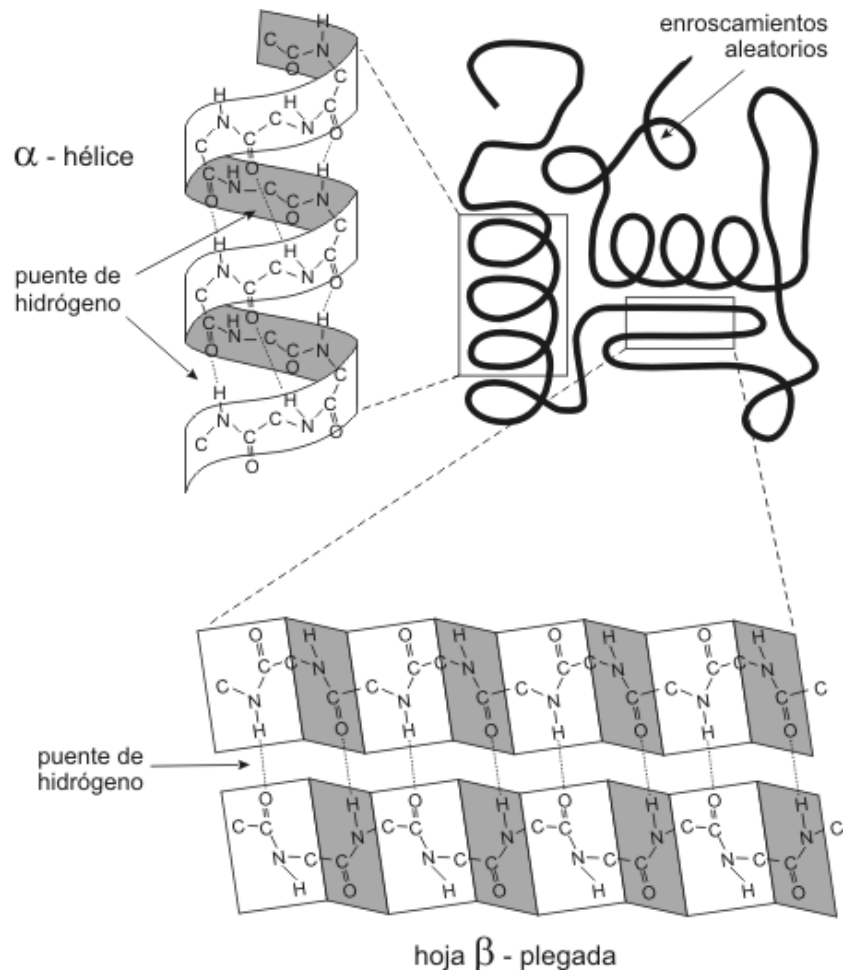


Figura 5. Esquema de una proteína presentando regiones con estructura secundaria en  $\alpha$ -Hélice, en Hoja  $\beta$ -Plegada y regiones con enroscamientos aleatorios (Salomón *et al.*, 1998).

Las proporciones de los distintos tipos de estructuras secundarias varían de una proteína a otra, sin embargo podemos decir que en la mayoría de las proteínas las formas  $\alpha$  y  $\beta$  suelen constituir entre el 60 y el 70 % del polipéptido y un 30% conforman enroscamientos aleatorios

Debido a la interacción de los grupos R, la cadena polipeptídica se pliega determinando una intrincada estructura tridimensional, a este nivel estructural de las proteínas se le denomina *estructura terciaria*. En muchas proteínas la estructura terciaria le brinda a la proteína una forma globular, como por ejemplo en las enzimas, que son proteínas con función catalítica. Otras proteínas tienen estructura terciaria fibrosa y suelen tener largas hélices o extensas hojas plegadas. Estas proteínas fibrosas suelen tener función estructural como el colágeno (Kuchel y Ralston 1994).

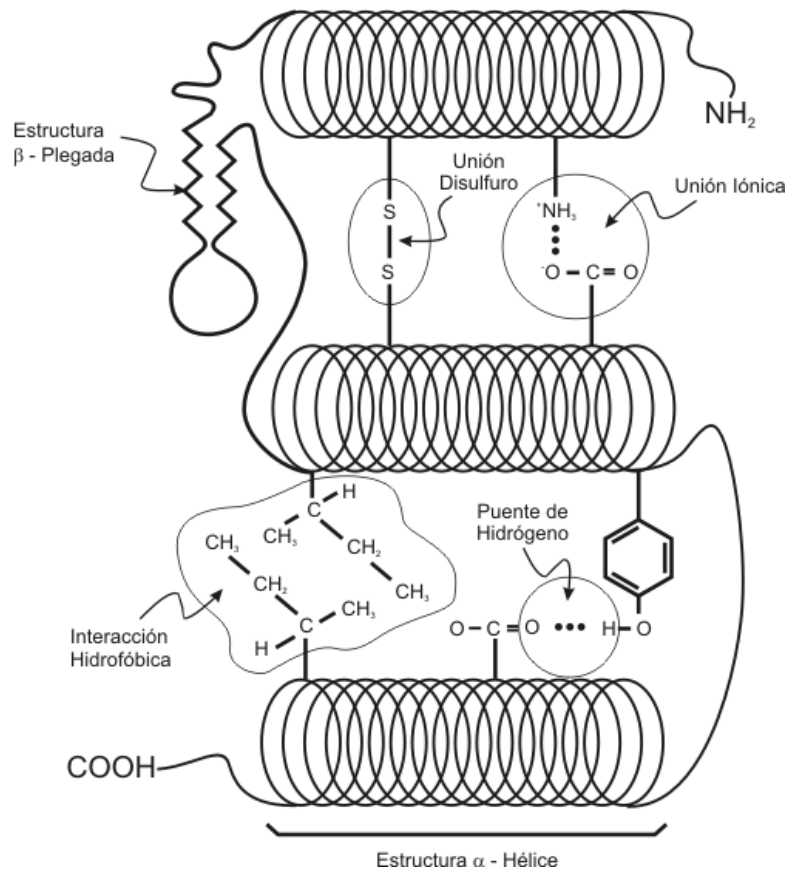


Figura 6. Tipos de enlace que estabilizan la estructura terciaria de una proteína (Karp, 1998).

Muchas proteínas presentan un cuarto y último nivel de estructura: *la estructura cuaternaria*. Este tipo de estructura, que es el grado máximo de organización proteica y consiste en dos o más cadenas polipeptídicas unidas generalmente mediante enlaces débiles. Estas proteínas se denominan oligoméricas o multiméricas y se las designa según el número de cadenas polipeptídicas que intervienen en la estructura cuaternaria. Por ejemplo, una proteína formada por cuatro subunidades es un tetrámero, como es el caso de la hemoglobina. Cada una de las subunidades proteicas, tienen su propia estructura terciaria (Smith y Wood, 1998).

### 1.2.3 Propiedades funcionales de las proteínas

Las proteínas no sólo son fuentes de aminoácidos, sino que, debido a su naturaleza polimérica, su presencia influye en las características reológicas y de textura de un alimento, haciendo que éste sea más aceptado por el consumi-

dor; debido a esto se usan comercialmente como ingredientes en la fabricación de alimentos (Badui, 2006).

La habilidad que tiene un ingrediente para interactuar con otros e impartir propiedades deseables a un sistema alimenticio es conocida como “funcionalidad”. El término propiedad funcional que se aplica a estos ingredientes, se define como cualquier propiedad fisicoquímica de los polímeros que afecta y modifica algunas características de un alimento y que contribuye a la calidad final del producto (Hall, 1996)

Las proteínas juegan un papel importante y mayoritario en las propiedades funcionales de los sistemas alimenticios. La apariencia, tamaño, forma, textura, consistencia, viscosidad y palatabilidad son algunas de las características físicas importantes en varios productos alimenticios (Wijeratne, 1995).

Estas propiedades son utilizadas algunas veces para determinar el grado de desnaturalización; ya que dependen fundamentalmente de factores intrínsecos propios de la molécula (conformación, relación y disposición de los aminoácidos, hidrofobicidad, carga eléctrica, forma y peso molecular), así como de factores extrínsecos (medio que la rodea) que en ocasiones pueden modificarse (pH, fuerza iónica, temperatura, actividad acuosa y constante dieléctrica) (Darmodaran, 1994).

De acuerdo a Cheftel *et al.*, (1989), las propiedades funcionales de las proteínas se clasifican en tres grupos principales:

**a) Propiedades de hidratación.** Son dependientes principalmente de la interacción proteína-agua y son aquellas como la adsorción, absorción y retención de agua, solubilidad, dispersabilidad y viscosidad. Las moléculas de agua enlazan a varios grupos de aminoácidos (los que tienen carga, los que tienen grupos amida, aquellos con grupos OH y los no polares) que propician interacciones ion-dipolo, dipolo-dipolo, dipolo-dipolo inducido e hidratación hidrofóbica, según el grupo de que se trate. Los grupos de aminoácidos con carga enlazan cerca de 6 moles de agua/mol de residuo, los polares sin carga cerca de 2 moles de agua/mol de residuo y los no polares aproximadamente 1 mol de agua/mol de residuo; por lo que la capacidad de hidratación de la proteína está relacionada parcialmente con su estructura primaria (mientras mayor sea su número de aminoácidos cargados, mayor será su capacidad de hidratación).

Diversos factores del medio que rodea a la proteína afectan su capacidad de enlazarse al agua, entre ellos se encuentran la concentración, el pH, la fuerza iónica, la presencia y el tipo de sales, la temperatura, la presencia de otros constituyentes y la conformación de la propia proteína. En el punto isoeléctrico las interacciones proteína-proteína son máximas y se asocian y repliegan sobre ellas mismas, manifestando la mínima hidratación e hinchamiento. Por arriba y abajo del punto isoeléctrico, el incremento en la carga neta y fuerzas de repulsión entre las proteínas permiten que se hinchen y enlacen más agua (Fennema, 2000).

Generalmente la fijación de agua por las proteínas decrece cuando la temperatura se eleva debido a la disminución de los puentes de hidrógeno y la hidratación de los grupos iónicos. Las proteínas desnaturalizadas generalmente son más solubles que en estado nativo en virtud de su mayor superficie de contacto y a la exposición de algunos grupos hidrófobos inicialmente ocultos; sin embargo, si la desnaturalización es extensa, la capacidad de enlazamiento al agua disminuye debido a la mayor interacción proteína-proteína. La solubilidad de una proteína no es función solamente de la capacidad de enlazarse al agua, sino también de otros factores como pH, fuerza iónica, temperatura y concentración proteica, por lo que no puede relacionársele directamente, (Damodaran, 1997).

**b) Propiedades dependientes de las interacciones proteína-proteína.** Son aquellas como la gelificación, coagulación, elasticidad, cohesividad, dureza y adhesividad. (Damodaran, 1997) La solubilidad de una proteína es la manifestación termodinámica de un equilibrio entre las interacciones proteína-proteína y proteína solvente, siendo influenciado dicho equilibrio por las características hidrofóbicas e iónicas de la propia proteína: las interacciones hidrofóbicas promueven las primeras y las iónicas las segundas.

**c) Propiedades de superficie.** Dependen de la interacción de la proteína con dos fases inmiscibles: agua/aceite y agua/aire, siendo éstas las propiedades emulsificantes y espumantes (Damodaran, 1997). Las proteínas son sustancias de naturaleza anfotérica y pueden migrar espontáneamente a una interfase

aire-agua o agua-aceite para reducir la tensión interfacial de esta manera, las proteínas son consideradas como agentes surfactantes ya que forman una película altamente viscoelástica en la interfase, capaz de resistir esfuerzos mecánicos durante el manejo y almacenamiento. Las proteínas, por tener en sus moléculas tanto porciones hidrofóbicas como hidrofílicas, son sustancias que exhiben propiedades superficiales. Para que la proteína tenga una adecuada propiedad superficial debe adsorberse, desdoblarse y reorientarse rápidamente en la interfase formando una película viscoelástica, flexible y resistente capaz de soportar movimientos mecánicos y cambios térmicos.

A menudo la desnaturalización tiene una repercusión negativa porque implica la pérdida de algunas de las propiedades funcionales, como en el caso de proteínas alimentarias que pierden solubilidad; aunque en otras ocasiones, algún grado de desnaturalización es deseable que ocurra, ya que generalmente las hace más digeribles y mejora sus propiedades emulsificantes y espumantes (Fennema, 2000).

#### 1.2.4 *Interacción proteína-proteína*

Las interacciones proteína-proteína son generalmente favorecidas por condiciones en las que se reduce la carga neta de las moléculas, por ejemplo en los valores de pH cercanos al punto isoeléctrico. Las asociaciones proteína-proteína conllevan un reconocimiento complementario de 2 macromoléculas para formar un conglomerado estable (Jones y Thornton, 1995). Las interacciones hidrofóbicas son fundamentales para la estabilización de las interacciones proteína-proteína (Chothia y Janin, 1975).

El término interacción hidrofóbica es usado para describir la ganancia de energía libre que ocurre cuando los residuos no polares de las proteínas se asocian en un ambiente acuoso (Kauzmann, 1959). El proceso de plegamiento de las proteínas y su interacción reduce su área superficial que está en contacto con el agua. Cuando la interacción entre el solvente y la proteína es atrayente, la proteína puede reducir su energía rodeándose a sí misma con moléculas del solvente, contrariamente, cuando dicha energía es repulsiva, el solvente es excluido (Tanaka, 1981). La agregación de subunidades de proteína esconden

los residuos hidrófobos de las proteínas, de ahí que se minimice el número de interacciones soluto-solvente termodinámicamente desfavorables.

La mayor parte de proteínas en los sistemas alimenticios han sido desnaturalizadas en varios grados dependiendo del tipo de proceso utilizado. La funcionalidad requerida dicta el tipo y concentraciones de los ingredientes y su ambiente. Bajo estas circunstancias las interacciones proteína-proteína no son específicas, como en los sistemas biológicos, más bien dependen principalmente de las fuerzas fisicoquímicas.

Las asociaciones físicas que se dan entre proteínas en un sistema alimenticio típicamente incluyen la hidratación y el enlace con el agua afectando así la viscosidad y gelificación; modificación de la actividad superficial e interfacial lo que controla la emulsificación y la espumabilidad y la reactividad química que conduce a estados de cohesión/adhesión y un potencial para la texturización (Fligner y Mangino, 1991).

#### 1.2.5 *Proteínas aireantes*

Algunas proteínas debido a su estructura, poseen capacidad aireante la cual, depende de la habilidad de estas de desnaturalizarse y formar una película estable; tal es el caso de algunas proteínas globulares las cuales, se despliegan en la interfase orientando sus áreas hidrofóbicas hacia la fase gaseosa. Asimismo, las proteínas que tienen una estructura flexible y anfipática, como la caseína y la gelatina se despliegan fácilmente y cambian su conformación en la interfase aire/agua (Doi y Kitabatake, 1997).

Una gran variedad de proteínas pueden ser utilizadas en la generación de productos aireados, incluyendo la clara de huevo, proteínas de suero de leche, proteínas de soya y gnetina (Campbell y Mougeot, 1999; Johnson, 2006). La selección de una proteína en el desarrollo de este tipo de productos se debe basar en sus beneficios individuales y la función deseada. Como es sabido, la proteína de clara de huevo es un estándar culinario pues permite que un gran volumen de aire sea incorporado en el producto.

En el caso las proteínas de lactosuero suelen ser utilizadas en productos de confitería dando una buena estabilidad, aunque menos aire puede ser in-

corporado. Otra proteína usada frecuentemente en este tipo de productos es la proteína de soya la cual, es estable al calor y versátil, permitiendo que funcione en una amplia variedad de productos aireados. Asimismo, la gnetina además de ser gelificante, genera espumas muy estables y produce una gran variedad de texturas en este sistema (Johnson, 2006).

Las proteínas aireantes óptimas para un producto específico deben de ser seleccionadas sobre la base de los parámetros de procesamiento, la textura deseada y vida útil del producto final. A continuación se presenta la descripción de tres de las proteínas aireantes de mayor uso en la industria alimenticia.

#### 1.2.5.1 Proteínas de clara de huevo

La albumina de huevo es esencialmente una solución acuosa de varias proteínas globulares en una red formada por fibras de ovomucina. Veinte proteínas están presentes, con características de glicoproteínas e integran una estructura bien organizada, gelatinosa y espesa. las que se encuentran en mayor proporción son la ovoalbumina, conalbumina y ovomucoide (Fennema, 1996).

En orden de importancia las principales proteínas de la clara son:

##### **a) Ovoalbúmina**

Es la proteína mayoritaria de la clara, es una fosfoglicoproteína ya que contiene fosfato y carbohidratos unidos a la cadena polipeptídica. La ovoalbúmina purificada está constituida por tres fracciones, A1, A2 y A3 que sólo se diferencian en el contenido de fósforo. La secuencia completa de aminoácidos es de 385 residuos con 4 n grupos sulfhidrilo y 1 grupo disulfuro (Stadelman y Cotterill, 1995). La ovoalbúmina purificada tiene un peso molecular de 45 kDa.

Durante el almacenamiento de los huevos la ovoalbúmina se convierte en una forma más termoestable llamada S-ovoalbúmina (Stable ovoalbumin). La identificación y presencia de esta forma termoestable de la proteína puede ser confirmada por la diferencia en la temperatura de desnaturalización ( $T_d$ ), siendo esta de 84.5°C para la ovoalbúmina y 92.5°C para la S-ovoalbúmina (Doi y Kitabatake, 1997). También posee buenas propiedades gelificantes que pueden ayudar a la estabilización térmica de las espumas, sin embargo, dichas



propiedades se reducen cuando aumenta la proporción de S-ovoalbúmina (Cheftel y Lorient, 1989).

La desnaturalización superficial de la ovoalbúmina ha sido detectada por el incremento de la reactividad de sus grupos sulfhidrilos. Cuando la ovoalbúmina se somete a un proceso de batido sus moléculas son adsorbidas en la interfase aire/agua, rearreglándose a sí mismas y cambiando su conformación para orientar sus porciones hidrofóbicas hacia la fase gaseosa. Este cambio expone a los residuos de cisteína, que a su vez, se oxidan y forman enlaces disulfuro con los residuos de cisteína de las moléculas de proteína vecinas en la interfase. Esta reacción forma agregados en la interfase aire/agua. La reacción de intercambio sulfhidrilo-disulfuro entre las moléculas de ovoalbumina tiene lugar también en la interfase. Los agregados forman una red proteica la cual es responsable de la estabilidad en las espumas de ovoalbúmina (Doi y Kitabatake, 1997).

#### **b) Ovotransferrina (Conalbúmina)**

Es la segunda proteína más abundante en la clara, la cual consiste en una cadena polipeptídica de aproximadamente 80 kDa (Matsuda *et al.*, 1982). Es una glicoproteína que contiene 0.8% de hexosa y 1.4% de hexosamina. Es obtenida de la clara por precipitación fraccionada con sulfato amónico, no contiene fósforo ni grupos sulfhidrilo (Fennema, 2000) Contiene 686 residuos de aminoácidos, determinado de la secuencia de su DNA (Matsuda, *et al.*, 1982). La ovotransferrina es parte de la familia de las transferrinas que incluyen la ovotransferrina, serotransferrina y lactoferrina (Doi y Kitabatake, 1997).

Está constituida por una sola cadena polipeptídica y puede existir en equilibrio bajo tres formas de diferente contenido en  $\text{Fe}^{3+}$  (dos, uno o ningún átomo de hierro por molécula). A un pH próximo a 6, una molécula de conalbúmina puede fijar dos iones metálicos; según la naturaleza del catión fijado, los complejos pueden resultar coloreados (rojos con  $\text{Fe}^{3+}$  y amarillos con  $\text{Cu}^{2+}$ ) o no. Los complejos metálicos de conalbúmina son más estables que la proteína natural (Cheftel y Lorient, 1989). La ovotransferrina es muy sensible a la desnaturalización térmica (57-65°C) pero menos sensible a la desnaturalización superficial que la ovoalbúmina. Donovan *et al.*, (1975) reportaron que las pro-

propiedades funcionales de la clara de huevo son más afectadas por la desnaturación de la ovotransferrina en torno a 70°C.

### **c) Ovomucoide**

Es una glicoproteína conformada por tres dominios separados, cada uno de ellos unido por tres enlaces cruzados disulfuro. Constituye aproximadamente el 10% de las proteínas de la clara de huevo (Doi y Kitabatake, 1997). El ovomucoide es un inhibidor de la tripsina con un peso molecular de 28 kDa. Es muy resistente a la coagulación por el calor en medio ácido y moderadamente alcalino, pero en presencia de lisozima y en medio alcalino coagula a temperaturas superiores a 60°C (Matsuda, *et al.*, 1982).

### **d) Lisozima**

Es una proteína básica con un peso molecular de 20.7 kDa y un punto isoeléctrico de 11, mucho más elevado que el del resto de las proteínas de la clara. La secuencia de aminoácidos de la lisozima es de 129 residuos y su estructura tridimensional es conocida con precisión. Cada molécula del polipéptido contiene cuatro enlaces disulfuro pero ningún grupo SH libre. Esta proteína posee una actividad enzimática  $\beta$ -glucosaminidásica cuyo sustrato está presente en la pared de algunas bacterias grampositivas, produciendo la hidrólisis de este sustrato la lisis de la bacteria (Stadelman y Cotterill, 1999). Junto con las globulinas E<sub>2</sub> y E<sub>3</sub>, se clasifica en uno de los agentes espumantes más efectivos de las proteínas de clara de huevo (Doi y Kitabatake, 1997).

La temperatura de desnaturación de esta proteína es alrededor de 70-75°C, dependiendo del pH y condiciones de solución. Es mucho más sensible al calor en la propia clara que cuando está presente sola en regulador de fosfato de pH 7-9. Cuando la clara se calienta a 63.5°C durante 10 min la lisozima se inactiva, ocurriendo esto en mayor grado cuando el pH aumenta por encima de 7 (Fennema, 2000). La lisozima tiene una conformación compacta y firme debido a sus enlaces disulfuro intramoleculares, por sí misma no muestra propiedades funcionales como espumado, gelificación o emulsificación en los sistemas alimenticios; sin embargo, ya que es una proteína muy sencilla, fácilmente interacciona con otras proteínas y componentes, lo cual también tiene influencia en las propiedades de los alimentos (Arntfield y Bernatsky, 1989).

Por ejemplo la lizosima promueve la coagulación de las proteínas de la clara de huevo a un pH dado. La reducción de puentes disulfuro induce a cambios conformacionales y también incrementa la flexibilidad de la molécula; las propiedades gelificantes y espumantes son mejoradas de una manera similar que con la ovotransferina (Doi y Kitabatake, 1997).

#### **e) Ovomucina**

Es una glicoproteína caracterizada por una alta viscosidad y naturaleza gelificante capaz de formar con la lizosima un complejo insoluble en agua, el cual probablemente contribuye a la estructura gelatinosa de la capa gruesa de la clara. No es una proteína hidrosoluble aunque es soluble en soluciones salinas diluidas de pH 7 o superior. Ha sido separada en dos fracciones, una pobre en carbohidratos (15%) y otra rica en los mismos (50%) denominadas  $\alpha$  y  $\beta$ -ovomucina, respectivamente. El peso molecular de la ovomucina es aproximadamente de 18 kDa y de la  $\beta$ -ovomucina es aproximadamente de 400 kDa (Doi y Kitabatake, 1997). Es relativamente termorresistente pero es sensible a la desnaturalización superficial, es responsable en gran medida de las propiedades funcionales de la clara, como es la capacidad espumante y estabilización de las espumas en frío. También se considera que tiene una actividad biológica contra varios virus (Cheftel y Lorient, 1989).

#### **f) Ovoglobulinas**

Nakamura *et al.*, (1980) reportaron la separación de cinco constituyentes de la fracción de globulina de la clara de huevo usando 43% de sulfato de amonio saturado, seguido por una filtración en gel y cromatografía con carboximetilcelulosa. Estos cinco constituyentes son la ovomacroglobulina, las globulinas G2 y G3, y dos ovoinhibidores. En contraste con las otras tres globulinas, ni G2 ni G3 demostraron la actividad inhibitoria hacia las proteinasas. Los análisis de la composición de aminoácidos, composición de carbohidratos y pesos moleculares característicos mostraron que G2 y G3 son glicoproteínas similares. Estas ovoglobulinas han demostrado ser excelentes agentes espumantes (Stadelman y Cotterill, 1995)

### **g) Ovoinhibidor**

Es una glicoproteína capaz de inhibir la tripsina y quimotripsina, como las proteasas fungales y bacterianas. El alto peso molecular reportado de 49 kDa hace al ovoinhibidor uno de los más grandes inhibidores de enzimas (Stadelman y Cotterill, 1995). Matsuda *et al.*, (1981) reportaron que el ovoinhibidor de la clara de huevo de gallina es inestable al calor y posee mayor estabilidad en medio ácido.

### **h) Avidina**

Es una glicoproteína que se combina con la biotina para formar un complejo estable e incapaz de ser absorbido por el tracto intestinal de los animales (Wilcheck y Bayer, 1990). Esta glicoproteína está compuesta de cuatro subunidades idénticas de polipéptidos, cada una con 128 residuos de aminoácidos. La avidina se considera un posible antinutriente debido a su fuerte afinidad con la biotina, además se ha pensado que juega un papel como agente antimicrobiano (Stadelman y Cotterill, 1995).

Las proteínas restantes forman un bajo porcentaje de la proteína total y todavía no han sido relacionadas significativamente con la funcionalidad de la clara de huevo.

#### 1.2.5.2 Proteínas de suero de leche

La proteína del suero de la leche es un conjunto de proteínas globulares que pueden ser separadas físicamente del suero de la leche. Desde la óptica química la proteína del suero de la leche es una mezcla de proteínas como la beta-lacto globulina, la alfa-lacto albúmina, y la sero-albúmina, todas ellas se pueden disolver en agua en sus formas originarias, por si solo del PH de las solución. El perfil de aminoácidos del suero presenta muy importantes cantidades de aminoácidos principales, aminoácidos sulfurados y aminoácidos de cadena ramificada.

Las proteínas del lactosuero pueden ser de síntesis mamaria, como la alfa-lactalbúmina y la alfa-lactoglobulina, que representan conjuntamente el 70% de las proteínas del lactosuero de vaca, y la lactoferrina, o bien de transferencia sanguínea, como la albúmina y las inmunoglobulinas.

El principal componente del suero de leche es el agua (alrededor del 94%), con otros componentes de menor importancia, tales como la lactosa (4,5%), proteínas (0,8%) y minerales (0,7%). Cuando el suero de leche se seca y se somete a procesos de filtración para concentrar los componentes, el resultado es un polvo con alto contenido de proteína. Los concentrados de proteína de suero contienen al menos un 25% de proteína y el aislado de proteína de suero es un producto más purificado que contiene por lo menos el 90% de proteínas. Las proteínas del suero han encontrado un nicho como un ingrediente en los alimentos la industria alimenticia debido a su solubilidad en un amplio rango de pH, propiedades funcionales únicas, y costos relativamente bajos en comparación con otros productos proteicos (Kilara y Vaghela, 2004).

La principal proteína presente en el suero de leche es la  $\beta$ -lactoglobulina (aproximadamente el 10% del total de proteínas en la leche y el 58% de las proteínas del suero de leche), compuesta por 162 aminoácidos, 2 puentes disulfuro y un tiol libre, con un peso molecular de 18.277 Da (Kilara y Vaghela, 2004; Farrell *et al.*, 2004). La segunda proteína de suero de leche más común es la  $\alpha$ -lactoalbúmina, que representa aproximadamente el 2% de la proteína de la leche total y aproximadamente el 13% de todas las proteínas de suero de leche (Kilara y Vaghela, 2004). Esta proteína con un peso molecular de 14.178 Da contiene 123 aminoácidos y 4 enlaces disulfuro (Farrell *et al.*, 2004). De los dos componentes principales de proteína de suero de leche, la  $\beta$ -lactoglobulina muestra las mejores características de formación de espuma, con valores más altos de sobrerrendimiento que la  $\alpha$ -lactoalbúmina. Cuando se mezclan estas dos proteínas, el sobrerrendimiento exhibe un incremento lineal con el aumento de concentración de  $\beta$ -lactoglobulina.

La Albúmina de suero bovino es la tercera proteína de suero más abundante, constituyendo aproximadamente el 8% del total de las proteínas de suero. Esta proteína incluye 583 aminoácidos, 17 puentes disulfuro, y tiene un peso molecular de 66.399Da. Diversas inmunoglobulinas representan alrededor del 6% del total de las proteínas de suero de leche (Farrell *et al.*, 2004).

### 1.2.5.3 Proteína de soya

Las proteínas son aproximadamente el 40% del peso seco de la soya. La mayor parte de la proteína de soya es clasificada como globulinas. El rango del tamaño molecular de las proteínas de soya ha sido demostrado por un patrón de centrifugado en el cual se han determinado cuatro fracciones principales: 2S, 7S, 11S Y 15S. La fracción 2S constituye alrededor del 8% de la proteína total. La fracción 7S contiene globulinas y enzimas (lipoxigenasa y amilasa) y constituye acerca del 35% de la proteína. La fracción 11S está considerada como una sola proteína y constituye el 52% de la proteína. La fracción 15S es una forma polimérica de la fracción 11S y aporta el 5% de la proteína total. Las principales globulinas de soya están clasificadas como glicina,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  conglicina basado en su respuesta inmunológica (Rhee, 1994; Utsumi *et al.*, 1997).

De las proteínas de la soya extraíbles con agua (aproximadamente 90% del total presente en el frijol de soya) está constituida por 25-35% de glicina y 20-25% de  $\beta$  conglicina. La glicina está constituida por polipéptido ácidos (ca. 38kDa) y básicos (ca 20 kDa), cada unidad básica y ácida está unida por un puente disulfuro, excepto por el polipéptido ácido A<sub>4</sub>. A temperatura ambiente a pH 7.6 la glicina forma complejos hexámicos (11S) y a pH de 3.8 esta principalmente en forma de complejos triméricos (7S) (Renkema *et al.*,2000).

Las globulinas 7S y 11S son las principales proteínas de almacenamiento y son alrededor del 70% del total de la proteína de soya. Ambas fracciones son muy complejas consisten de varias subunidades que son fácilmente asociadas y disociadas bajo diferentes condiciones de pH, fuerza iónica y tratamiento térmico. Se sabe que la temperatura de desnaturalización de la fracción 7S es menor que la fracción 11S (Chronakis y Kasapis, 1996).

Muchos estudios de proteína de soya están enfocados a la fracción 11S (glicina) porque es una sola proteína y constituye más del 50% del frijol de soya, además de que es relativamente fácil de preparar en forma pura. Existen 3 subunidades acidas (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> y A<sub>3</sub>) y tres subunidades básicas (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub>) de diferente peso molecular en la molécula de la proteína 11S.Éstas están alternadas en el mismo lado de la proteína y se mantienen juntas por puentes disulfuro y uniones hidrofóbicas. Se considera que el dímero está formado por 2 capas de 2 monómeros idénticos unidos por enlaces de tipo hidrofílico (puentes

de hidrógeno y/o electrostáticos) y tiene un peso molecular de aproximadamente 360,000 Da (Rhee, 1994).

La proteína de soya consiste de cadenas laterales polares y no polares. Estas cadenas presentan interacciones fuertes intra e intermoleculares, como puentes de hidrogeno, dipolo-dipolo, carga-carga (iónicas) e interacciones hidrofóbicas. Lo fuerte de las cargas y las interacciones polares entre las cadenas laterales de las moléculas de proteína de soya, restringe la rotación y la movilidad de la molécula lo cual dirige a un incremento en los módulos, la rigidez, el esfuerzo inicial y fuerza de tensión (Zhang, *et al.*, 2001).

La proteína de soya tiene como propiedades funcionales la gelificación, emulsificación, capacidad espumante, absorción y retención de agua, absorción de grasa, incremento de la viscosidad, solubilidad, elasticidad y cohesión-adhesión (Utsumi, *et al.*, 1997). Muchas de estas propiedades están relacionadas directamente con la habilidad de la estructura molecular en especial las propiedades reológicas que están implicadas en la textura que imparte la proteína (Utsumi y Kinsella, 1985).

En el mercado existe una gran variedad de productos alimenticios en los cuales la proteína de soya es utilizada para impartir propiedades de batido o espumantes incluyendo confitería (nougats, malvaviscos, jarabe de chocolate), coberturas batidas, coberturas de azúcar, postres congelados y varios tipos de pasteles. La proteína que tradicionalmente se usa como espumante es la albúmina de huevo, pero la proteína de soya ha probado ser un buen sustituto parcial o total de este ingrediente tradicional más costoso (Zayas y Joseph, 1997).

#### 1.2.5.4 Grenetina

El colágeno es la proteína de origen a partir de éste la gelatina se prepara en grandes cantidades. Funciona como proteína extracelular estructural en el hueso, tendón, piel y tejido conjuntivo de varios órganos. El rasgo característico de colágeno es la presencia de uno o más dominio (s), con una excepcional composición de aminoácidos (33% glicina y prolina 22%) y una estructura excepcional: una triple hélice extendida (rígida). La estructura de triple hélice se caracteriza por tres cadenas helicoidales extendidas: de poliprolina II que están

como enrolladas en una triple hélice dextrógira. Las tres cadenas están escalonadas por un residuo con respecto a cada una, y se vinculan a través de enlaces de hidrógeno. La conformación de triple hélice se asocia con una secuencia distintiva de aminoácidos con glicina en cada tercer residuo y un alto contenido de iminoácidos. (Wolf, 2003).

Durante la producción de gelatina, la extracción de colágeno a partir de tejido, condicionada por el agua caliente, desnaturaliza la estructura de la triple hélice en cadenas individuales solubles, o pequeños fragmentos de polímeros. Al enfriarse, las cadenas se enrollan en las nuevas estructuras de triple hélice, pero no necesariamente en el mismo registro que la estructura de colágeno nativo, lo que limita la reestructuración de la triple hélice. La reestructuración de los segmentos helicoidales de la triple hélice conduce a la formación de zonas de unión que son necesarias para la formación de un gel (Wolf, 2003).

Las regiones ricas en pirrolidina actúan como sitios de nucleación para la formación del potencial de zonas de unión (Rao, 1970) y la longitud de una zona de unión por lo menos posee 20 a 30 aminoácidos. En general se cree que las zonas de unión de la gelatina se estabilizan por puentes de hidrógeno similares a las de colágeno natural. Las zonas de unión están interconectados a través de cadenas de péptidos flexibles (segmentos elásticos). En la fabricación de gelatina, el tratamiento de los animales como materia prima con ácido diluido (gelatina tipo A) o bases (gelatina Tipo B) resulta en división parcial de los enlaces cruzados de la proteína, la estructura se divide de tal manera que el colágeno se vuelve soluble en agua caliente, es decir, la gnetina esformada.

La gnetina tiene múltiples funciones en la elaboración de alimentos y formulaciones. Las propiedades funcionales de la gnetina se puede dividir en dos grupos (Gareis, 2007), El primero tiene propiedades que se asocian con gelificantes, por ejemplo, la fuerza de gel, tiempo de gelificación, ajuste y temperaturas de fusión, viscosidad, espesante, texturizante, y de retención de agua. El segundo grupo se refiere al comportamiento de superficie de la gnetina, por ejemplo, la formación de la emulsión y la estabilización, la función protectora de coloides, la formación de espuma, la estabilización, formación de una película y la adhesión / cohesión (Gareis, 2007).

El uso más común de la gelatina se debe a sus propiedades gelificantes térmicamente reversibles por ejemplo, en la producción de jaleas. La termorre-



versibilidad de este proceso da a la gelatina la propiedad de derretirse en la boca. La gelatina es notable por sus propiedades gelificantes y limpio perfil de sabor. El gel de gelatina ha sido descrito con un aspecto brillante y textura que aún no se ha duplicado por cualquier polisacárido (Baizwane, 2003).

La gelatina está compuesta de la siguiente manera: 84-90% proteína proveniente del colágeno, 1-2% sales minerales, el porcentaje restante es agua. Esta proteína carece de los principales aminoácidos esenciales para la nutrición humana como valina, tirosina y triptófano.

El atributo más importante de la gelatina es la fuerza del gel y cuando se determinen por el método estándar, se llama la fuerza "Bloom" o "valor Bloom." En la determinación del valor, la fuerza requerida para deprimir la superficie de un gel de 6.67% por un émbolo con una forma específica y tamaño de 4 mm se mide 18 horas después de que el gel ha sido almacenado en exactamente 10°C. Los productos comerciales normalmente tienen valores bloom entre 50 y 280. En general los usos funcionales se incluyen como un estabilizador, espesante y texturizador. De acuerdo a su aplicación, la gelatina puede ser requerida de acuerdo a sus propiedades espumantes o para aumentar el volumen de algunas sustancias, en los productos de pastelería da firmeza y mejora la formación de espuma.

### **1.3 Productos aireados**

La clara de huevo ha sido extensamente utilizada como ingrediente principal en productos aerados, por su amplia gama de propiedades funcionales especialmente la de formación de espuma.

Las espumas proporcionan una gran variedad de atributos de calidad a los productos alimenticios (Campbell y Mougeot, 1999) y son encontradas en productos aireados tales como el pan, pasteles, galletas, merengues, helados, y gran variedad de productos de panificación. Estos productos dependen de la incorporación de aire para mantener su textura y estructura durante y después de ser procesados.

### 1.3.1 *Pastel ángel*

El pastel ángel es un “verdadero” pastel tipo espuma. Esto significa que su desarrollo en el horno solo depende del aire y el vapor de agua retenido por la espuma, no de ningún otro agente leudante. El aire y el vapor se derivan principalmente de las claras de huevo, que con el azúcar constituyen los 2 ingrediente predominantes de la formulación. La harina juega un papel secundario (Hall, 1996).

Las proporciones usuales son acerca de 20-40 partes de harina, 100 partes de clara de huevo líquida y 80 a 100 partes de azúcar. La sal, ácido Tartárico y el sabor también son parte de la formulación. Las claras de huevo y la harina actúan como endurecedores pues contribuyen a la fuerza y resistencia de la estructura de la espuma, mientras que el azúcar es el único “ablandador” debido a la ausencia de grasa. El aumento en el porcentaje de claras o de harina en la formulación va a disminuir la suavidad del pastel, mientras que el incremento de la cantidad de azúcar va a hacer un producto más blando.

El agente edulcorante siempre es el azúcar. Aunque se puede usar en forma granular es preferible utilizar un tamaño de partícula menor tal como el azúcar glass para acelerar su disolución en la clara de huevo.

Las características de la harina también tienen una marcada influencia en la calidad del pastel. Una harina débil es la recomendada para un excelente pastel, puesto que en este tipo de sistema alimenticio no es necesario desarrollar las cadenas de gluten, una harina fuerte no es indispensable puesto que la estructura la da principalmente la clara de huevo, inclusive se han tenido buenos resultados cuando una parte de la harina se ha sustituido por almidón de trigo.

El ingrediente que juega el papel más crítico es la clara de huevo. Los huevos deben de ser perfectamente separados cuando están fríos y dejarlos reposar en temperatura ambiente. No debe haber rastro de yema de huevo pues esta impide la formación de espuma. La blancura de la miga, la apariencia de la costra, la textura y el sabor están fuertemente afectados por las propiedades funcionales de la clara de huevo. En algunos casos los reposteros añaden un 10% de agua a la clara en el batido para humectar el pastel, sin embargo el volumen se ve reducido con esta acción.

La práctica común de añadir ácido tartárico se realiza para mejorar las propiedades de la albúmina. El añadir este tipo de aditivos es necesario ya que se ajusta el pH de la clara de huevo a un nivel que conduce a una solubilidad máxima de las proteínas y reduce su desnaturalización durante el batido. Sin él, la espuma no alcanza su máximo potencial, volumen específico y el pastel se torna duro. El ácido tartárico decolora los pigmentos de los flavonoides de la harina desarrollando un color más brillante de la miga. También tiene la ventaja de ser poco perceptible en el sabor. El rango aceptable para usarlo va de 1-2% (comúnmente el 1.5 al 1.75%) con respecto a las claras de huevo (Brown, 1994).

#### 1.3.1.1 Proceso de elaboración de pastel ángel

El procedimiento tradicional de elaboración del pastel ángel consiste en 2 etapas. En la primera etapa se baten las claras con o sin una parte del azúcar y el resto del azúcar es mezclado con un batido continuo. La segunda etapa consiste en mezclar la harina con la mínima fuerza posible para prevenir la ruptura de las paredes de las celdas para no colapsar el sistema, y lo que resulta por el contacto de los lípidos de la harina con las claras de huevo.

El pastel ángel es muy sensible a cambios en el método de preparación. Existen pocos productos de panadería tan sensibles como este en su procesamiento. El batido de las claras es el primer punto crítico. Si la aeración no es suficiente las paredes de las celdas no se extienden lo suficiente durante el horneado y se obtiene una textura y volumen no óptimos. Por otra parte el batido excesivo puede coagular las proteínas y la burbuja pierde extensibilidad y puede romperse durante el horneado desarrollando una reducción de volumen y una textura áspera.

La temperatura de la albumina afecta el tiempo requerido para llegar al máximo volumen específico. A mayor temperatura se vuelve más crítico el tiempo de batido ya que es más fácil sobrepasar el punto óptimo, causando un exceso de expansión durante el periodo inicial de horneado seguido de un ahogamiento después de que el horneado se completa.

Tradicionalmente se usan moldes tubulares para los pasteles ángel, ya que aquí se da una mejor transferencia de calor, además de que su soporte

interno permite una mayor expansión del pastel sin colapso subsecuente. Por obvias razones el molde no debe ser engrasado. Humedecer el molde da como resultado costras más humectadas, puesto que se retarda un poco la deshidratación.

Los pasteles ángel se han horneado satisfactoriamente en un gran rango de temperaturas sin embargo existe una recomendación para alcanzar el volumen óptimo. El consenso de las autoridades parece establecer que los mejores pasteles resultan del horneado a la más alta temperatura por tiempos cortos. Por ejemplo para 0.70 kg de pasta se recomienda una temperatura de 175°-185° C, en un tiempo de 10 a 15 min. Las variaciones en cuanto a sabor son sumamente restringidas debido a la necesidad de evitar el contacto con lípidos. El sabor más utilizado es el de vainilla o extracto de almendras. Los jugos de frutas, especialmente cítricos pueden ser usados con un buen efecto, sin embargo se debe disminuir la cantidad de ácido tartárico para compensar el efecto de estos ingredientes (Matz, 1992).

## **1.4 Análisis térmico**

El análisis térmico ha sido definido como un grupo de técnicas en la cual una propiedad de una muestra es monitoreada con relación al tiempo o temperatura, en una atmósfera específica, a un régimen programado de temperatura (White *et al.*, 2011).

### *1.4.1 Técnicas de análisis térmico*

Los estudios actuales en el campo del análisis térmico se apoyan en el manejo de potentes aparatos de laboratorio. Estos instrumentos permiten obtener series de puntos que relacionan algún tipo de variable dependiente (flujo de calor, pérdida de masa, etc) frente a la temperatura o el tiempo.

Las técnicas de análisis térmico de mayor importancia en el estudio de sistemas biológicos suelen clasificarse en función del aparato que se utilice. Para ello se acostumbra nombrarlas mediante sus siglas: DTA (Differential Thermal Analysis), DSC (Differential Scanning Calorimetry) y TGA (Thermal Gravimetric analysis). Es frecuente el uso de estas siglas no solo para denominar a la

técnica en cuestión, sino también para nombrar el aparato que se utiliza. A continuación se describen las características básicas de estas técnicas.

#### 1.4.1.1 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La técnica DSC es similar a la DTA, con la importante diferencia de que en este caso en lugar de medir la diferencia de temperatura entre la muestra y una referencia, se mide la diferencia de flujo de calor que experimentan ambas al ser sometidas al mismo programa de temperatura. La evolución de la muestra puede obtenerse en función de la temperatura o del tiempo, según el programa establecido.

Con esta técnica se pueden identificar los mismos eventos que con el DTA y además permite medir cuantitativamente tanto las entalpías como las capacidades caloríficas.

Las condiciones requeridas para la balanza son exactitud, sensibilidad y reproducibilidad, siendo también necesarias una capacidad razonable, elevada estabilidad y rapidez de respuesta.

#### 1.4.1.2 Análisis térmico diferencial

Como se observa en la figura 7 (a,b), el análisis térmico diferencial es una técnica en la cual los cambios de calor dentro de un material son monitoreados y comparados con la de un material inerte de referencia, de tal manera que podremos tener una relación de las diferencias de temperatura (la de la muestra con respecto a la referencia) en función de la rampa de temperatura a la que se realice el análisis, esto nos dan resultados en forma de gráficas (endo o exotermas) que nos permiten detectar, por medio de picos, las temperaturas a las cuales se dan transformaciones fisicoquímicas de la muestra. Dependiendo de la forma y orientación del pico se puede determinar si el evento observado es endotérmico (absorción de energía) o exotérmico (liberación de energía).

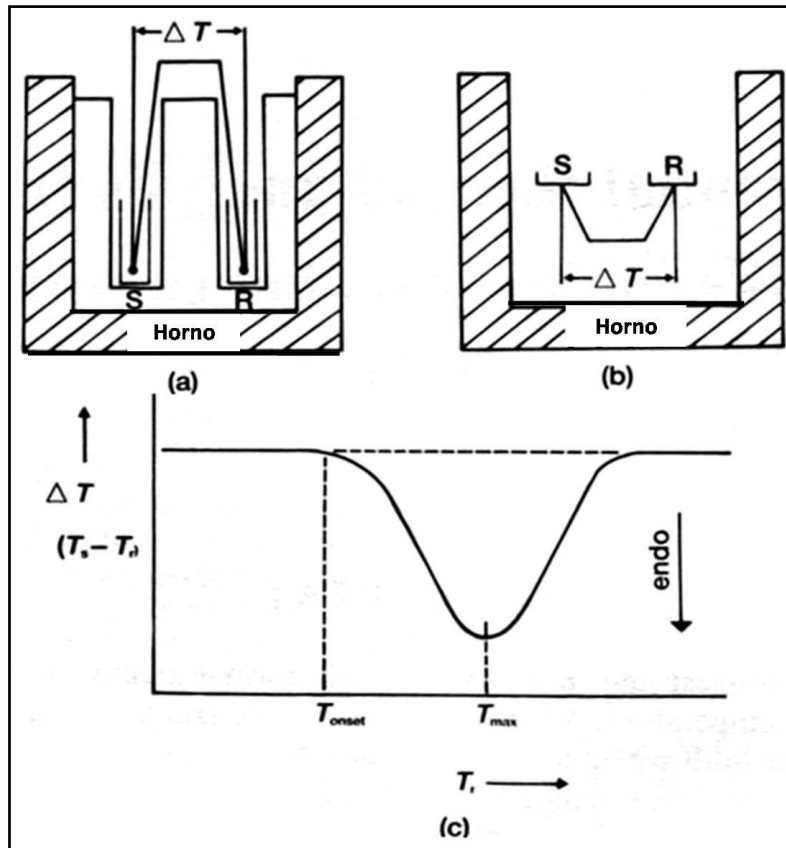


Figura 7. Análisis Térmico Diferencial (DTA). (a) Aparato clásico (S = muestra, R = referencia); (b) flujo de calor; (c) curva típica de DTA.

Los termogramas de DTA son de gran ayuda para la identificación de puntos de interés de los materiales tales como la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), temperaturas de desnaturalización (proteínas), temperaturas de gelatinización (almidones), etc. Por ejemplo para determinar temperaturas de desnaturalización se localiza la temperatura en la cual se presenta el pico de la endoterma y la entalpía de desnaturalización es proporcional al área debajo de la curva de la endoterma.

El inconveniente que presenta esta técnica es que no permite cuantificar la entalpía del proceso ni la capacidad calorífica. Sin embargo, es posible convertirla en semicuantitativa y obtener información del calor involucrado en el proceso.

#### 1.4.1.3 Análisis termogravimétrico

La técnica TGA permite medir la masa de la muestra mientras está siendo sometida a un programa térmico (isotérmico o en rampa). Normalmente a esta

técnica se le denomina termogravimetría, llamándose termogramas a los gráficos resultantes.

Una termobalanza o equipo TGA está compuesta por una microbalanza, un horno y un procesador de temperaturas; también dispone de un circuito de gas de purga. Añadido a este aparato suele utilizarse un ordenador con su correspondiente programa de procesado de datos.

Las aplicaciones típicas de esta técnica incluyen la determinación cuantitativa de componentes que se volatilizan a temperaturas características, tales como la humedad. También es un método idóneo para evaluar la estabilidad térmica de materiales.

Se puede utilizar un *método dinámico* sí se estudia el comportamiento de la muestra mientras es sometida a un programa de temperaturas con una determinada velocidad e calentamiento. Si, por el contrario se mantiene fija la temperatura y se estudia la variación de la masa con el tiempo se hablara del *método isoterma*. En cualquier caso, siempre es posible reflejar el cambio de masa de la muestra como una serie temporal ya que aún en el caso dinámico se conoce la evolución de la temperatura con el tiempo. En la figura 8 se presentan un ejemplo de curvas termogravimétricas.

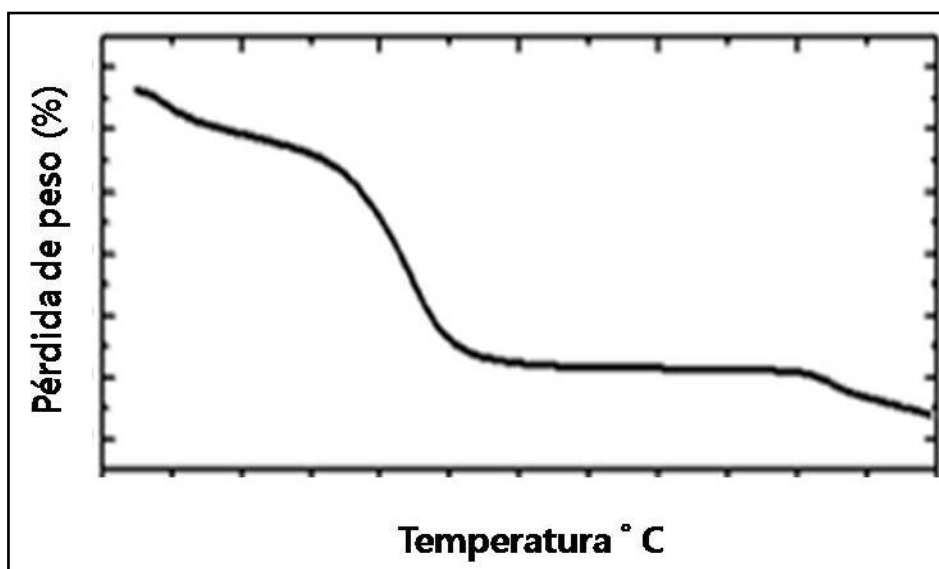


Figura 8. Curva termogravimétrica.

El termograma obtenido por medio de la técnica TGA se puede utilizar para estudios cinéticos, es decir, el análisis de la velocidad con que ocurren transformaciones en función de la temperatura.

#### 1.4.2 *Analizador termogravimétrico con termoanálisis diferencial*

El *TA Instruments SDT 2960* permite mediciones simultáneas de análisis térmico diferencial (DTA) y termogravimétricas (TG), ahorrando tiempo de análisis y de preparación de muestras. Este analizador cubre un amplio rango de temperaturas desde 20°C-1500°C lo que lo hace una herramienta ideal para estudiar una gran gama de materiales. Un programa de análisis de datos es una parte integral del equipo. Mediante la conexión a una computadora, como se observa en la figura 9, el software *Thermal Advantage* extrae y analiza los datos generados en el termoanalizador.



**Figura 9. Imagen del SDT 2960.**

En la industria alimentaria, los datos que proporcionan el SDT 2960 pueden ser utilizados para seleccionar los materiales, predecir el rendimiento del producto, y mejorar la calidad. La técnica es particularmente útil para la determinación de:

- Las temperaturas de transición
- Los puntos de fusión
- Composición de los sistemas multicomponentes
- Vida útil estimada de un producto
- El contenido de humedad y volátiles de los materiales



- La estabilidad térmica de los materiales
- Los puntos de ebullición

En la figura 10 se muestra el esquema del termoanalizador SDT 2960. El sistema se basa en un diseño de doble viga horizontal que puede realizar mediciones DTA y TGA simultáneamente. Este equipo está constituido por un horno que ofrece un control uniforme de calentamiento de hasta 1500 ° C. El horno y el tubo del horno están ensamblados asegurando que la temperatura establecida se pueda lograr consistentemente sin poner en peligro la vida del horno. Un anillo de enfriamiento facilita la introducción directa de una purga de aire en el horno para un descenso rápido y automática de temperatura, entre experimentos.

El conjunto del horno y tubo opera sobre un tornillo accionado por un motor que permite la apertura y cierre automáticos. El gas de purga entra en la unidad y fluye horizontalmente sobre la muestra y la de referencia. Durante las mediciones del DTA-TGA la muestra, contenida en un charola, y la de referencia (por lo general una charola vacía) son asentadas en sensores de platino al final de cada brazo de la balanza. El diferencial de flujo de calor entre la muestra y la de referencia se mide utilizando termopares en los brazos de la balanza como se observa en la figura 10.

El peso de la muestra en las mediciones TGA se mide por una banda de movimiento del medidor situado en la parte trasera de cada brazo de la balanza. Una fuente de luz LED infrarroja y un par de diodos foto-sensibles detectan el movimiento del brazo. Un dispositivo al final del brazo de la balanza controla la cantidad de luz que llega a cada fotosensor.

A medida que se pierde peso, el rayo de luz se desequilibra, causando un desbalance de luz en los fotodiodos. Una corriente de restauración de luz es generada para eliminar este desequilibrio y volver a la posición original.

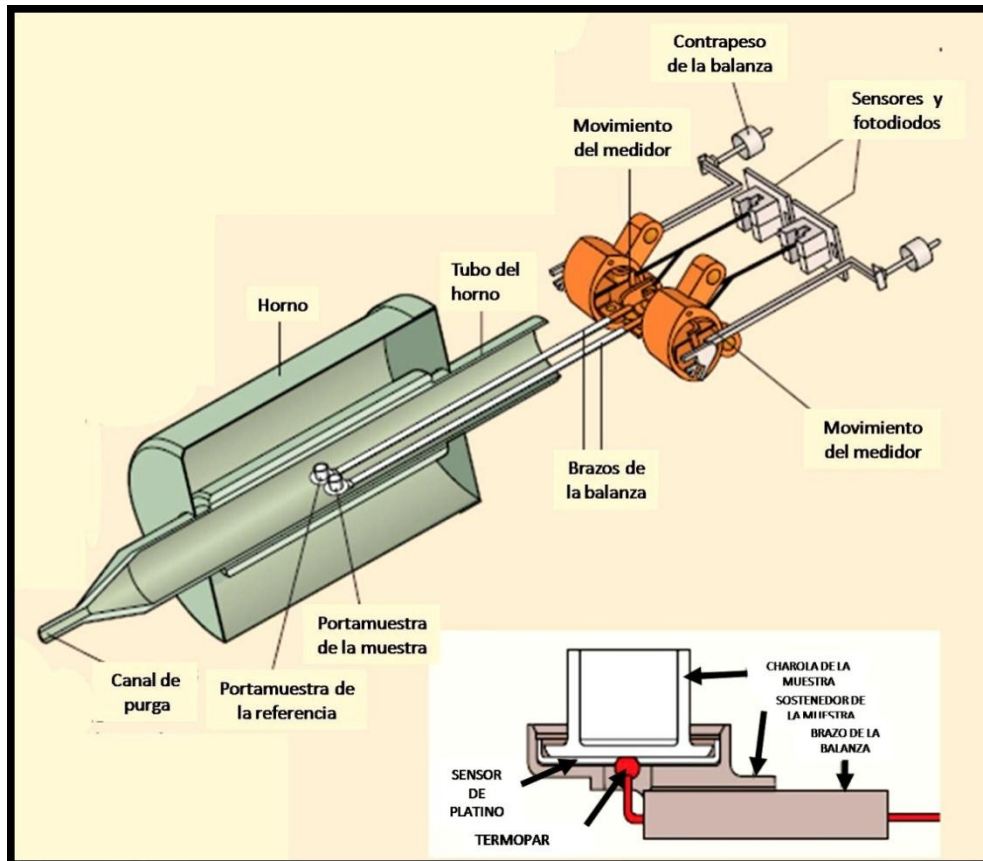


Figura 10. Esquema del SDT 2960.

### 1.5 Evaluación de propiedades texturales

La textura es un atributo resultado de la combinación de las propiedades físicas y químicas, estas incluyen el tamaño, la forma, el número, la naturaleza y el arreglo de los elementos estructurales constituyentes. Estas propiedades son el reflejo de la estructura macroscópica del material. El estudio de la estructura lleva a un mejor entendimiento de las propiedades físicas y de sus características de textura (Lewis, 1987).

De acuerdo a Kramer, las propiedades texturales de los alimentos son limitadas a sensaciones de tacto por la mano y las diferentes partes de la boca aunque en ocasiones la vista (aparición) y el oído influyen también en la percepción de la textura, por lo que puede existir un traslape entre la textura y otros atributos sensoriales (sabor, palatabilidad, percepción visual y táctil de aspereza, etc.). Aceptando lo inevitable de dicho traslape, parece haber un acuerdo general que el término textura es el término aceptado popularmente para una

de las tres propiedades sensoriales primarias de los alimentos la cual se relaciona completamente con el sentido del tacto y por lo tanto, por lo menos potencialmente, puede ser medida de manera precisa y objetiva por medios mecánicos. Existen 4 tipos de pruebas para la evaluación de las propiedades mecánicas de los alimentos, estas se dividen en métodos fundamentales, empíricos, imitativos y sensoriales.

#### 1.5.1 *Métodos fundamentales*

A través de los métodos fundamentales se obtienen las funciones materiales, ósea, aquellas que sólo dependen del material y no del instrumento y el método. Los resultados se expresan en términos de potencias de masa, longitud y tiempo y todas las variables son conocidas y controladas. En materiales complejos una prueba fundamental puede arrojar 10 parámetros o más.

Estos métodos son usados en investigación básica y requieren por lo general de instrumentos sofisticados y costosos, en especial para materiales de estructura y comportamiento complejo.

#### 1.5.2 *Métodos empíricos*

Los métodos empíricos, corresponden a aquellas pruebas que se efectúan con instrumentos que con frecuencia son diseñados o contruidos para un material específico, por lo que los resultados son función del instrumento, el método, la carga aplicada, la velocidad de aplicación de la carga, la geometría, dimensiones y orientación de la muestra y las condiciones, lo que ocasiona que no sean reproducibles sin que puedan expresarse en términos de cantidades reológicas fundamentales (potencias de masa, longitud y tiempo). Los instrumentos utilizados son sencillos y económicos.

Estas pruebas arrojan como resultado generalmente un solo dato (distancia, fuerza, área, tiempo, velocidad). Las variables que intervienen no siempre son conocidas ni controladas. Los resultados que originan son en ocasiones específicos para un tipo de material, no están perfectamente definidos (dureza, cohesividad, adhesividad) y es difícil encontrar traducciones de un idioma a otro. Son válidos y comparables solo bajo el mismo aparato, método, condicio-

nes y geometría de la muestra. Son ampliamente utilizados en la industria de alimentos.

### 1.5.3 *Métodos Imitativos*

Son aquellas que tratan de imitar las operaciones humanas sobre los materiales para juzgar su comportamiento mecánico (masticación, presión con los dedos, etc.) y asume que las fuerzas de reacción desarrolladas por la muestra representan las reacciones humanas. Los movimientos complicados y los complejos esfuerzos desarrollados hacen imposible el análisis teórico de los resultados.

De la misma forma que en las prueba semiempíricas, influyen las dimensiones, forma, orientación del material, el dispositivo utilizado para la aplicación de los esfuerzos, el procedimiento, etc. Dentro de estos instrumentos podemos mencionar: el farinógrafo y amilógrafo para las masas, untómetros para mantequilla, el tenderómetro de dentadura de M.I.T. Este último se utilizó como prototipo para la construcción de una unidad modificada para la medición de textura llamada texturómetro, en el cual se sustituyó la mandíbula por un embolo (superior) y una placa (inferior) y se le acondicionó con varias velocidades de masticación. Este finalmente fue adaptado a la Máquina universal de deformación INSTRON.

#### 1.5.3.1 Análisis de Perfil de Textura

Tunick 2000 define el análisis de perfil de textura como una prueba imitativa en la cual se pretende reproducir el masticado de un producto siendo útil en el proceso de control de calidad y manufactura de alimentos; sin embargo, no determina sus propiedades reológicas.

El TPA por sus siglas en inglés (texture profile analysis), es un procedimiento instrumental para medir, cuantificar y desarrollar nuevos parámetros relacionados con la textura, aunque la magnitud de estos parámetros será influenciada por las variables introducidas en las mediciones como la tasa de deformación y para que ellas puedan proveer información objetiva y que se

pueda comparar es necesario ejecutar las mediciones bajo unas condiciones estandarizadas (Peleg 1976 y Fellows 2000).

El TPA es el ejemplo más notable que correlaciona las pruebas objetivas con valores sensoriales y está favorecida por la forma en que se efectúan las pruebas, su versatilidad y precisión reemplazando las antiguas medidas por medio de paneles sensoriales (Bourne, 1979).

El grupo pionero de General Food Corporation que desarrollo el Texturómetro General Food, generó el llamado análisis de perfil de textura (TPA) que consiste en comprimir un cubo de alimento de 1.2 cm por lado a 25% de su altura original dos veces. Como resultado se obtiene la curva fuerza- tiempo, la cual se muestra en la figura 11.

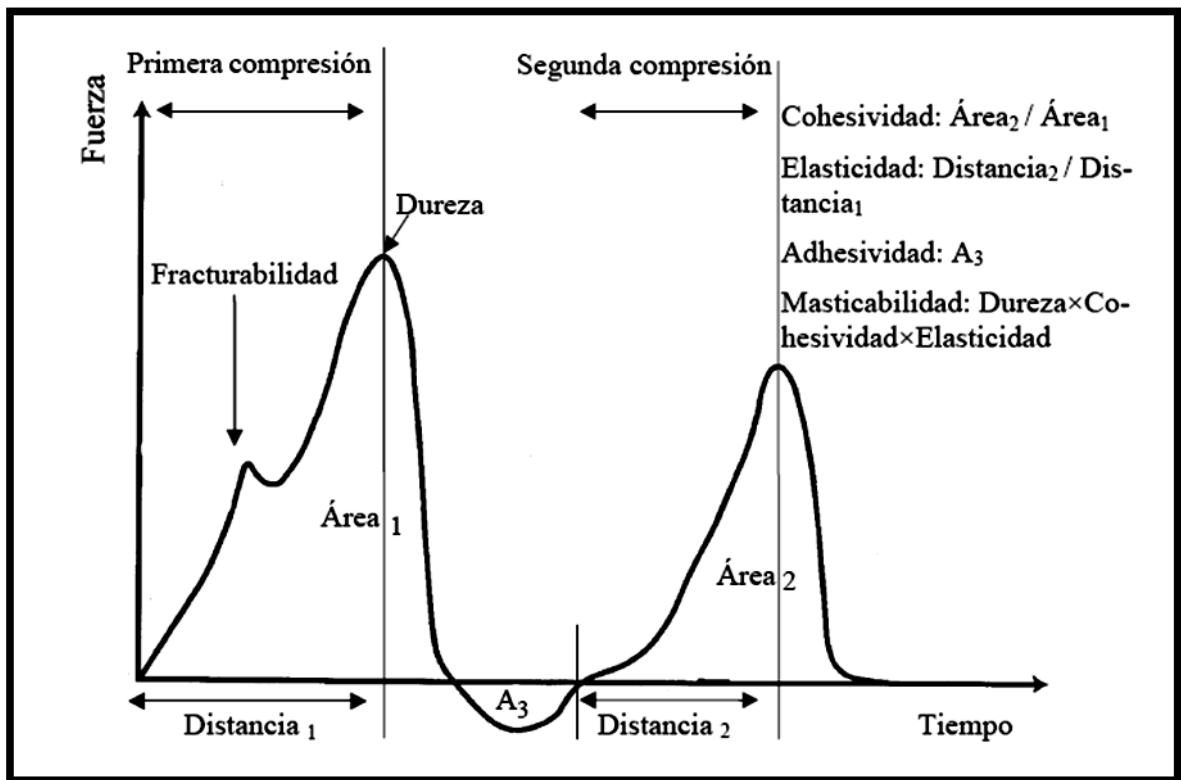


Figura 11. Curva característica del análisis del perfil de textura (Bourne, 1982).

Los parámetros de textura, definidos de acuerdo a Bourne (1978) y Szczesniak (1963) Se determinan en base a la tabla 1 de la siguiente manera:

<b>Parámetro</b>	<b>Definición</b>	<b>Determinación</b>	<b>Unidades</b>
Fracturabilidad	Fuerza necesaria para fracturar la muestra.	Fuerza en la primera ruptura significativa de la muestra.	Newtons (N)
Dureza	Fuerza necesaria para lograr una deformación determinada.	Máxima fuerza durante el primer ciclo de compresión	Newtons (N)
Adhesividad	Trabajo necesario para vencer la fuerza de atracción entre la muestra y una superficie.	Área negativa después del primer ciclo de compresión. Representa el trabajo necesario para separar la superficie del equipo y la muestra.	Joules (J)
Cohesividad	Representa la resistencia de un material a una segunda deformación con relación a cómo éste se comportó en un primer ciclo de deformación.	Relación entre el área positiva del segundo ciclo de compresión (A2) y el área positiva del primer ciclo (A1). Excluyendo la porción de áreas durante la descompresión de la muestra.	Relación A2/A1 (adimensional)
Elasticidad	Capacidad que tiene una muestra deformado para recuperar su forma o longitud inicial después de que la fuerza aplicada es retirada.	El cociente L2/L1	Adimensional Una longitud dividida entre otra longitud.

Gomosidad	Fuerza necesaria para desintegrar una muestra de alimento semisólido a un estado tal que facilite su ingesta.	Producto de la dureza y la cohesividad.	Newtons
Masticabilidad	Fuerza necesaria para masticar un alimento sólido hasta un estado tal que permita su ingesta.	Producto de la dureza, cohesividad y elasticidad.	Newtons

Tabla 1. Definiciones y cálculo de los términos de textura (Bourne, 1968; Szczenniak, 1963).

No hay un estándar internacional para realizar TPA, aunque son muy necesarios (Peleg, 1983). Sin embargo, es importante estandarizar el tamaño y forma de las muestras y mantenerlas constantes durante la prueba (Bourne, 1982).

#### 1.5.4 Métodos Sensoriales

El perfil de textura se define como : “El análisis organoléptico del complejo de la textura de un alimento en y términos de sus características mecánicas, geométricas, de grasa y humedad, el grado de cada característica presente y el orden en que ellas aparecen desde la primera mordida a través de la masticación completa” (Brandt *et al.*, 1963).

Las propiedades o características de textura han sido clasificadas en tres categorías: atributos mecánicos, geométricos y de composición. Los primeros dan una indicación del comportamiento mecánico del alimento ante la deformación, y pueden, a su vez, dividirse en primarios y secundarios. Los primarios son los que se correlacionan con una propiedad mecánica tal como la fuerza, deformación o energía, mientras que los secundarios son los que resultan de la combinación de propiedades primarias (Larmond, 1976).

Los atributos geométricos son aquellos relacionados con la forma o la orientación de las partículas del alimento, como por ejemplo, la fibrosidad, que nos indica la presencia de fibras y su resistencia; o la granulosidad, la cristalinidad, la porosidad, la esponjosidad, etc.

Los atributos de composición son los que aparentemente indican la presencia de algún componente en el alimento, como serían la humedad, la grasosidad, la harinosidad, etc. Todos estos atributos se utilizan para reportar resultados de las evaluaciones de textura tanto instrumentales como sensoriales y para tener una idea más clara de lo que cada atributo describe, se definen algunos de ellos desde el punto de vista físico y sensorial en la tabla 2:

PROPIEDADES	DEFINICIONES	
	Física	Sensorial
Dureza	Fuerza necesaria para una deformación dada.	Fuerza requerida para comprimir una sustancia entre las muelas (Sólidos) o entre la lengua y el paladar (semi-sólidos).
Cohesividad	Que tanto puede deformarse un material antes de romperse.	Grado hasta el que se comprime una sustancia entre los dientes antes de romperse
Viscosidad	Tasa de flujo por unidad de fuerza	Fuerza requerida para pasar un líquido de una cuchara hacia la lengua
Elasticidad	Tasa a la cual un material deformado regresa a su condición inicial después de retirar la fuerza deformante	Grado hasta el cual regresa un producto a su forma original una vez que ha sido comprimido entre los dientes
Adhesividad	Trabajo necesario para vencer las fuerzas de atracción entre la superficie del alimento y la superficie de otros materiales con los que el alimento entra en contacto.	Fuerza requerida para retirar el material que se adhiere a la boca ( generalmente el paladar) durante su consumo
Fragilidad	Fuerza con la cual se fractura un material.	Fuerza con la que un material se desmorona, cruje o se estrella.
Masticabilidad	Energía requerida para masticar un alimento hasta que	Tiempo requerido para masticar la muestra a una tasa



	esté listo para ser deglutido.	constante de aplicación para reducirla a una consistencia adecuada para tragarla.
Gomosidad	Energía requerida para desintegrar un alimento semisólido a un estado listo para deglutirlo.	Densidad que persiste a lo largo de la masticación, energía requerida para desintegrar un alimento semisólido a un estado adecuado para tragarlo.

**Tabla 2. Definiciones físicas y sensoriales de atributos de textura (Larmont, 1976).**

El análisis sensorial es un auxiliar de suma importancia para el control y mejora de la calidad de los alimentos ya que a diferencia del análisis físico-químico o microbiológico, que solo dan una información parcial acerca de alguna de sus propiedades, permite hacerse una idea global del producto de forma rápida, informando llegado el caso, de un aspecto de importancia capital: su grado de aceptación o rechazo por parte del consumidor.

#### 1.5.4.1 Pruebas descriptivas

Las pruebas descriptivas corresponden al grupo de pruebas en el que se provee una descripción cuantitativa completa de los productos evaluados, a través de jueces o panelistas entrenados para dar respuestas objetivas (Stone y Sidel, 2004). Se entrena a los evaluadores durante seis a ocho sesiones en el que se intenta elaborar un conjunto de diez a quince adjetivos y nombres con los que se denominan a las sensaciones. Se suelen emplear unas diez personas por evaluación.

#### 1.5.4.2 Pruebas discriminativas

Las pruebas discriminativas se deben usar cuando un investigador desea determinar si dos o más muestras son perceptiblemente diferentes (Stone y Sidel, 1993). Es posible que dos muestras tengan formulaciones químicamente diferentes, pero la percepción sensorial de las personas sea incapaz de percibir la diferencia.

Las pruebas discriminativas son concebidas como pruebas simples, sin embargo, la teoría asociada a éstas las hace más complejas de lo que se considera inicialmente. Las pruebas discriminativas son ampliamente utilizadas en la academia y en la industria, en los procedimientos de control de calidad, en el estudio del impacto por cambios en la formulación o el proceso, así como en la habilidad de los consumidores para discriminar entre productos similares (Lee *et al.*, 2007).

Existen distintos tipos de pruebas discriminativas; algunas buscan establecer si hay o no diferencia entre dos muestras, independientemente de la razón por la cual se podría generar esta. Por otro lado, también existen pruebas de diferencia que identifican un atributo o característica como la fuente de posible diferencia (dulzura, amargor, etc.). La estrategia cognitiva para cada prueba es diferente, por tanto su eficacia para encontrar diferencias varía, aún cuando la diferencia real entre dos muestras sea constante (O'Mahony y Rousseau, 2002).

#### 1.5.4.2.1 Pruebas de preferencia

Se emplean para definir el grado de aceptación y preferencia de un producto determinado por parte del consumidor. Para estas pruebas se requiere de un grupo bastante numeroso de panelistas los cuales no necesariamente tienen que ser entrenados ya que es una prueba orientada al consumidor.

En la prueba de preferencia pareada se le presenta al panelista dos muestras codificadas y se le pide que mencione cuál de las dos muestras prefiere y para que sea más representativa se le puede pedir que exponga sus razones sobre la decisión tomada. Para este tipo de pruebas se requiere de por lo menos cincuenta panelistas. (Jellinek, 1990). Es necesario que el grupo de panelistas tenga características similares a la población que está dirigida el producto (Watts, *et al.*, 1992)

## CAPÍTULO 2

### DESARROLLO EXPERIMENTAL

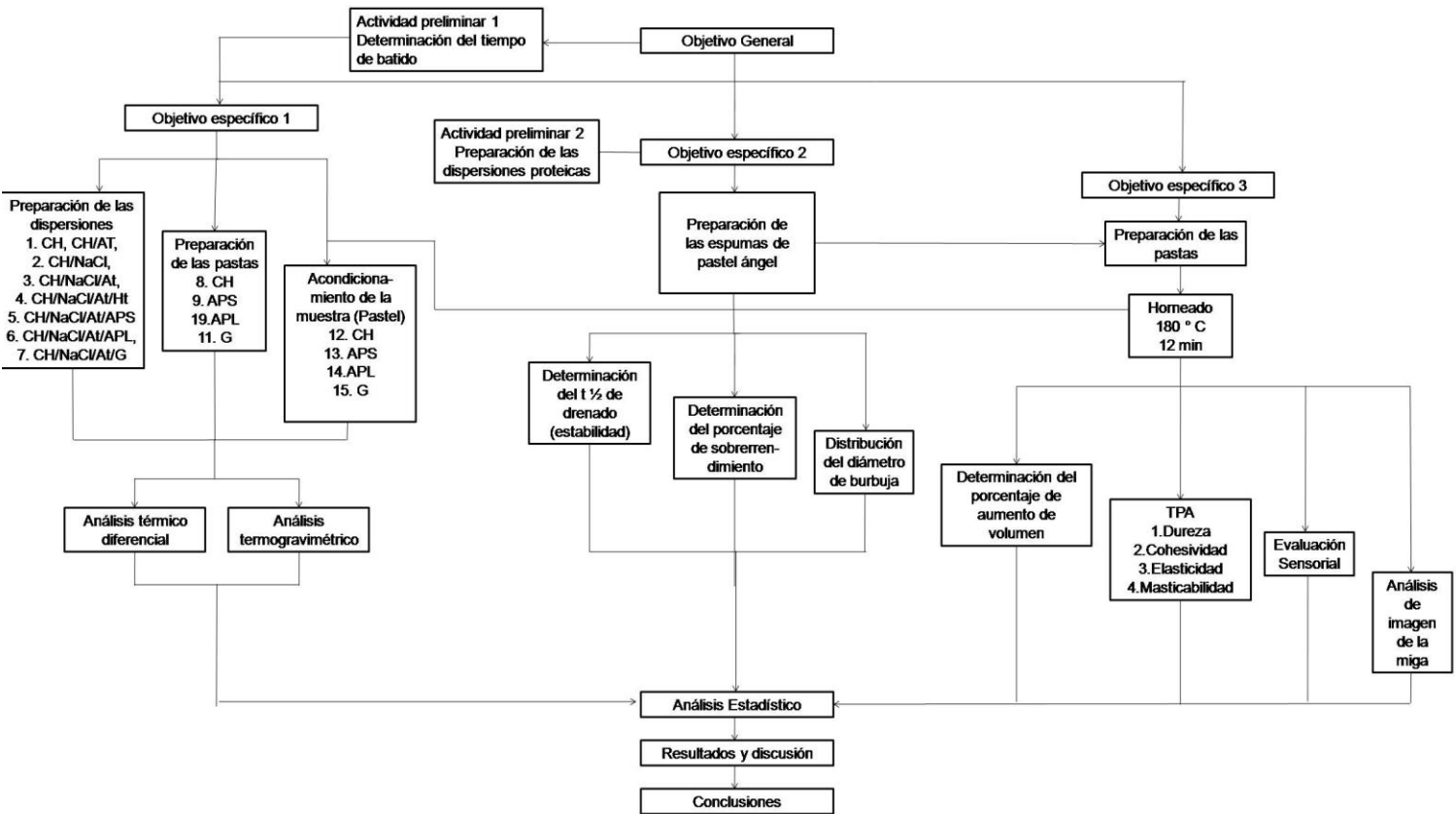


Figura 12. Cuadro metodológico.

## 2.1 Materiales

Se emplearon los siguientes materiales: el aislado proteico de soya (ISP) SUPRO-590y ácido tartárico (Química Aldich, México). La proteína aislada de suero de leche (95% proteína) (BiPro, Davisco Foods International Inc. México) y la grenetina de cerdo tipo A 250 ° Bloom (Gelita de México de S.A de C.V). La clara de huevo separada proveniente de huevos marca El calvario (pH 7,6 a 8,5), harina de trigo marca Selecta, sal marca La fina y el azúcar glass marca Dulza mia

## 2.2 Objetivo General

Evaluar las interacciones proteína-proteína (clara de huevo- soya, suero de leche y grenetina) en una espuma sólida, mediante la realización de un estudio térmico diferencial y termogravimétrico, pruebas a la espuma (estabilidad, capacidad espumante, diámetro de burbuja) y al pastel (textura, volumen final, imagen y sensorial) con el fin de identificar el efecto ya sea aditivo, sinérgico o antagonista de la combinación de éstas, sobre las propiedades de la espuma.

### Actividad preliminar 1. Determinación del tiempo de batido

Con el fin de seleccionar el tiempo de batido en el cual se obtuviera la espuma de pastel ángel más estable se prepararon 5 muestras de la formulación testigo a 5 diferentes tiempos de batido (3,4,5,6,7 min) en base a la siguiente formulación:

Ingrediente	%
Clara de Huevo	84.4
Azúcar	14.211
Acido tartárico	1.033
Sal	.344

Tabla 3. Formulación espuma testigo de pastel ángel.

Se batieron las claras junto con el ácido tartárico y la sal, utilizando una batidora Kitchen Aid Modelo Artisan con un plato fijo 4,3 L y la rotación de los batidores en la velocidad de 8 (730 rpm) (Yang, 2008). Se añadió cuidadosamente el 25% de azúcar de la formulación (41.25 g) al transcurrir 2 minutos de batido.

Para definir el tiempo de batido se evaluó la estabilidad de las espumas por medio del método de goteo en el cual se pesaron 10 g de espuma para cada muestra y se colocaron en un embudo. Dicho embudo se sostuvo con unas pinzas de tres dedos montadas en un soporte universal. Se contó el tiempo en el que cayeron 5 g de líquido en un recipiente colocado en una balanza analítica (OHAUS Precision advanced  $\pm 0.0001$  g) (Phillips *et al.*, 1989). El tiempo necesario para que la mitad de la masa drenara se registró como el tiempo medio de drenado. Esta prueba se llevó a cabo a las 5 muestras sometidas a los diferentes tiempos de batido, por triplicado.

### 2.2.1 *Objetivo específico 1*

Evaluar el comportamiento térmico de las proteínas de clara de huevo con el aislado de soya, aislado de suero de leche, grenetina y los componentes del sistema mediante un análisis térmico diferencial y termogravimétrico con el fin de conocer el efecto de cada componente en los mecanismos de interacción y estabilidad térmica de las mezcla proteicas en estudio.

**Variables independientes:** Temperatura, tiempo.

**Variables dependientes:** Área de la endoterma (entalpía de desnaturalización), pérdida de peso.

**Variables de respuesta:** Grado de desnaturalización de los biopolímeros, capacidad de retención de agua.

#### 2.2.1.1 Análisis termogravimétrico y térmico diferencial

Las dispersiones de aislado proteico de soya, aislado proteico de suero de leche y grenetina se prepararon a un 10% de concentración proteica. El agua destilada se colocó en un vaso de precipitados con un agitador magnético. Las

proteínas en polvo se mezclaron con agua destilada bajo agitación a 50° C para facilitar la dispersión. La formulación para las soluciones fue la siguiente:

Para 100 g:

Agua destilada 90 g

Proteína 10 g

Las dispersiones se dejaron reposar de 10 a 16 horas a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C) antes de su utilización para asegurar su hidratación total (Yang, 2008).

Para conocer si se presentaban interacciones entre las proteínas y los componentes de la formulación con las proteínas en estudio fue necesaria la evaluación de cada componente por separado en el analizador térmico.

Para conocer la estructura proteica termodinámicamente, se requirió la medición de las temperaturas y entalpias de desnaturalización de las proteínas de clara de huevo con el fin tener un termograma patrón del cual partir para realizar el análisis posterior. Debido a que en el proceso las proteínas se desnaturalizan tanto por los ingredientes (sal y ácido tartárico) como por las interacciones inter o intramoleculares, fue necesario evaluar la mezcla con cada ingrediente de la formulación para así verificar el efecto de la temperatura en dichas interacciones y desnaturalización de las proteínas.

Las muestras fueron sometidas a un DTA-TGA simultáneo en el SDT. Éstas se prepararon de acuerdo al siguiente orden y formulación:

1. Clara de huevo
2. Clara de huevo con ácido tartárico
3. Clara de huevo con sal
4. Clara de huevo con ácido tartárico y sal
5. Clara de huevo con ácido tartárico, sal y harina de trigo
6. Clara de huevo con ácido tartárico, sal y dispersión proteica de APS al 25 %
7. Clara de huevo con ácido tartárico y dispersión proteica de APL al 25 %
8. Clara de huevo con ácido tartárico y dispersión proteica de grenetina al 25 %
9. Espuma (formulación testigo, CH)
10. Espuma con solución proteica de grenetina (G)

11. Espuma con solución proteica de aislado proteico de soya (APS)
12. Espuma con solución proteica de aislado proteico de suero de leche( APL)
13. Pastel testigo (CH)
14. Pastel con solución proteica de grenetina (G)
15. Pastel con solución proteica de aislado proteico de soya (APS).
16. Pastel con solución proteica de aislado proteico de suero de leche( APL)

La formulación de las muestras 1-8 se presenta a continuación:

<b>Muestra</b>	<b>Clara (%)</b>	<b>Acido Tartárico (%)</b>	<b>Sal (%)</b>	<b>Harina (%)</b>	<b>APS (%)</b>	<b>APL (%)</b>	<b>G (%)</b>
1. CH	100						
2. CH/AT	99.87	0.13					
3. CH/NaCl	99.59	.406	0.2				
4. CH/NaCl/At	98.39	1.2	0.401				
5. CH/NaCl/At/Ht	73.12	0.89	0.29	25.67			
6. CH/NaCl/At/APS	73.79	1.2	0.401		24.59		
7. CH/NaCl/At/APL	73.79	1.2	0.401			24.59	
8. CH/NaCl/At/G	73.79	1.2	0.401				24.59

**Tabla 4. Formulación de las muestras a evaluar mediante análisis térmico diferencial y termogravimétrico.**

El pH se determinó mediante un medidor de pH para las muestras (1-8). Se descartó la medición de pH a las espumas ya que se verificó que no había cambios perceptibles en esta propiedad.

Para las muestras de pastel ángel fue necesario acondicionar la muestra, triturando la miga con un rallador de acero inoxidable.

Las muestras fueron pesadas en la balanza integrada en el equipo (entre 0.5 a 10 mg por muestra) en charolas de acero inoxidable tal y como se muestra en la figura 12.

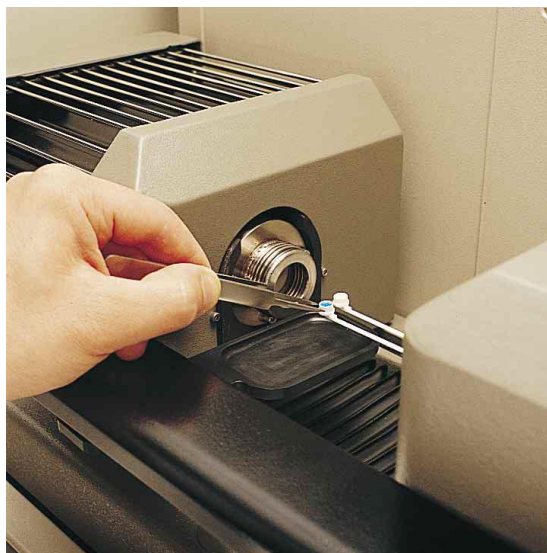


Figura 13. Carga de la muestra en el brazo de la balanza del SDT 2960 Simultaneous DSC-TGA.

En la computadora, conectada al equipo, se estableció el programa de calentamiento de 30 a 200 °C a una velocidad de 10°C/min. Los datos de diferencial de temperatura y pérdida de peso fueron obtenidos con el programa Thermal Advantage. Posteriormente estos datos se importaron al programa Sigma Plot, en el cual fueron graficados.

### 2.2.2 *Objetivo específico 2*

Caracterización de las espumas proteicas (capacidad espumante,  $t_{1/2}$  de drenado, diámetro de burbuja) para determinar el efecto de la adición de las proteínas en la estabilidad y rendimiento de la espuma.

**VARIABLES INDEPENDIENTES:** Tipo y concentración de proteína.

**VARIABLES DEPENDIENTES:** Volumen final de la espuma,  $t_{1/2}$  de drenado, diámetro de burbuja.

**VARIABLES DE RESPUESTA:** Viscosidad, grosor de la lamela, distribución de diámetro de burbuja cantidad de aire introducido a la espuma.

#### **Actividad preliminar 2. Preparación de las dispersiones proteicas.**

Las dispersiones APS, APL y G se prepararon de la misma forma que en la actividad 2.2.1.1 descrita anteriormente.

##### 2.2.2.1 Preparación de las espumas de pastel ángel



Se utilizó el método explicado anteriormente para la elaboración de la espuma base de pastel ángel. En el caso de las muestras añadidas con APS, APL y G se reemplazó el 25% del peso de la clara de huevo (12.25 g) con las dispersiones proteicas al 10%, preparadas en la actividad preliminar 2.

#### 2.2.2.2 Determinación del tiempo ½ de drenado (estabilidad)

Se evaluó la estabilidad de las espumas conforme al método de goteo descrito en la actividad preliminar 1 determinándose el tiempo medio de drenado de todas las muestras por triplicado.

#### 2.2.2.3 Determinación de la capacidad espumante

La capacidad espumante se evaluó en términos del porcentaje de sobrerrendimiento. Se pesó un volumen de 100ml de la muestra líquida (Phillips *et al.*, 1987). Después del batido se recogió una muestra de la espuma con cuidado en un recipiente graduado, se estabilizó el nivel con una espátula de goma, y se pesó. Este proceso se repitió tres veces por cada muestra de espuma. La media de 3 pesos se introdujo en los cálculos siguientes:

$$\ll \text{sobrerrendimiento} \gg = \frac{\text{Peso de 100 ml de líquido inicial} - \text{Peso de 100 ml de la espuma}}{\text{Peso de 100 ml de la espuma}} \times 100$$

#### 2.2.2.4 Distribución del diámetro de burbuja

Un microscopio electrónico (Motic - BA400), fue utilizado con el fin de ampliar las imágenes de las espumas. Una foto digital fue tomada a través del puerto de visión del microscopio mediante el uso del dispositivo de captura digital de imágenes videomicroscópicas Moticom 1000. Se tomaron 10 fotos para cada muestra en las que se midió la circunferencia de 30 burbujas tal como se observa en la figura 14, por medio del Software Motic Images, obteniendo un total de 300 datos por muestra. Posteriormente se obtuvo el diámetro de burbuja y

se graficaron los resultados obtenidos para la distribución de diámetros de burbuja en cada una de las muestras.

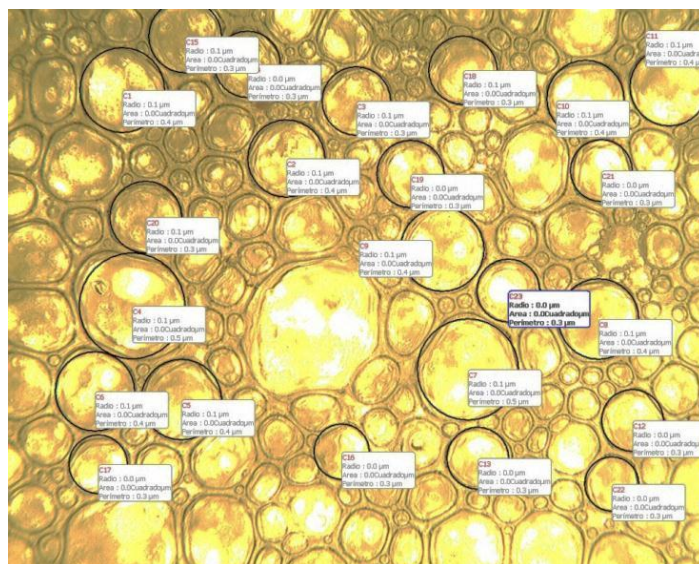


Figura 14. Imagen obtenida por el dispositivo de captura digital de imágenes Moticam.

### 2.2.2 Objetivo específico 3

Evaluar el efecto de la adición de las proteínas de aislado de soya, aislado de suero de leche y gnetina por medio de la caracterización de la espuma sólida mediante pruebas texturales, de aumento de volumen, sensoriales y de imagen de la miga.

**Variables independientes:** Tipo y concentración de proteína.

**Variables dependientes:** Retención de gas, estabilidad térmica de las proteínas, retención de agua y volumen final del pastel.

**Variables de respuesta:** Estabilidad térmica de proteínas, dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, preferencia de los panelistas y número de objetos.

#### 2.2.3.1 Determinación del porcentaje de aumento de volumen

Se utilizó el método descrito anteriormente para la elaboración de las espumas base de pastel ángel, con la diferencia de que después de los 5 minutos de tiempo de batido se añadió el azúcar y la harina restante con una espátula de goma mezclando en forma envolvente para destruir al mínimo la estructura de la espuma. (Morr, 2002). En el caso de las muestras añadidas con APS, APL y

G se reemplazó el 25% como se señaló anteriormente. La formulación de cada una de los pasteles se presenta en la tabla 5:

Ingrediente	CH (%)	APS (%)	APL (%)	G (%)
Clara de Huevo	49		36.75	
Azúcar	33		33	
Harina	17.2		17.2	
Solución de proteína	0		12.25	
Acido tartárico	0.6		.6	
Sal	0.2		.2	

Tabla 5. Formulación de la espuma para preparar el pastel ángel.

A continuación se presenta el diagrama de proceso para la elaboración del pastel ángel:

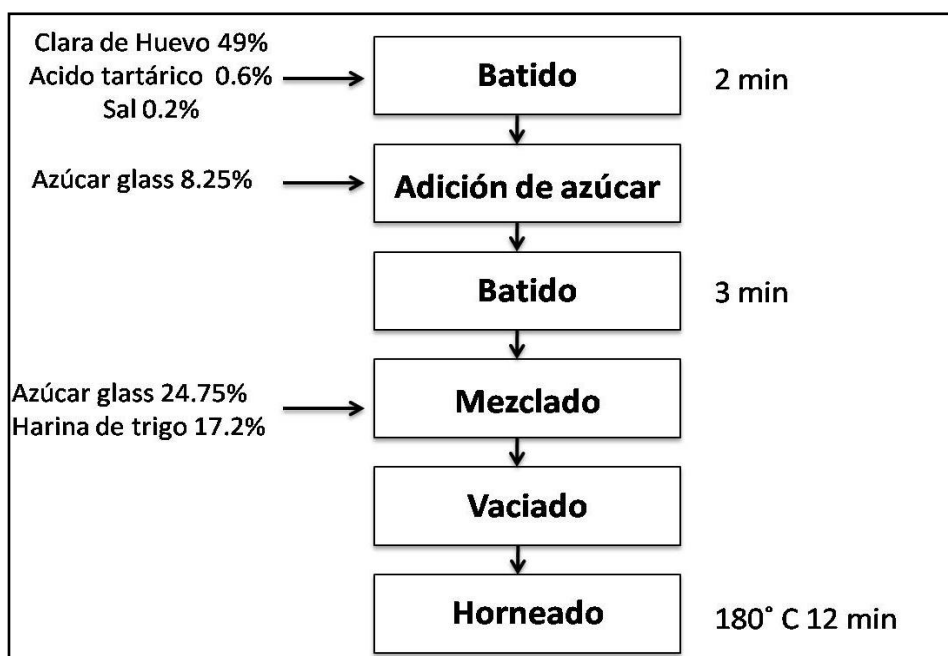


Figura 15. Diagrama de proceso de la elaboración del pastel ángel.

La espuma de cada formulación se colocó en un vaso de precipitados de 250 ml, llenándolo hasta la marca de 50ml y se horneó a una temperatura de

180 °C durante 12 min. El aumento de volumen del pastel se midió de acuerdo a la altura en mm que el pastel aumentó después del tiempo de horneado; lo cual se realizó con una regla observando a través del cristal del vaso de precipitados. Para determinar el porcentaje y sabiendo que la altura original de la espuma era de 1.1 cm, el valor medido, se introdujo en los cálculos siguientes:

$$\% \text{ de aumento de volumen} = \frac{\text{valor medido(mm)}}{.011 \text{ mm}} * 100$$

#### 2.2.3.2 Análisis de perfil de textura

Una prueba de TPA (Análisis de perfil de textura) se realizó a las 4 muestras de pastel ángel. Éstas, fueron cortadas en rebanadas con un grosor de 1.5 cm. Las pruebas texturales se realizaron en un Texturómetro TA-XT2i para las cuales se utilizó un cilindro de 6 mm de diámetro con una velocidad de prueba de 1.7 mm/s y una distancia de penetración de 10 mm.

En la figura 16 se muestra una curva de TPA obtenida para el pastel ángel, en la cual se señalan los valores y distancias utilizadas en el cálculo de los parámetros de textura tales como la cohesividad, elasticidad y masticabilidad.

Como se puede observar en la figura 16 la dureza es la fuerza máxima obtenida durante el primer ciclo de compresión. La elasticidad se obtuvo a través de la relación de entre las distancias del primer y segundo ciclo de compresión (longitud 4-5/longitud 1-2), la cohesividad a partir de la relación entre las áreas de compresión (área 4-6/área 1-2), y la masticabilidad mediante el producto de los parámetros de dureza, cohesividad y elasticidad.

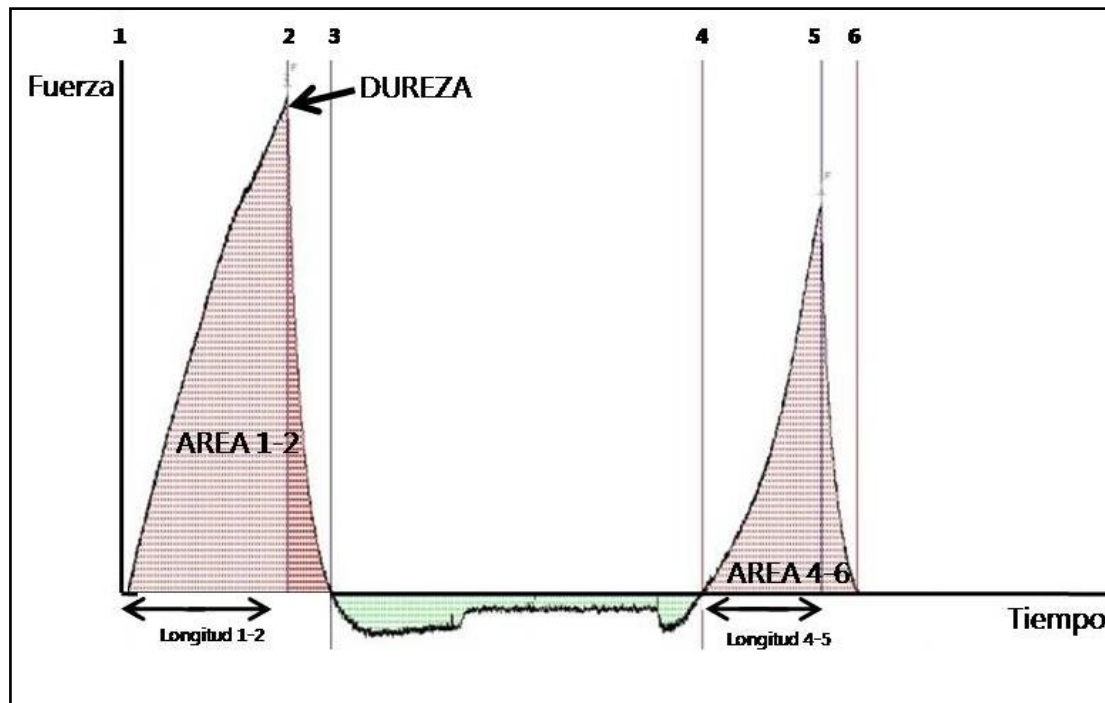


Figura 16. Curva de TPA de pastel ángel obtenida en el texturómetro Texture analyzer TA-XT2i.

### 2.2.3.3 Prueba sensorial

Las 4 formulaciones fueron evaluadas con un panel de cien personas con un rango de edad entre 15 y 25 años, de ambos sexos. Para este ensayo se utilizó el test discriminatorio de preferencia. En ésta prueba los panelistas seleccionaron entre las muestras, indicando si preferían una muestra sobre las otras. El uso de la opción de "no prefiero ninguna" no se utilizó ya que reduciría el poder estadístico de la prueba pues se haría necesaria una mayor diferencia en las preferencias para poder obtener significancia estadística. Las muestras se presentaron en recipientes idénticos codificados con números aleatorios de 3 dígitos.

### 2.2.3.4 Análisis de imagen de la miga

Seis pasteles con un diámetro de 60 mm, se cortaron en 3 rebanadas con grosor de 1 cm. Posteriormente se capturaron las imágenes para cada rebanada con una cámara digital Sony DSC W100, contando con 18 repeticiones por cada muestra (Crowley *et al.*, 2000).

Obtenidas las imágenes se mejoró su contraste por medio de la función Enhance del programa Image PRO. Asimismo, el análisis de la miga se realizó mediante la función Measure count/size. El primer paso consistió en segmentar las imágenes por medio de la técnica *thresholding* que como se puede observar en la figura 17, consiste en elegir un nivel de gris en la imagen original, posteriormente se contrastan los objetos en estudio. En este caso se aplica este umbral para diferenciar el área de la celda del pastel. De este proceso resulta una imagen binaria (de dos niveles). Se utilizaron los colores blanco y negro para distinguir ambas regiones.

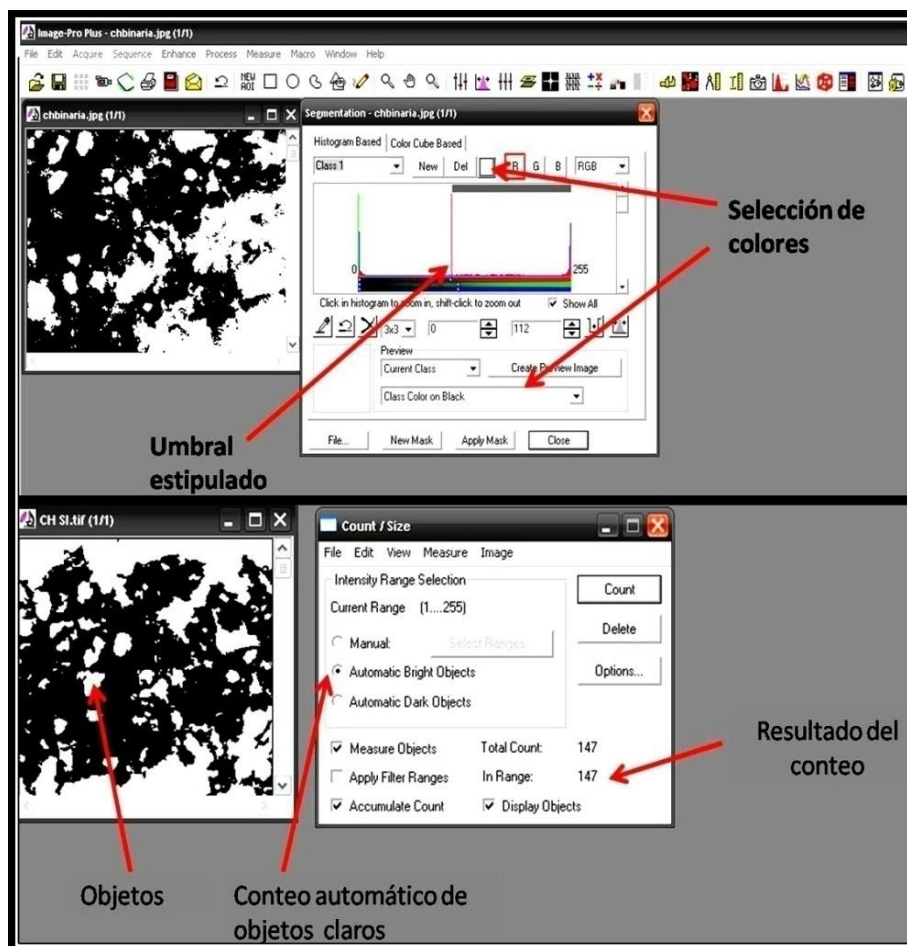


Figura 17. Conversión a imagen binaria y conteo de objetos por el programa Image Pro.

Posteriormente, las regiones seleccionadas son reconocidas por el programa como número de objetos (celdas) los cuales se cuantificaron para evaluar la cantidad de gas atrapado durante el horneado.

### **2.3 Análisis estadístico**

Los resultados de las pruebas (tiempo de batido, tiempo  $\frac{1}{2}$  de drenado, % de sobrerrendimiento, aumento de volumen y no. de objetos), se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) el cual se llevó a cabo para determinar si existía diferencia estadística entre los tratamientos por medio del programa MINITAB 14 con un nivel de significación del 5%.

# CAPÍTULO 3

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Análisis térmico diferencial y termogravimétrico

Para la realización de este estudio, inicialmente se obtuvieron los termogramas para las muestras proteicas de clara de huevo y su mezcla con cada uno de los componentes de la formulación.

La técnica de análisis térmico diferencial es eficiente para el estudio de desnaturalización de proteínas debido a que proporciona información acerca de las transformaciones en la estructura macromolecular. En el análisis térmico se nos permite conocer a que temperatura las proteínas se desnaturalizan y el intervalo de temperaturas en el cual sucede dicha transformación.

Durante el proceso de desnaturalización se pierden las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria, sin que haya una hidrólisis del enlace peptídico; es decir, los enlaces principalmente afectados son los de hidrógeno, los hidrófobos y los iónicos y, en ocasiones, los disulfuro. Cuando una proteína sufre la ruptura de las uniones disulfuro que estabilizan su estructura terciaria es difícil que regrese a su estado natural; pero en ocasiones el proceso puede ser reversible. Es sabido que existe una relación entre la estructura y las propiedades funcionales de una proteína dada (Damadoran, 1989), y que la conformación proteica es afectada por el tratamiento térmico. El efecto del calor implica un cambio en la estructura terciaria, dando lugar a un arreglo menos ordenado de la estructura polipeptídica.

En el caso particular de este estudio, las proteínas se someten a operaciones que provocan una alteración de sus proteínas durante el proceso: la intensidad de la desnaturalización por los procesos mecánicos y las altas temperaturas ejercen un efecto muy marcado, donde influyen notoriamente el pH, el tipo y la concentración de la proteína, la cual favorece la interacción polipéptido-polipéptido. En la figura 18 se puede observar que todas las muestras presentan un comportamiento similar; una curva cóncava. La punta de la curva o pico en cada uno de los casos es una señal que muestra el efecto de la aplicación de energía térmica a las proteínas, en este punto es cuando se observa la



temperatura de desnaturalización que por definición es cuando la mitad de las moléculas se encuentra en estado desnaturalizado  $T_m$  (temperatura de melting) (Badui, 2006).

Las endotermas revelan que se está llevando a cabo un proceso de termodesnaturalización cuyos mecanismos involucrados son varios y complejos e involucran principalmente a los enlaces no covalentes. En este proceso las interacciones hidrofóbicas se refuerzan a medida que se lleva la temperatura por arriba de los 60-70°C, las otras interacciones no covalentes se debilitan y la entropía conformacional va disminuyendo al irse desordenando la cadena polipeptídica y la temperatura de desnaturalización se alcanza cuando la suma de energías libres de todos los procesos es igual a 0. (Badui, 2006). De este modo, el área comprendida por la endoterma corresponde a la entalpia de desnaturalización, es decir entre mayor sea esta área, mayor la energía requerida para que la proteína sufra esta transformación.

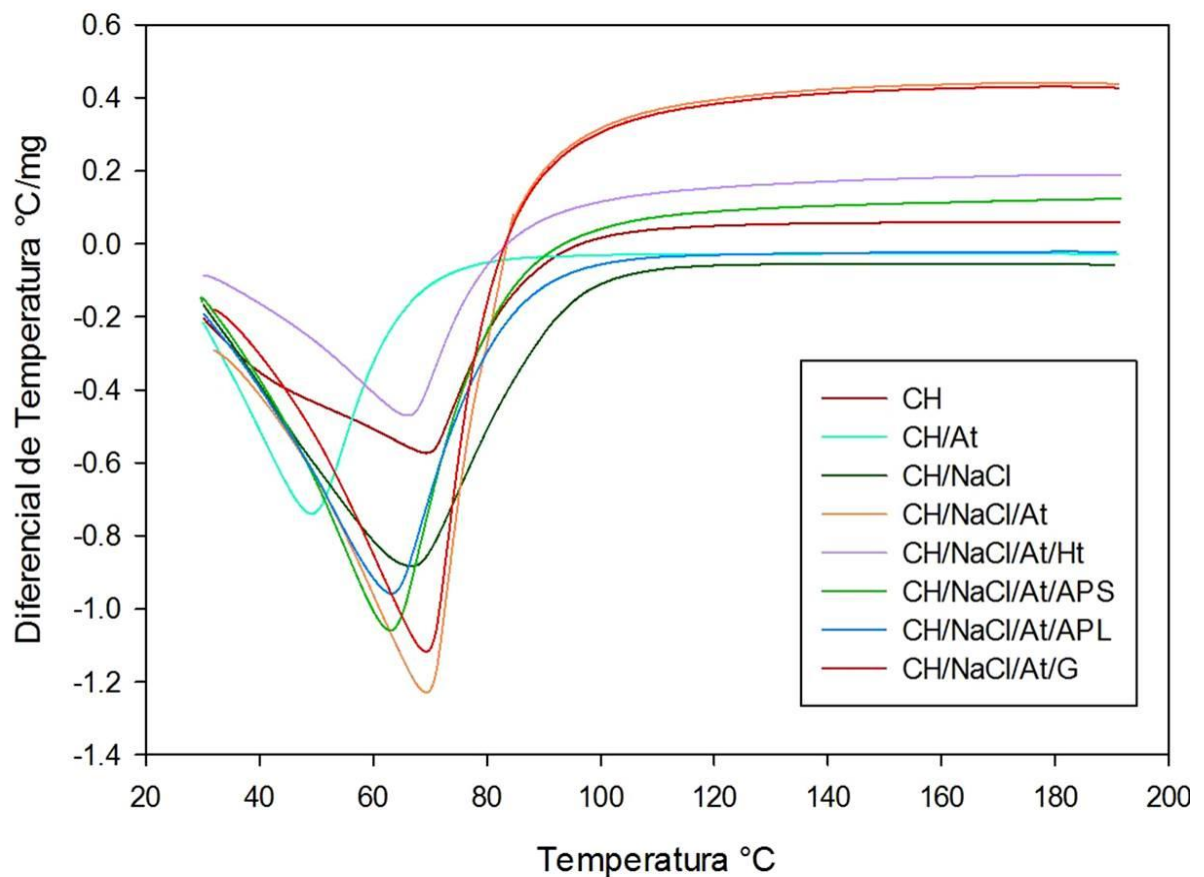


Figura 18. Termograma diferencial de las proteínas de clara de huevo y su mezcla con los ingredientes de la formulación.

Como se observa en la figura 18 la muestra con menor estabilidad térmica es la de clara de huevo con ácido tartárico ya que el pico de la curva es el primero a una temperatura de 49° C, lo cual indica que desde el momento en que se le agrega el ácido a la proteína, ésta cambia su conformación, se ioniza y produce una repulsión electrostática intramolecular; el rechazo entre grupos vecinos cargados hace que la proteína se desdoble y pierda su estructura con mayor facilidad.

Es importante señalar que la mezcla con temperatura de desnaturalización mayor fue la muestra de clara de huevo (color vino) ya que el pico de esta curva es el último de todos los casos (70°C). Se sabe que la clara de huevo tiene más de 40 diferentes proteínas, de las cuales la mayor parte corresponde a la ovoalbúmina (54%) y la conalbúmina (13%) (Powrie, 1976). Se ha reportado que a pH 7, la conalbúmina se desnaturaliza a 65°C y la ovoalbúmina a 84°C (Stadelman y Cotterill, 1973). Dado que en este gráfico solo se presenta un pico se puede deducir que la señal que el equipo detecta de las proteínas es global y que la temperatura de desnaturalización del conjunto es de 70°C.

Cabe resaltar que la curva anterior tiene una menor amplitud que la de clara de huevo con NaCl lo que significa que en esta última la desnaturalización se lleva a cabo en un intervalo mayor de temperatura. Se cree que esto es generado por la adición de NaCl ya que se ha reportado que para proteger a una proteína en medio acuoso de la desnaturalización térmica se recurre a la adición de concentraciones moderadas de NaCl. (Badui, 2006). Esto sucede debido a que se mantiene la estructura cuaternaria de las proteínas por más tiempo, los iones formados por la disociación de la sal al disolverse en la matriz acuosa bloquean de un modo muy eficaz la formación de enlaces intermoleculares, incluso con baja concentración, e impiden así la transición de la proteína a un nuevo complejo.

Posteriormente, en el grado de estabilidad térmica se encuentra la muestra de clara de huevo con ácido tartárico y sal (69°C). Aunque existe una diferencia mínima entre la temperatura de desnaturalización con respecto a la de clara de huevo, se puede observar un cambio notable en el área de la endoterma de ambas muestras ya que la pendiente de la segunda es mucho más pronunciada lo que indica que la pérdida de la estructura nativa sucede con una rapidez mucho mayor, pues el proceso de desnaturalización se da en un

intervalo más corto de temperatura. Este efecto se atribuye a la presencia de cloruro de sodio y ácido tartárico, puesto que causan un efecto sinérgico protector de la estructura proteica, el ácido produce el despliegue de la proteína y se producen interacciones electrostáticas de las sales con los residuos de aminoácidos cargados estabilizando dicho plegamiento (Biswas y Haydon, 1962; Graham y Phillips, 1989.), de este modo a pesar de tener casi la misma temperatura de desnaturalización se necesita una mayor cantidad de energía para desnaturalizarla ya que la conformación tridimensional es estabilizada por la sal.

En este orden de acuerdo a estabilidad térmica se encuentra la muestra con grenetina. La estabilidad térmica de la ovoalbúmina se ve afectada por la presencia de grenetina en la mezcla lo que indica que si existe una fuerte interacción entre estas proteínas (Harwalker y Ma, 1996), sin embargo presenta un comportamiento muy similar. Se puede suponer que esto se debe a la estructura molecular de la grenetina ya que al no ser una proteína nativa, por haber sido sometida a tratamientos alcalinos o ácidos en el proceso de extracción a partir del colágeno ya ha sido desnaturalizada por lo tanto su estructura es más flexible y requiere menor cantidad de energía para desnaturalizarse que las proteínas de clara de huevo.

En contraste, la mezcla con grenetina supera en estabilidad térmica a la proteína de soya y de suero de leche puesto que posee en su estructura cuaternaria triples hélices, que son más difíciles de desnaturalizar por el calor que las estructuras globulares (Zhongkai y Guoying, 2005). Asimismo tiene una conformación libre de enlaces disulfuro por que no posee cistina y esto incrementa la estabilidad ya que los péptidos con baja cantidad de este aminoácido son menos propensos a desarrollar una aglomeración sulfhídrica. La estabilidad térmica de la grenetina también se debe a su resistencia ante el despliegue de su estructura terciaria por el alto contenido de prolina e hidroxiprolina. En una cadena libre de prolina, la posibilidad de formar enlaces intramoleculares es mayor que en una cadena que si contiene este aminoácido (Deman, 1999).

A continuación se encuentran las muestras con APS y APL. Dicho orden de estabilidad, no se debe a la temperatura de desnaturalización que es la misma en ambas muestras (69°C) sino a que la curva de la primera posee una mayor área. Se deduce que la muestra con APS obtuvo menor estabilidad pues

la fracción 11 s tiene un gran potencial de formar enlaces disulfuro (Shimada y Cheftel, 1988; Koshiyama, 1971; Utsumi y Kinsella, 1985), los grupos sulfhidrilo generan interacciones covalentes irreversibles entre las proteínas de soya y clara de huevo. La fracción 7s contiene cuatro grupos sulfhidrilo que participan en dos enlaces disulfuro intramoleculares, mientras que la fracción 11s tiene 48 grupos sulfhidrilo, muchos de los cuales interaccionan enlazándose mediante las subunidades básicas y ácidas de las proteínas presentes (Koshiyama, 1971; Hermansson, 1978).

Se puede afirmar que la muestra con APL fue la más inestable ya que las proteínas del suero de leche son muy sensibles a temperaturas altas pues se ha comprobado que son las primeras proteínas de la leche en desnaturizarse al aplicar energía térmica (Badui, 2006), además esta proteína contiene residuos de cisteína y por ello contiene grupos sulfhidrilo libres que como se mencionó anteriormente favorecen la termodesnaturalización y generan la asociación intermolecular por medio de un intercambio sulfhidrilo-disulfuro (DeMan, 1999).

Sucesivamente se encuentra la muestra de clara de huevo con harina de trigo, la cual tiene una  $T_d$  de 65°C, y un área mucho menor que las muestras anteriores. Se cree que esto es debido a la presencia de harina de trigo la cual está constituida en su mayoría de polisacáridos principalmente almidón, el cual tiene gran capacidad para enlazar las moléculas de agua mediante la aplicación de calor, por ello menos proteínas interaccionan con el agua y tienden a formar enlaces proteína-proteína aumentando la velocidad del proceso de desnaturización.

En la figura 19 se puede observar la respuesta que cada muestra obtuvo en la pérdida de peso con respecto a la temperatura aplicada. Por medio de este termograma podemos saber el porcentaje de masa que se pierde y elucidar el grado de interacción que las moléculas del sistema tienen con las moléculas de agua.

Todas las muestras obtuvieron un comportamiento similar a excepción de la muestra con harina de trigo. Se cree que esto sucedió debido a la presencia de almidón, ya que al llegar a su temperatura de gelatinización (55°C-65°C) cambia de una forma semi-cristalina a una forma eventualmente amorfa (Tester y Debon, 2000), los puentes de hidrógeno de la región amorfa del gra-

nulo se rompen permitiendo que el agua se asocie con los grupos hidroxilos libres dando lugar al hinchamiento del granulo. El gránulo se expande al mismo tiempo que los polímeros se hidratan, debido a ello el agua es retenida, lo cual causo el menor porcentaje de pérdida de peso para esta muestra.

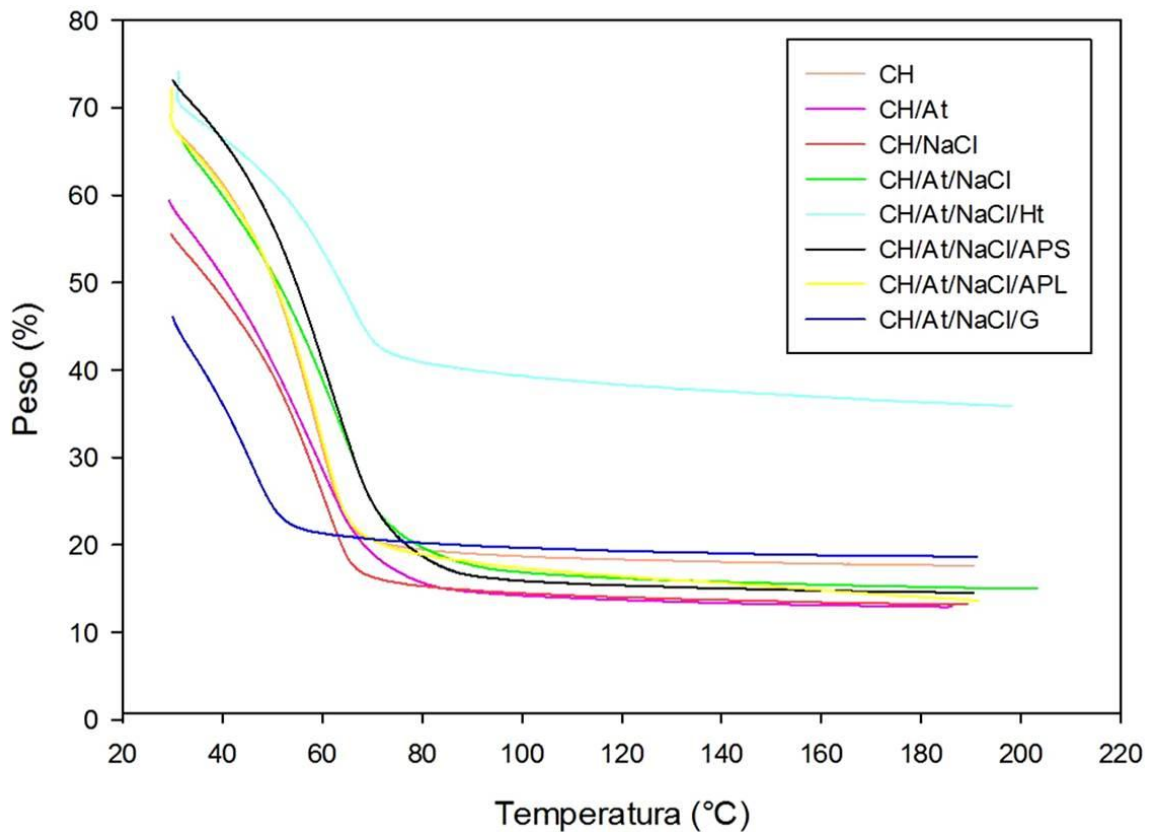


Figura 19. Termograma de pérdida de peso de las proteínas de clara de huevo y su mezcla con los ingredientes de la formulación.

Como se puede observar la muestra que se deshidrata con mayor rapidez es la que contiene grenetina, y que las demás empiezan a deshidratarse a los 65°C, lo cual significa que son más estables a la temperatura pero menos capaces de retener el agua. Se puede suponer que este efecto es causado por la naturaleza molecular de la grenetina ya que además, por su naturaleza hidrocoloide con alta capacidad de retención de agua tiene una mayor cantidad de grupos hidrofílicos expuestos que las otras proteínas.

A esta muestra le sigue la de clara de huevo; posteriormente se encuentra la muestra que contiene At y NaCl. Se cree que esto es debido al despliegue de la proteína causado por la presencia de ácido tartárico, lo cual genera

que tenga una mayor área superficial, y también a la presencia de sal soluto que incrementa la capacidad de ligar agua (Badui, 2006)

A continuación se encuentra la muestra que contiene APS, la cual resulta con mayor capacidad de ligar agua pues su estructura no se desnaturaliza con la misma rapidez que la del suero de leche, por lo cual es capaz de retener el agua por más tiempo.

En este orden continúan las muestras clara de huevo con ácido tartárico, y con sal, ambas muestras exhiben un comportamiento muy similar, sin embargo la muestra con cloruro de sodio se deshidrata a una temperatura mayor, esto por el efecto protector que causan los iones salinos como se ha señalado anteriormente.

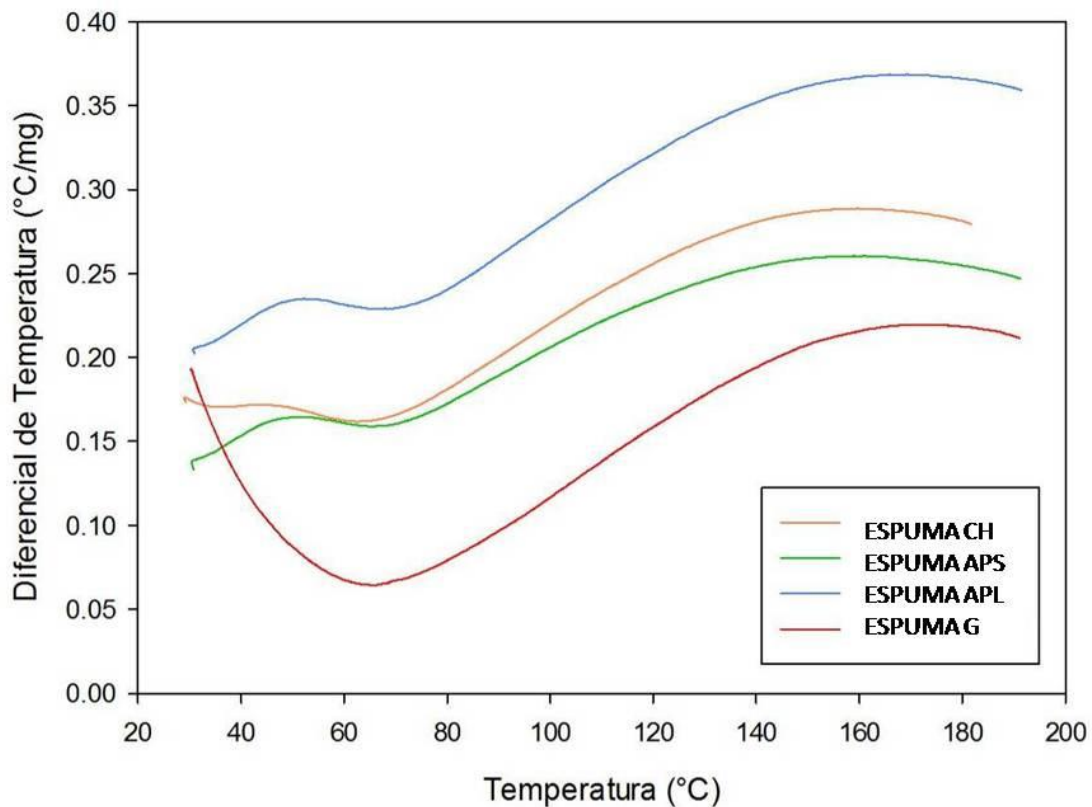


Figura 20. Termograma diferencial de la espuma testigo de pastel ángel y las añadidas con proteínas.

En la figura 20 se presenta el termograma de las espumas en estudio. Para la formación de la espuma, las proteínas ya han sido procesadas con los diferentes ingredientes de la formulación (sal, ácido tartárico, harina y azúcar), es por ello que muestran un comportamiento muy distinto al de las muestras

anteriores. La presencia de azúcares en mezclas de biopolímeros en un porcentaje mayor al 30% resultan en una estructura más fuerte y termoestable debido a la proliferación de las interacciones polímero- polímero (Kasapis, 2003). Es evidente, el efecto que causó el batido y el mezclado con el azúcar y la harina, pues desnaturizó en gran medida a la estructura, es decir las proteínas ya no están en dispersión sino adsorbidas en la interfase, lo cual hace que se requiera un menor flujo de calor para la desnaturalización, ya que las proteínas están acumuladas en una mayor concentración y se encuentran desplegadas, lo que favorece los enlaces intermoleculares (Ball y Jones, 1995). Se observa que las endotermas son poco profundas y con una extensión considerable, esto seguramente se debe a la combinación de procesos que se llevan a cabo en este rango de temperaturas: la gelatinización del almidón (85-95°C) y la desnaturalización térmica de las proteínas presentes (70-100°C) (Wilderjans *et al.*, 2008).

También es destacable que la  $T_d$ , no decreció considerablemente en estas muestras a comparación de las muestras con las proteínas en solución, ya que el alto contenido de azúcar de la formulación crea un ambiente menos favorable para que la proteína se despliegue. La adición de azúcar aumenta tanto la temperatura de desnaturalización de las proteínas como la de gelatinización del almidón (Munzing y Brack, 1991).

Por otra parte cabe mencionar que existe una diferencia importante entre las tres primeras muestras y la de grenetina. Esto nos indica que aunque se ha sometido a un proceso de batido, la grenetina fue la estructura más estable ante este proceso mecánico. Esto se debe a que su estructura terciaria aún está estabilizada por una gran cantidad de interacciones hidrofóbicas y electrostáticas y necesita mayor cantidad de energía para desnaturalizarse. Además, la mezcla de estas proteínas resulta en una reducción de las interacciones entre las proteínas de clara de huevo, que de otra forma llevarían a la agregación intermolecular. En vez de esto, la interacción sinérgica de las proteínas de la clara con la grenetina, forman una especie mucho más termoestable (Badii y Howell, 2006).

Posteriormente se encuentra la muestra con proteína de soya, la cual presenta un comportamiento muy similar al de la clara de huevo, se cree que esto es debido a que la distribución de aminoácidos en este grupo de proteínas

no tiene grandes diferencias al del aislado de soya tal como se observa en la tabla 6:

<b>Aminoácido</b>	<b>Clara de Huevo</b>	<b>Soya</b>
Alanina	5.85	4.18
Arginina	5.51	7.47
Ácido Aspártico	10.31	11.90
Cistina	2.62	1.21
Ácido Glutámico	13.46	19.61
Glicina	3.55	4.12
Histidina	2.29	2.87
Hidroxiprolina	0	0
Isoleucina	5.72	4.90
Leucina	8.55	8.01
Lisina	6.90	6.17
Metionina	3.49	1.20
Fenilalanina	5.92	5.09
Prolina	3.94	5.31
Serina	6.99	5.09
Treonina	4.60	3.43
Triptófano	1.25	1.07
Tirosina	3.94	3.22
Valina	6.45	5.28

**Tabla 6. Perfil de aminoácidos de las proteínas de clara de huevo y proteína de soya (American Chemical Society, 2011).**

En cuanto a la clara de huevo, se asume que se desnaturalizó con mayor facilidad que las muestras con grenetina y APS, ya que en el proceso de



batido es la que se despliega mejor debido al bajo contenido de estructura terciaria de las ovoalbúminas y alta actividad interfacial (Marcone, *et al.*, 1994). Por tanto su estructura en esta etapa del proceso se encuentra desplegada, y la energía térmica requerida para llegar a su temperatura de desnaturalización es menor.

Por último se encuentra la muestra APL, la cual fue notablemente más inestable, se asume que esto es debido a que la mezcla de proteínas de suero de leche con las de la clara de huevo no interactúan positivamente ya que la proteína de suero de leche ejerce un efecto muy marcado en las asociaciones intermoleculares (Hsieh *et al.*, 1993), provocando una menor temperatura de desnaturalización del complejo formado.

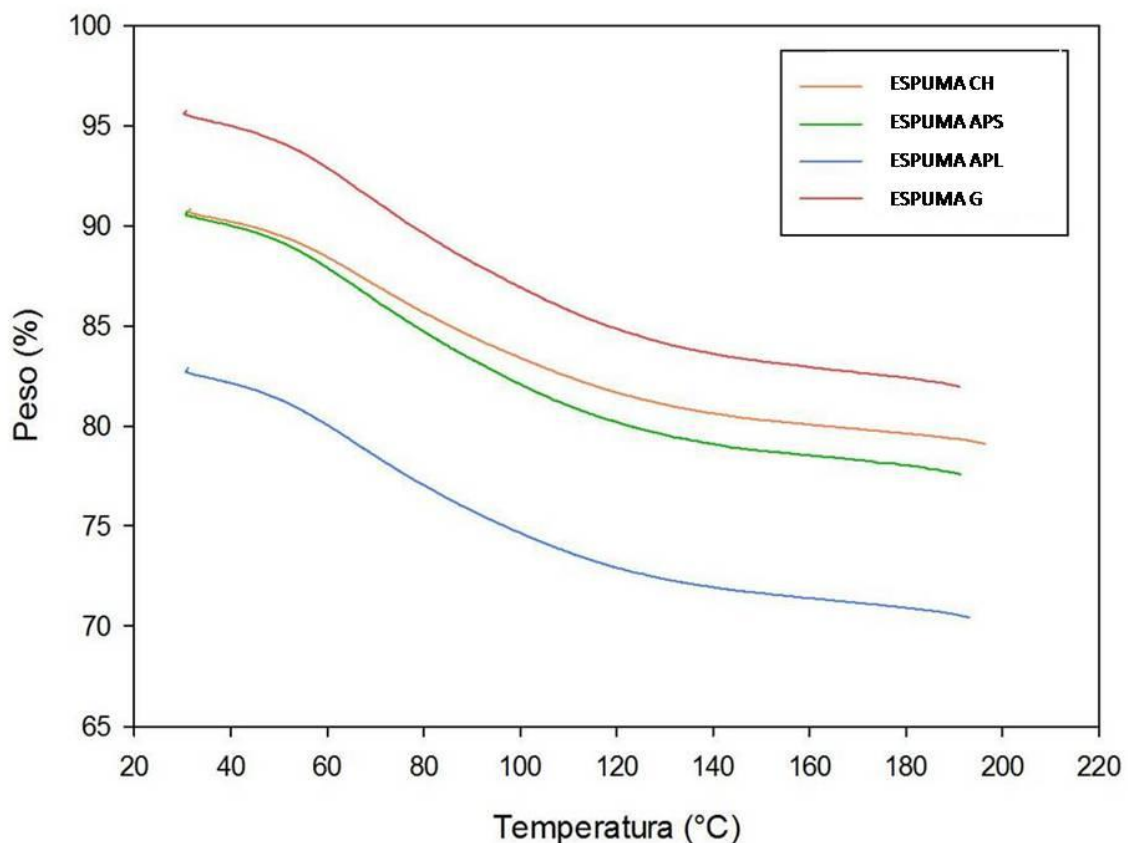


Figura 21. Termograma de pérdida de peso de las espuma testigo de pastel ángel y las añadidas con proteínas.

En la figura 21 se muestra el termograma de pérdida de peso para las espumas. Esta gráfica es de suma importancia, ya que podemos conocer el

efecto de las proteínas en la pérdida de agua que se lleva a cabo durante el horneado, proceso térmico al cual es sometida la espuma en estudio.

Es trascendente el hecho de que si bien en este sistema ya se encuentran presentes la sacarosa y el almidón, moléculas con alta capacidad de retención de agua por su naturaleza hidrofílica, las proteínas siguen siendo las macromoléculas que determinan mayormente la capacidad de retención de agua, por su mayor porcentaje en la formulación.

Como se puede observar, la galletina es la que pierde menos peso por su naturaleza altamente hidrofílica, debido a la mayor exposición de residuos polares a la superficie de la molécula y su menor grado de desnaturalización.

Posteriormente se encuentra la muestra APS, con un comportamiento muy similar al de la muestra de CH, sin embargo posee una mayor capacidad de retención de agua. Este hecho se atribuye a que la adición de proteínas de soya en un sistema exhibe una fuerte capacidad de retención de agua por su grado de desnaturalización y mayor exposición de grupos hidrofílicos en la superficie de la molécula

La menor capacidad de retención fue exhibida por la muestra APL. Es sabido que la temperatura afecta fuertemente a las proteínas del lactosuero (Morr, 2002), al ser poco estables su tasa de deshidratación es mayor; además la presencia de grupos sulfuro genera una mayor interacción entre moléculas vecinas y hace que expulsen el agua más rápidamente.

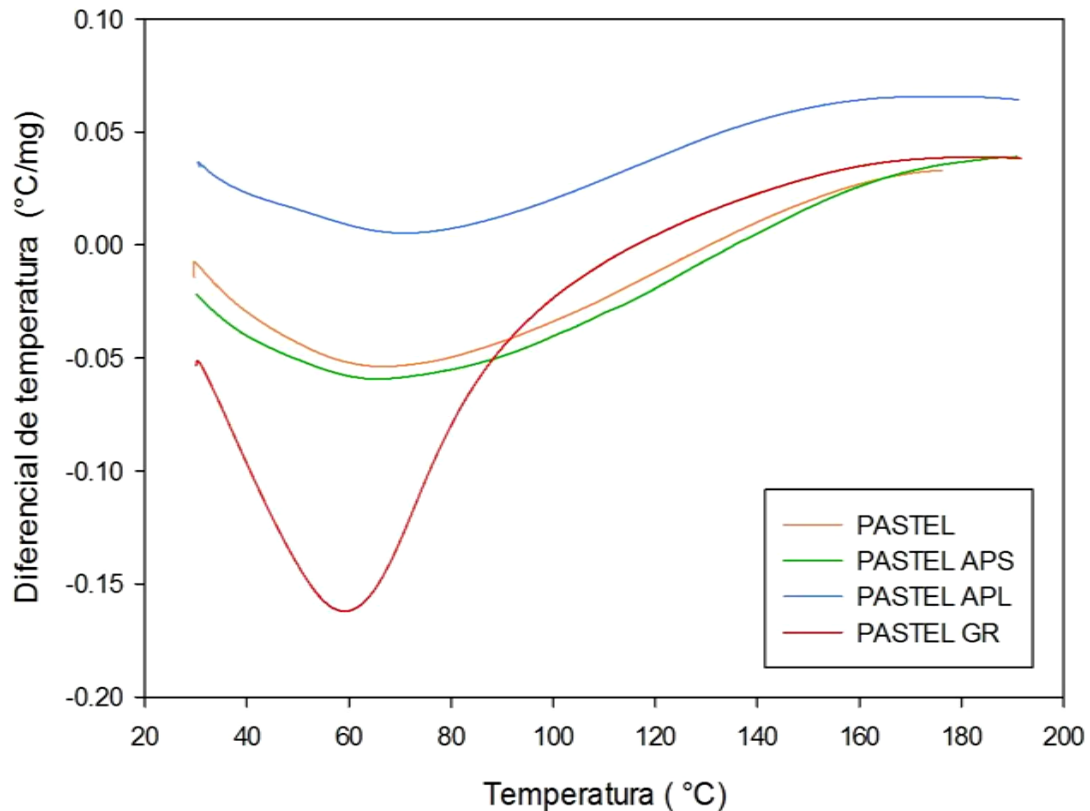


Figura 22. Termograma diferencial de la espuma sólida (pastel ángel).

En este sistema ya se encuentran estructuras muy diferentes, pues se han establecido interacciones proteína-proteína y proteína-polisacárido, mediante el proceso de horneado debido al efecto de la temperatura. Se puede notar que las endotermas tienen una poca profundidad, no obstante tienen una gran extensión, lo que significa que las especies involucradas tienen una estabilidad aumentada conforme al aumento de temperatura. Este comportamiento se atribuye a que los azúcares de bajo peso molecular como la sacarosa, influyen profundamente el comportamiento de los almidones. En un ambiente con poca humedad estos sistemas exhiben endotermas con aumento de temperatura y aumento de entalpia, una posibilidad de este hecho es que el azúcar actúa como antiplastificante y eleva la temperatura de transición vítrea del almidón (Slade y Levine, 1987). Es por ello que el aumento de energía requerida para el cambio de estructuras en este sistema se debe al efecto de la poca humedad en el sistema y a que las proteínas ya han sido previamente desnaturalizadas, y ahora han formado asociaciones que las han convertido en biopolímeros de alto peso molecular (Kato, *et. al.*, 1990).

Como se puede observar, la grenetina sigue teniendo el efecto más marcado, pues aunque su  $T_d$  es menor la energía requerida para desnaturalizarse es mayor, esto significa que su interacción con los demás componentes del sistema fue termodinámicamente compatible, es decir las fuerzas electrostáticas causaron una inclusión de la proteína en los dominios ocupados por el polisacárido y viceversa, otra posibilidad de esta termoestabilidad son las reacciones químicas de la proteína con el almidón que pudieron dar lugar a enlaces covalentes entre ambas macromoléculas (Stanley y Yada, 1991).

Posteriormente se encuentran las muestras de clara de huevo y soya con un comportamiento muy similar. De aquí se deduce que las proteínas de clara de huevo y las globulinas de soya son las más similares en cuanto a entalpía de desnaturalización, es decir son altamente compatibles en términos termodinámicos. La muestra con menor termoestabilidad fue la de suero de leche, comportamiento generalizado en todos los sistemas evaluados.

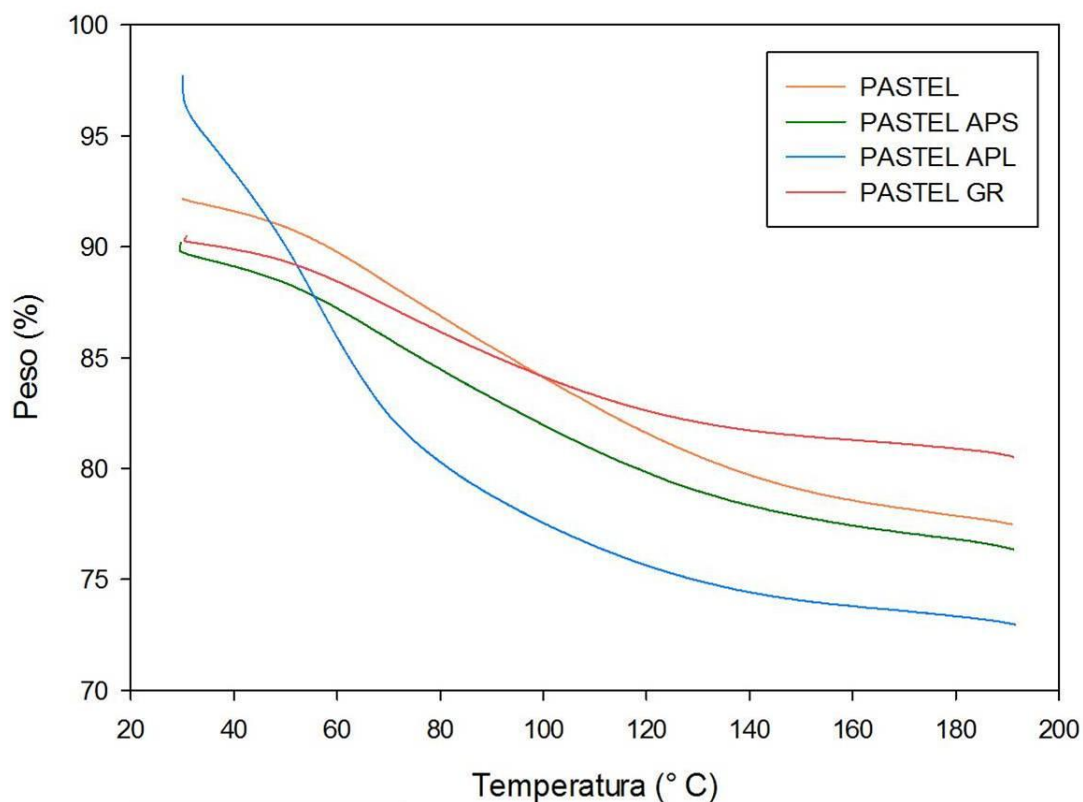


Figura 23. Termograma de pérdida de peso de las espumas sólidas (pastel ángel).

En este sistema las proteínas se encuentran en un alto grado de desnaturalización, y existe muy poca humedad en el medio. Sin embargo el porcentaje de agua que se pierde con respecto al tiempo en el pastel, nos da una idea

de la capacidad de retención de agua de las estructuras proteicas y su grado de desnaturalización que traerá como consecuencia efectos en las propiedades macromoleculares y en la vida útil del producto.

Como en casos anteriores la proteína con menor capacidad de retención de agua fue la de APL, pues su grado de desnaturalización fue mayor causando la formación de agregados estabilizados por interacciones hidrofóbicas; reduciendo así esta propiedad de hidratación (Petruccelli y Añón, 1995).

Las muestras testigo y la añadida con asilado proteico de soya, siguen teniendo comportamientos similares sin embargo la capacidad de retención de agua es mayor en las muestra testigo, esto debido también al grado de desnaturalización que en la muestra con proteína se soya, fue mayor.

En cuanto a la muestra con grenetina, se mejoro notablemente la capacidad de retención de agua desplego ya que la presencia de grenetina en la mezcla formo una nueva especie con un aumento de estabilidad térmica, un menor grado de desnaturalización que permitió que más moléculas de agua permanecieran unidas a la estructura proteica.

### **3.2 Tiempo de batido**

El tiempo de batido se determinó únicamente con formulación testigo, ya que la proteína de clara de huevo, sería la de mayor proporción en las muestras a evaluar (75%). Se sabe que cada proteína posee un tiempo de batido óptimo sin embargo, era necesario establecer un solo tiempo para que fuera posible la comparación entre todas las muestras.

Tal y como se encontró bibliográficamente, el batido por un tiempo mayor al causó “sobrebatido” debido a la coagulación de proteínas y pérdida de capacidad de retención de agua en la interfase (Dickinson, 1992). Este proceso se puede observar en la tabla 7 ya que se obtuvo un aumento de tiempo medio de drenado directamente proporcional al tiempo de batido en el intervalo de 3 a 5 min, es decir, a medida que se aumentaba el tiempo de batido se lograba establecer una interfase más estable, sin embargo a tiempos mayores la estabilidad decreció.

Tiempo de batido	T ½ de drenado (min)
3	92 <sup>ab</sup>
4	108.6 <sup>aa</sup>
5	110.67 <sup>aa</sup>
6	104.3 <sup>ab</sup>
7	86.5 <sup>ab</sup>

Tabla 7. Tiempo ½ de drenado para los tiempos de batido seleccionados.

\*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Este comportamiento de la espuma se atribuye a que en los primeros momentos del batido se forma una espuma de grandes burbujas y poco estable, surfactada principalmente por las ovomucinas, que son las glicoproteínas de la clara que pierden más fácilmente su estructura globular, por naturaleza son viscosas y similares a un gel (Johnson y Zabik, 1981); éstas no muestran una capacidad espumante importante, pero le dan estabilidad a la espuma por sus largas cadenas de proteínas unidas con polisacáridos lo que previene el drenado de la espuma (Kato *et al.*, 1978).

La funcionalidad desarrollada por las proteínas de la clara se debe a la entrada de mayor cantidad de energía mecánica con el tiempo, pues a medida que aumentamos el tiempo de batido se observa que más proteína se pueda adsorber y la lamela adquiere mayor fuerza estructural. De igual manera la estabilidad se eleva por la elevada viscosidad que conserva la matriz retardando el drenaje, esta viscosidad se debe al elevado porcentaje de proteínas, (principalmente ovoalbúminas) que conservan su estructura soluble (Martínez, 2000).

Después del tiempo de 5 minutos la estabilidad decreció pues como ya se mencionó se generó el sobreatado, definido como el mecanismo responsable de la disminución de estabilidad después de un tiempo determinado de batido (Halling, 1981). De acuerdo con esta teoría debido a prolongados periodos de batido se conduce a la coagulación excesiva de las proteínas globulares en la interfase aire-agua, que generalmente se asocia con la formación de agregados insolubles, que exhiben poca capacidad de retención de agua. El deterioro de la capacidad de retención de agua de las proteínas en la interfase a su vez es responsable del colapso de la espuma, que se refleja en la disminución de estabilidad. Dicho fenómeno implica el proceso de formación de enlaces entre moléculas proteínicas vecinas, pues como se puede ver en la tabla 7 en los tiempos de batido posteriores a 5 minutos, la apertura de enlaces continuó,

ocasionando asociaciones entre las proteínas tan estrechamente, que expulsaron el agua que embebía a la red, causando una espuma deshidratada y poco flexible.

Debido a que el tiempo medio de drenado mayor lo obtuvo la muestra con el tiempo de batido de 5 min, éste se estableció como el tiempo de batido para la experimentación posterior, con el fin de generar una estructura más estable capaz de soportar la energía mecánica aplicada al añadir el azúcar y harina, ingredientes que se añaden en la elaboración de las espumas.

### 3.3 Capacidad espumante

La habilidad para formar la espuma está relacionada al nivel de aire que se puede introducir mediante el batido en la solución de proteína y esta se estima mediante la medición del incremento del volumen de espuma (% de sobrerrendimiento).

El efecto de las proteínas en el porcentaje de sobrerrendimiento, después del batido se puede observar en la tabla 8, mediante el análisis ANOVA se verificó que si existe diferencia estadística entre los tratamientos obteniéndose un P de 0.000.

Muestra	Porcentaje de sobrerrendimiento
CH	496.934 <sup>ab</sup>
APS	505.922 <sup>ba</sup>
APL	513.889 <sup>ac</sup>
G	453.672 <sup>bc</sup>

Tabla 8. Porcentaje de sobrerrendimiento en las espumas proteicas.

Se sabe que los hidrolizados pépticos tienen mejores propiedades espumantes que las proteínas nativas debido a una mayor velocidad de despliegue de péptidos más pequeños (Kilara y Panyam, 2003). De aquí que las muestras APL y APS obtuvieran un mayor porcentaje de sobrerrendimiento; pues el estado configuracional de las moléculas de proteína de leche y soya son más favorables para la formación de espuma que las de clara de huevo por si solas, ya que los procesos a los que se han sometido las han desnaturaliza-

do haciéndolas más flexibles y capaces de reordenarse en la interfase originando una mayor área interfacial y por lo tanto una mayor capacidad espumante.

De acuerdo a Murray *et al.*, (1981) los parches hidrofóbicos surgen cuando la molécula es incapaz de enterrar en su interior los residuos hidrofóbicos, lo que da como resultado que estas áreas estén expuestas en la superficie. Estas regiones tienen una alta tendencia a asociarse e interactuar a través de enlaces intermoleculares pues así evaden la elevada constante dieléctrica del solvente, particularmente a distancias muy cercanas, lo que origina enlaces fuertes y muy estables.

La hidrofobicidad superficial ha sido correlacionada con la mejora de las propiedades espumantes (Kato y Nakai, 1930). Esto se debe a que aunque este tipo de enlaces no se consideran como reales; son el resultado de la asociación de las partes apolares de la molécula para prevenir el contacto con el agua lo cual genera interacciones que permiten la formación de la espuma; como éstas partes se orientan hacia dentro de la proteína, donde la constante dieléctrica es menor, estas interacciones se fomentan aún más. El número de grupos apolares, su grado de hidrofobicidad y localización en la cadena polipeptídica contribuyen al grado de interacciones hidrofóbicas que las moléculas puedan llegar a establecer (Stanley y Yada, 1991).

Debido a ello y de acuerdo a la tabla 9, se corroboran parte de los resultados en cuanto al sobrerrendimiento siendo este un fenómeno que depende intrínsecamente del cambio de configuración de la molécula y posterior adsorción en la interfase. Tal como se observa en la 8 la proteína con mayor poder espumante fue APL, de la cual su mayor componente es la  $\beta$ -Lactoglobulina proteína con mayor valor de hidrofobicidad de acuerdo a la tabla 9 posteriormente se encuentra la ovoalbúmina con el segundo mayor valor de hidrofobicidad, le sigue el colágeno y finalmente el APS. Para fines didácticos en esta discusión se utilizará el valor del colágeno para representar a la grenetina pues no se encontró en la literatura, aunque se asume que la hidrofobicidad superficial de la grenetina debe ser menor debido a su grado de desnaturalización.



<b>Proteína</b>	<b>H <math>\Phi</math> (cal/res)</b>
Ovoalbúmina	<b>980</b>
Aislado de soya	<b>822</b>
Colágeno	<b>880</b>
$\beta$ -Lactoglobulina	<b>1020</b>

**Tabla 9. Valores de hidrofobicidad para las proteínas estudiadas. (Adaptación de Damodaran, 1989; Myers, 1990).**

Además del valor de hidrofobicidad, otro factor que influye en gran medida es la viscosidad, pues esta puede limitar la cantidad de aire que se incorpora en el sistema (Walstra, 2003), esto debido a la resistencia que opone el fluido a expandirse.

Por ello se asume que la gretina haya tenido el menor porcentaje de sobrerrendimiento debido a que se observó que esta mezcla presentaba mayor viscosidad, la cual impidió la incorporación de aire y redujo la expansión de la espuma. Asimismo sucede con la ovoalbúmina que a pesar de tener un alto valor de hidrofobicidad, su viscosidad no deja de ser importante por la acción de las ovomucinas, generando un menor porcentaje de sobrerrendimiento que el de las otras proteínas.

Por otra parte, las interacciones electrostáticas juegan un papel significativo en la adsorción de las proteínas. Las propiedades espumantes han sido reportadas como óptimas para un rango de cercano al punto isoeléctrico (Davis, *et al.*, 2004).

<b>Muestra</b>	<b>pH</b>
CH/At/NaCl	4.95
CH/ APS	4.97
CH/ APL	4.7
CH/ G	5.4

**Tabla 10. Valores de pH de las soluciones proteicas.**

Debido a que la proteína presente en mayor cantidad en todas las soluciones es la ovoalbúmina se podría establecer que la región isoeléctrica de esta proteína sería la más favorable para el desarrollo de la espuma (pl 4.6) (Holen y Elsayed, 1990), en este caso otra razón a la menor espumabilidad de la mezcla con grenetina se atribuye a que el pH de la solución es el más lejano a la región isoeléctrica de la ovoalbúmina tal y como se puede observar en tabla 10.

Los valores de sobrerrendimiento de la tabla 10 se encuentran dentro de los rangos señalados por Arunepanlop *et al.*, (1996) quien afirma que el sobrerrendimiento de la espuma formada para pasteles ángel debe ser de 500 a 800% (correspondiente a una fracción de aire de 83–88%).

### 3.4 Tiempo ½ de drenado

Como se observa en la tabla 11, las espumas testigo y la añadida con aislado proteico de soya estadísticamente poseen la misma velocidad de drenado. Esto quiere decir que como se ha visto antes al tener una estructura similar desarrollan espumas con estructuras muy poco diferentes.

Muestra	Tiempo ½ de drenado
CH	110.67 <sup>aa</sup>
APS	113.8 <sup>aa</sup>
APL	83.3 <sup>ab</sup>
G	121.8 <sup>ba</sup>

Tabla 11. Tiempo ½ de drenado para las espumas proteicas.

Por otra parte la muestra con grenetina, resulto ser la espuma más estable. Se cree que esto es debido a que la grenetina, que al ser una proteína desnaturalizada, no posee una conformación espacial definida como las proteínas globulares, sino que es considerada como un polímero lineal que incluye un pequeño número de cadenas ramificadas, capaz de formar soluciones de

alta viscosidad en comparación con otras proteínas, dando lugar a una estructura de gel en la interfase debido a su flexibilidad y a su estructura entrecruzada al azar, es por ello que previene eficazmente los procesos de desestabilización de la espuma.

Otra explicación a esta mejora en estabilidad, es la interacción que este polipéptido tiene con la sacarosa, puesto que se sabe que las zonas de unión de la grenetina que forman la estructura tridimensional en la interfase son las regiones que anteriormente formaban la estructura de triple hélice del colágeno y los azúcares son capaces de unirse a estos puntos, revirtiendo a la grenetina a esta conformación mucho más estable (Oakenfull y Scott, 1986).

La espuma menos estable fue la mezcla con aislado proteico de suero de leche. En estudios realizados se ha observado que el aislado de proteína de leche forma espumas menos estables ante la fuerza de gravedad a comparación de las espumas de clara de huevo (Phillips, *et al.*, 1989). Yang estudió espumas de clara de huevo y suero de leche; con un porcentaje de sacarosa de 63.6 % (similar al del sistema en estudio); en el cual encontró que el número inicial de burbujas de la espuma de proteínas de clara de huevo era mayor que en la espuma de proteínas de suero de leche; lo que significa que las primeras son más estables y se desestabilizan a una velocidad menor que las de suero de leche, en la presencia de azúcar. Además se observó que las espumas de clara de huevo no mostraron cambios significativos en el número de burbujas durante un periodo de 10 minutos, mientras que en las espumas de proteínas de suero, éste número si decreció con el tiempo (Yang, 2009).

De acuerdo a Yang (2008) las proteínas de suero de leche cuando se encuentran mezcladas con la albumina de huevo dominan la interfase y determina las propiedades de la espuma. Por esta razón se genera mayor rapidez en la coalescencia y consecuente desproporción, ya que hay mayor difusión de gas a través de la lamela causando que las burbujas pequeñas desaparezcan mientras las grandes se expanden continuamente.

### **3.5 Porcentaje de aumento de volumen**

En la tabla 12 se puede observar el efecto que tuvieron las diferentes proteínas en el volumen final del pastel ángel.

En el proceso de elaboración del pastel ángel el aumento de volumen generado por la actividad interfacial de las proteínas y estabilidad térmica es el punto clave en la elaboración del producto (Pernell *et al.*, 2002).

Muestra	Tiempo ½ de drenado
CH	52.78 <sup>aa</sup>
APS	50 <sup>aa</sup>
APL	30.56 <sup>ba</sup>
G	47.22 <sup>ab</sup>

Tabla 12. Porcentaje de aumento de volumen de las espumas de pastel ángel durante el horneado.

Como se observa en la tabla 12 el mayor porcentaje de aumento de volumen lo presenta la muestra testigo con un 52.78%. Esto es debido a que la clara de huevo previene el colapso por la alta elasticidad y termorresistencia de la película formada en la interfase. A falta de agentes químicos tales como el bicarbonato de sodio, como en otros productos de panificación, el considerable crecimiento dentro del horno del pastel ángel está relacionado con la presencia de globulinas, ovoalbúminas y fracciones de ovomucinas además de la lizosima que también ejerce un efecto que previene los procesos de desestabilización ya que forma un complejo que altera la desnaturalización y agregación de las proteínas durante el calentamiento (Johnson y Zabik, 1981).

La ovoalbúmina, siendo la proteína en mayor proporción, juega un papel clave en la formación de la espuma y estabilidad, ya que como se ha señalado anteriormente cuando se adsorbe en la interfase, las moléculas de ovoalbúmina se desdoblan y se configuran para orientar sus regiones hidrofóbicas hacia la fase gaseosa. Las moléculas adsorbidas interactúan por medio de una combinación de enlaces disulfuro y enlaces no covalentes que forman una membrana interfacial cohesiva y elástica. En general, la excelente formación de espuma y la estabilidad térmica de la clara de huevo son el resultado de la interacción entre las proteínas individuales que la constituyen (Damodaran, 2005).

Cabe destacar que a pesar de que esta muestra obtuvo el mayor volumen, y de acuerdo al gráfico de intervalos de confianza no existe diferencia estadística entre las medias de la muestra con proteína de soya, lo cual se relaciona con los resultados obtenidos en el análisis térmico diferencial, pues su comportamiento térmico y estabilidad fue casi idéntica generando resultados similares en cuanto a volumen.

Posteriormente se encuentra la grenetina, la cual obtuvo una menor expansión pues se sabe que esta proteína forma geles termorreversibles, y sin duda, el aumento de temperatura generó que las películas formadas en la interfase disminuyeran su viscosidad y se originara el colapso de algunas burbujas, sin embargo cabe destacar que su estabilidad es aceptable dentro del horno, ya que se sabe que en el calentamiento de esta mezcla de proteínas una pequeña proporción de las moléculas de grenetina se une a la ovoalbúmina. Es entonces cuando la ovoalbúmina adopta una conformación que minimiza la agregación con otras proteínas de la clara. Como resultado un gel uniforme y fuerte es formado con la grenetina que crea una estructura continua reversible y la clara de huevo una red establecida por el calor con menos agregaciones, comparada con el gel que producen las proteínas de clara de huevo por sí solas (Badii, *et. al.*, 2006).

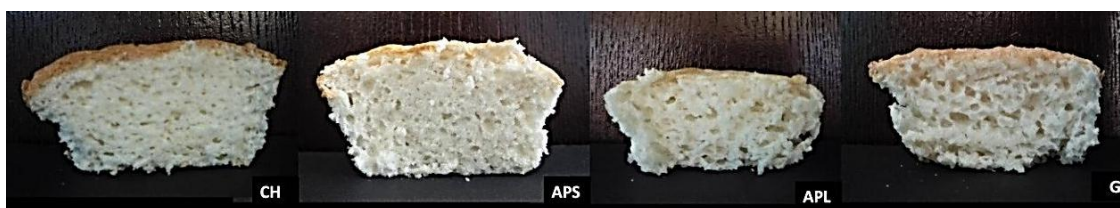


Figura 24. Imágenes del volumen final de los pasteles.

Como se ha indicado previamente, la capacidad espumante de las proteínas de clara de huevo y aislado de suero de leche son comparables (Foegeing *et al.*, 2002). Sin embargo se puede distinguir en la figura 24 que la sustitución parcial de proteínas de clara de huevo por aislado de suero de leche resulta en un volumen notablemente menor (Berry *et al.*, 2009).

La poca estabilidad térmica durante la transformación de la espuma líquida a una espuma sólida (estructura del pastel) es la razón de la poca funcionalidad exhibida por las proteínas de suero de leche en el pastel ángel (Per-

nell, *et al.*, 2002). Se cree que esto se debe a que la red formada por esta mezcla proteica no es lo suficientemente fuerte y elástica para que se dé la expansión de las burbujas simultáneamente a la disminución de viscosidad durante el proceso de horneado. Esto se atribuye a las características de las proteínas que fueron evaluadas anteriormente en el análisis térmico donde se verificó que las temperatura y entalpías de desnaturalización son notablemente menores en la espuma de proteínas de suero de leche que en la de clara de huevo.

Además se ha comprobado en investigaciones donde se sustituye la clara de huevo por proteína de suero de leche en el pastel ángel, que durante la cocción, el pastel con proteína del suero se eleva rápidamente a un volumen máximo y luego se derrumba (DeVilbiss *et al.*, 1974). Otros experimentos en este sistema, mostraron una expansión similar seguida por un colapso durante la cocción. La clara de huevo y el aislado de suero de leche tienen un comportamiento similar durante la expansión inicial de hornear. Sin embargo, alrededor de la temperatura de desnaturalización de ambas proteínas (75 °C a 85° C), la elasticidad de la masa del pastel es mayor en los pasteles de clara de huevo. Tal y como se observa en la figura 24 el volumen del pastel con proteínas de suero fue notablemente menor, pues la desnaturalización excesiva de sus proteínas originó una masa menos elástica y más propensa al colapso.

### **3.6 Análisis de Perfil de textura**

En la figura 25 se presentan las curvas de perfil de textura representativas para cada una de las muestras en estudio.

Como se puede observar en la tabla 13 y en la figura 25, respecto al parámetro de dureza, la muestra con mayor valor fue la mezcla con proteínas de suero de leche. Este hecho se atribuye al grado de desnaturalización que estas proteínas sufrieron en el horneado, pues tal como se indica en el análisis térmico diferencial, fue el mayor que en las otras mezclas. Debido a dicha inestabilidad, la estructura de las burbujas fue poco homogénea y con una miga de textura grosera como lo señala Arunepanlop, *et. al.*, (1996). Este fenómeno fue causado por un grado mayor de colapso de las burbujas generando que la can-

tividad de gas atrapado en la espuma fuera menor y la estructura adquiriera mayor firmeza.

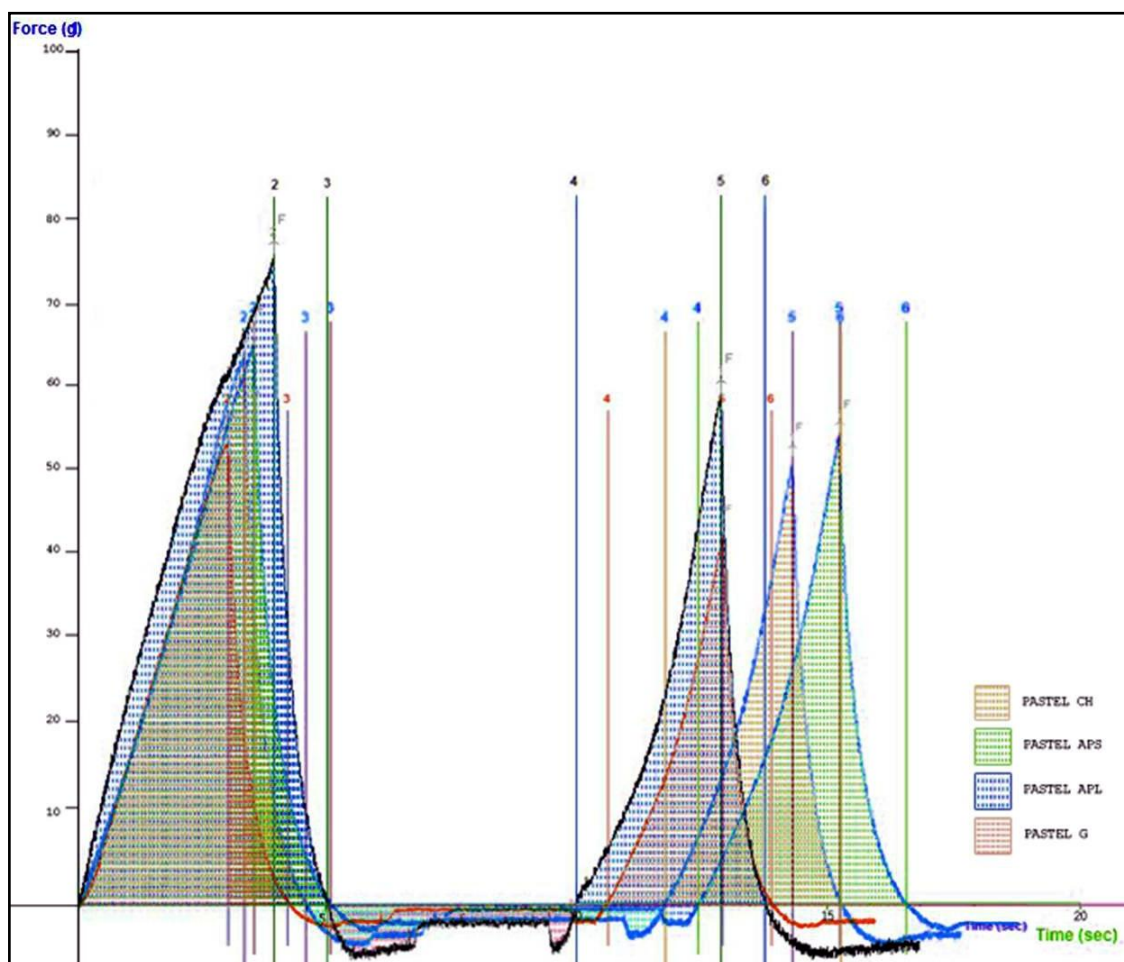


Figura 25. Curvas de perfil de textura para los pasteles testigo y añadidos con proteína.

Muestra	Dureza	Cohesividad	Elasticidad	Masticabilidad
<b>CH</b>	65.963 <sup>aa</sup>	0.816 <sup>aa</sup>	1.840 <sup>aa</sup>	98.685 <sup>aa</sup>
<b>APS</b>	65.783 <sup>aa</sup>	0.818 <sup>aa</sup>	1.814 <sup>aa</sup>	97.264 <sup>aa</sup>
<b>APL</b>	75.911 <sup>ab</sup>	0.902 <sup>ba</sup>	1.601 <sup>bd</sup>	111.408 <sup>ad</sup>
<b>G</b>	51.826 <sup>ba</sup>	0.716 <sup>ac</sup>	2.148 <sup>bc</sup>	76.229 <sup>cb</sup>

Tabla 13. Parámetros de textura del pastel ángel.

Las proteínas de clara de huevo tuvieron un comportamiento similar al de la proteína de soya pues son diferentes estadísticamente, esto nos hace inferir que la presencia de proteínas de soya no modificó la estabilidad térmica de la mezcla proteica. Ambas espumas tienen una miga más fina, mejor distribuida que la muestra con proteínas de suero de leche, lo que da como resultado un menor valor de dureza.

Por último se sitúa la muestra G, la cual obtuvo un valor significativamente menor. Se cree que esta proteína fue capaz de ligar más agua al establecer una red más estable ante el calor lo que ha sido corroborado anteriormente por medio del análisis térmico en el cual la pérdida de agua fue menor que las demás muestras, ya que el agua ejerce un efecto plastificante lo que se refleja en mayor suavidad.

Respecto al parámetro de cohesividad, el mayor valor lo obtuvo la muestra con proteínas de suero de leche. Se infiere que esto sucedió a que tal como fue observado en el análisis térmico diferencial, estas proteínas fueron las más inestables, desarrollando interacciones intramoleculares por la presencia de grupos sulfuro (aglomeración sulfhídrica) dando lugar a una estructura más compacta y con un mayor valor de cohesividad.

En el caso de la muestra G, se cree que su estructura tiene enlaces menos fuertes a diferencia de la de las otras muestras, debido a su mayor capacidad de retención de agua y ausencia de grupos sulfuro, por lo tanto el material se relaja con mayor facilidad y presenta una menor resistencia para el rompimiento.

En cuanto a la elasticidad, siendo esta la capacidad de recuperación de las espumas sólidas, ante un esfuerzo aplicado; la muestra que desplegó un mayor nivel de elasticidad fue el pastel con galletita, lo cual nos remite una vez más a su estructura, la cual fue capaz de retener más moléculas de agua. Se conoce que las proteínas con un grado mayor de hidratación son más flexibles ya que al tener un mayor grado de interacción con las moléculas de agua las interacciones intermoleculares se minimizan causando mayor movilidad estructural y previniendo el plegamiento (Wilde, 2000), a diferencia de las proteínas con menor grado de hidratación, en este caso la muestra con proteínas de suero de leche, las cuales sí difieren estadísticamente. Dicho fenómeno se atribuye a su menor estabilidad térmica con respecto a la muestra G, originando la



formación de agregados que generaron menor capacidad de adsorción de agua y poca la movilidad de la estructura proteica. Este hecho explica la causa de la disminución en la capacidad de volver a su estado original después de la compresión de dichas muestras.

Por último se calculó el parámetro de masticabilidad que, como se puede observar en la tabla 13 el pastel con grenetina requiere de menos tiempo para masticarse a una tasa de fuerza aplicada y reducir su consistencia, ya que como ha mencionado en los atributos de textura previos presenta una estructura más suave, elástica y menos cohesiva lo que la hace más fácil de deglutir.

Cabe destacar que la muestra APL obtuvieron un valor marcadamente mayor en este parámetro, ya que su grado de deshidratación es mayor tal como se presentó en el estudio termogravimétrico, pues las capacidad de retención de agua de las proteínas disminuyo debido su mayor nivel de desnaturalización por efecto de la temperatura, por lo tanto su estructura es más seca, dura y menos elástica lo cual implica mayor tiempo para reducir su consistencia y así, poder ser tragada.

### **3.7 Distribución de tamaño de burbuja**

Las imágenes de las burbujas obtenidas a partir de microscopía óptica de espumas alimenticias, generalmente no son esféricas, sino poliédricas. Sin embargo, trabajos previos han asignado a los poliedros un diámetro medio, como si estos fueran una esfera (Pugh, 1994). Otras dimensiones anteriormente cuantificadas mediante el análisis de imágenes en masa de pastel son el área de la burbuja y factor de forma (que mide la desviación de una esfera perfecta) (Hicasmaz *et al.*, 2003).

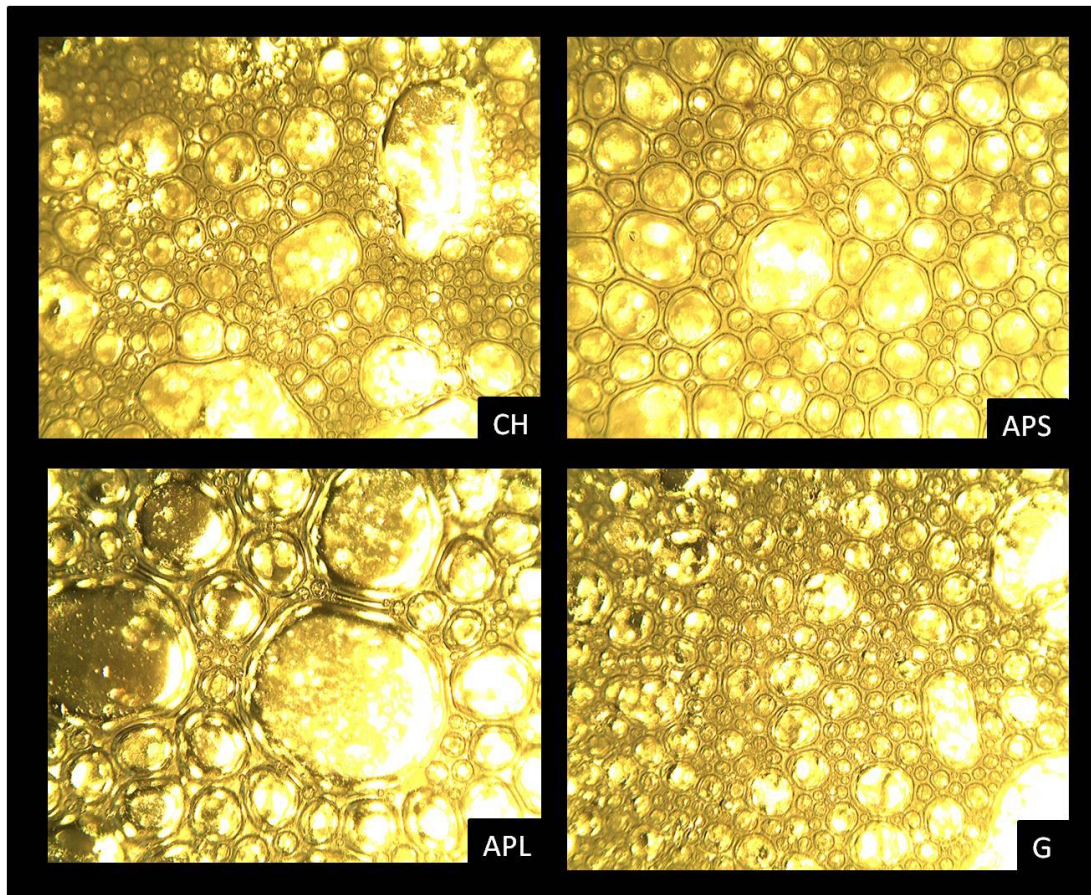


Figura 26. Imágenes de las espumas capturadas a través del dispositivo Moticam.

Al observar las espumas en la figura 26, se perciben diferencias notables en cuanto a tamaño y distribución de burbujas. En el caso de la espuma de clara de huevo se observa un comportamiento muy peculiar ya que es la que presenta burbujas amorfas de mayor tamaño que cualquiera de las otras muestras. Además es notable que existe una mayor cantidad de burbujas más pequeñas que en la espuma con proteínas de soya, la cual en resultados anteriores de propiedades de la espuma resultaron ser iguales estadísticamente.

En el caso de la muestra con proteínas de suero de leche, se observa claramente que el diámetro de burbuja es claramente superior al de las demás espumas, esto debido a la cantidad de aire introducido mediante el batido, lo cual está de acuerdo con los resultados de capacidad espumante. Este mecanismo de desestabilización fue observado por Berry, (2008) quien realizó un estudio en cual videograbó a las espumas de pastel ángel de clara de huevo con aislado de suero de leche en las cuales no se observó el fenómeno de coalescencia, mientras que la disminución y eventual desaparición de pequeñas burbujas y crecimiento de las burbujas grandes si se presentó. Con tal eviden-

cia y por la distribución poco homogénea de tamaño de burbuja en las muestras tal y como se observa en la figura 26 se puede asegurar que en este sistema la desproporción es el mecanismo principal de desestabilización.

Para corroborar estas observaciones se midió el tamaño de burbuja en cada una de las muestras el cual está representado en el histograma de la figura 27. Las 2 espumas con mayor homogeneidad en la distribución de tamaño de burbuja son las de aislado proteico de soya y grenetina, sin embargo es evidente que el diámetro de burbuja es mucho menor en la muestra con grenetina; esto debido a la viscosidad generada por esta proteína lo cual limitó la expansión de la película viscoelástica y generó una menor capacidad espumante, tal como se observó anteriormente. Asimismo se puede suponer que la estabilidad desarrollada por la muestra con grenetina se debe a dicha uniformidad de tamaños lo cual disminuyó la velocidad del mecanismo de desproporción.

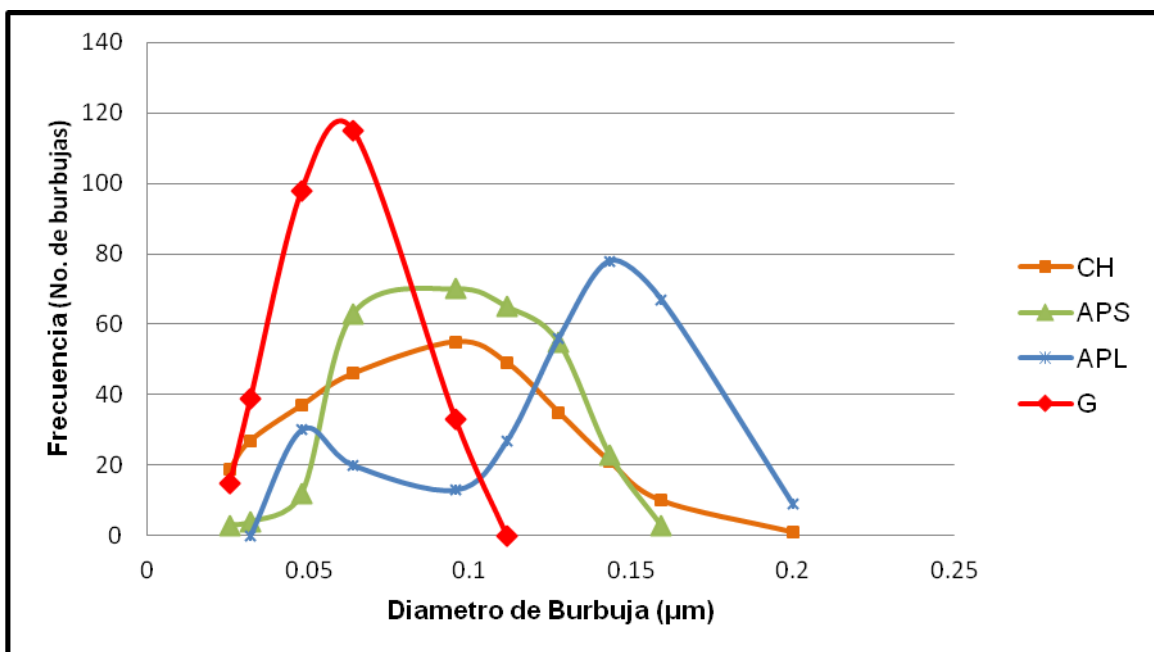


Figura 27. Histograma de distribución del tamaño de burbuja para las espumas de pastel ángel.

En cuanto al grosor de la lamela no se encontró una diferencia importante entre las espumas de clara, suero y proteínas de soya. Es importante señalar que la muestra con grenetina, si se observó un cambio perceptible ya que es un poco más gruesa que las demás muestras, lo que pudo haber contribuido a que el mecanismo de desproporción se aminorara pues la lamela era más gruesa lo que previene el acercamiento de las burbujas (Wilde, 2000).

Como se observa en la figura 27 el pastel testigo muestra una distribución de tamaño de burbuja menos homogénea que la muestra con aislado proteico de soya. También se puede observar que el pastel que cuenta con la distribución menos homogénea es la muestra con proteínas de suero, en el cual hay diámetros muy diferentes, debido a esto y a resultados anteriores se corrobora que en el proceso de horneado se dió en mayor grado la desestabilización de la espuma por desproporción generando el colapso y menor retención de gas en el sistema.

### 3.8 Imagen de la miga

De acuerdo a Brown (2011) la miga se puede definir como la estructura celular en el interior de un producto horneado que se revela cuando éste es cortado. La evaluación de este atributo se basa en el tamaño de la celda . En la miga abierta las celdas son medianas a grandes, en la cerrada éstas son pequeñas. Respecto a la forma de la celda, y grosor de las paredes, las migas finas presentan paredes delgadas , mientras que las paredes anchas predominan en una miga gruesa.

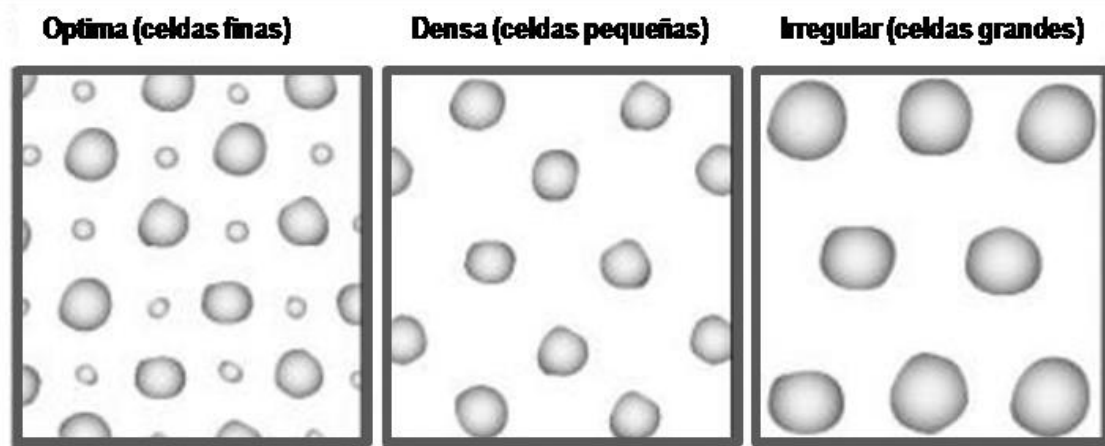


Figura 28. Tipos de distribución de la celda en productos horneados, Brown (2011).

La figura 29 muestra ejemplos de imágenes de cada tipo de pastel. Un estudio visual no es suficiente pues las migas son bastante similares en cuanto a distribución alveolar, es por ello que se realizó la edición y tratamiento de imágenes con el programa Image Pro con el objetivo es mejorar el contraste

entre las dos fases en la imagen (Hall y Bracchini, 1997); para una evaluación más precisa de la cantidad de aire que las espumas fueron capaces de atrapar en su estructura.

La detección del área de la celda (alveolos de la miga) se llevó a cabo en las imágenes binarias con el programa Image Pro el cual identifica a las celdas de la miga como numero de objetos

Al igual que los resultados anteriores de volumen tras la cocción, se encontraron diferencias importantes entre las características de la miga de los pasteles. El análisis estadístico ANOVA mostró que las diferencias en las características de la imagen si son significativas (véase anexo estadístico).

Como se observa en la figura 29, las migas de los pasteles testigo y la mezcla con aislado proteico de soya, tenían alveolos más pequeños, un aspecto más homogéneo, una matriz con estructura más fina, con muchas celdas pequeñas y muy pocas grandes, por ello tienen una mayor cantidad de objetos detectados. Esto nos remite a que ambos pasteles conservan características similares aún después de horneados, pues hay una mayor cantidad de celdas y una distribución más uniforme lo que implica una mayor cantidad de aire atrapado.

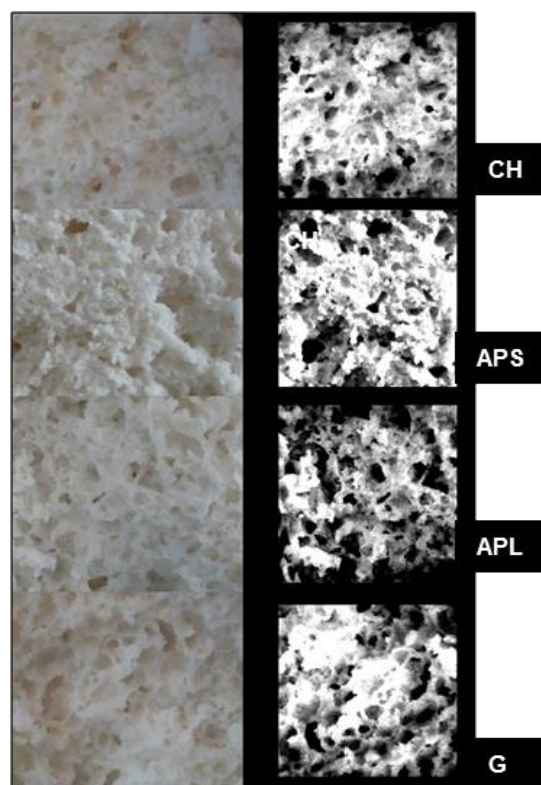


Figura 29. Imágenes de las migas a color real y en blanco y negro.

Pastel	# Objetos/Área total
CH	140.61 <sup>aa</sup>
APS	136.77 <sup>aa</sup>
APL	106.55 <sup>ab</sup>
G	115.94 <sup>ba</sup>

Tabla 14. Número de objetos captados por el programa Image Pro.

Los procesos de desestabilización de las espumas como la coalescencia y desproporción causan un incremento en el tamaño de celda y disminuyen la calidad del pastel (Berry, 2008). Por esta razón se infiere que el pastel con la menor calidad es el horneado con proteínas de suero de leche, ya que obtuvo la menor cantidad de objetos detectados; esto puede atribuirse a un mayor colapso, por la diferencia entre las propiedades térmicas entre el suero y las proteínas de la clara de huevo (Peter y Bell, 1930). Richert (1979) también confirma que el suero de leche debido a su menor estabilidad térmica, tiene una habilidad pobre a retener el gas durante la cocción dando lugar a volúmenes más bajos en el pastel.

### 3.9 Prueba sensorial

Las pruebas de preferencia permiten a los consumidores seleccionar entre varias muestras, indicando si prefieren una muestra sobre otra o si no tienen preferencia. En este estudio se observa que la mayoría de los panelistas prefirió el pastel resultante de la mezcla con grenetina. El comentario más común acerca de la preferencia a este producto fue que era el pastel con mayor suavidad lo cual les brindaba una sensación agradable al masticarlo.

Posteriormente se encuentra la muestra testigo, con el segundo lugar en cuanto a preferencia debido a su estructura esponjosa y sabor adecuado.

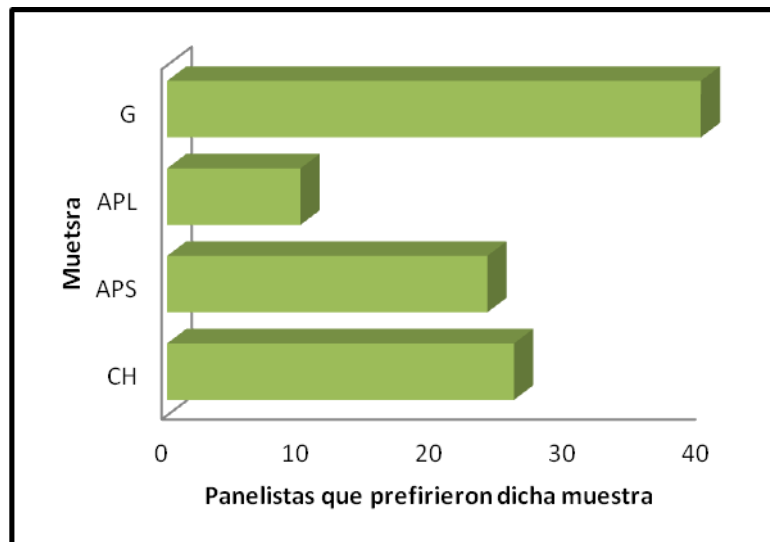


Figura 30. Resultados de la prueba sensorial de preferencia.

Respecto a la falta de aceptación del pastel con aislado proteico de soya, esta se debió a que los panelistas mencionaron que tenía un sabor característico poco agradable, se cree que esto fue producido por la presencia de soya ya que el sabor es uno de los mayores retos cuando se quiere desarrollar un alimento con este ingrediente ya que genera sabores residuales desagradables (Childs *et al.*, 2007), estas notas de sabor reconocidas como beany flavor (sabor afrijolado) son propias del frijol de soya y son transmitidas a los alimentos que la contienen; según Potter *et al.*,(2007) los aromas y sabores característicos de soya, son consideradas características indeseables por la mayoría de los consumidores.

En cuanto a la muestra con proteínas de suero de leche, se puede notar que fue rechazada por la mayoría de los panelistas, esto debido a que su estructura era más compacta y no tenía la suavidad ni la estructura que caracteriza al pastel ángel, por ello al compararla con las otras muestras los panelistas no la prefirieron.

## Conclusiones

El entendimiento de las propiedades de las espumas de la clara de huevo, el aislado de proteína de soya, aislado de proteína de leche así como de la gredina, agentes espumantes clave en la industria de alimentos es poco, a pesar de la abundante literatura en estos temas. Incluso en sistemas modelos donde se estudia a la clara de huevo y sus proteínas individuales, las preguntas sobre su estabilidad térmica y propiedades macroscópicas todavía no se han resuelto del todo.

Respecto a el objetivo general de esta investigación, las interacciones proteína-proteína principales en el sistema pudieron ser evaluadas mediante el estudio térmico realizado así como también las propiedades de la espuma. A partir de esto se pudo identificar el efecto que tuvo la combinación de las proteínas en estudio, sobre las propiedades funcionales y atributos del producto final. Los principales puntos a destacar de esta evaluación son:

- ✓ La proteínas de clara de huevo y aislado proteico de soya, no interaccionaron de manera sinérgica, sino que el APS ejerció el mismo efecto que la aplicación de CH por sí sola, ya que al debido a la desnaturalización tanto térmica como mecánica su estructura (perfil de aminoácidos) formo una red proteica con propiedades espumantes, entalpias y temperaturas de desnaturalización similares, lo cual se vio reflejado en parámetros tales como diámetro de burbuja, textura, y estructura de la miga, los cuales no difirieron estadísticamente.
- ✓ Se observó que la adición de gredina interaccionó sinérgicamente con las proteínas de la clara así como con los demás componentes del sistema, dando lugar a un nuevo complejo con mayor estabilidad térmica, lo que optimizó las propiedades tanto de la espuma como del pastel, tales como: mayor capacidad de retención de agua, distribución de burbuja más uniforme, mejores propiedades texturales y mayor preferencia en la evaluación sensorial.
- ✓ El aislado proteico de suero de leche resulto ejercer una interacción antagonista con las proteínas de clara de huevo, por ser la proteína con mayor grado de desnaturalización, presentó el mayor porcentaje de sobrerrendimiento pero la mayor rapidez en el mecanismo de desproporción, lo cual evidentemente ge-



neró el menor volumen final del pastel, dando como resultado características organolépticas poco deseables y un nivel mínimo de preferencia por los panelistas.

Es importante señalar que el análisis de imagen en la estructura de la miga del pastel tal como se encontró bibliográficamente es válido para obtener el grado de retención de gas por la espuma, ya que los resultados coinciden totalmente con los obtenidos en el porcentaje de aumento de volumen en el horneado, por lo cual es un método altamente recomendable si se desea realizar un estudio rápido y eficaz de esta propiedad para futuras investigaciones. En conclusión se afirma que la proteína de soya es una opción viable para la sustitución de 25% de la clara de huevo en la formulación del pastel ángel, ya que por ser una proteína de origen vegetal su aplicación genera menos costos, además de que actualmente se ha fomentado su consumo debido a propiedades nutraceuticas. No obstante, se reconoce que no fue la más aceptada en la prueba sensorial, por lo cual la aplicación de este ingrediente debería de acompañarse con un saborizante que enmascarara las notas de sabor inherentes de la soya.

Desde el punto de vista de la ingeniería en alimentos, en el cual uno de los principales objetivos es el de la mejora de los productos alimenticios, desarrollando atributos de calidad óptimos, se recomienda el uso de la gredina pues al interaccionar sinérgicamente con las proteínas de la clara de huevo, se desarrollo un producto final con mejores atributos de calidad, el cual fue aceptado ampliamente por los panelistas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, P. (2001). Estudio de prefactibilidad técnico económico para la obtención de hidrolizado de proteína vegetal a partir de lupino. Proyecto de Titulación previo a la obtención del Título de Ingeniero Civil mención Agroindustrial. Universidad de la frontera, Chile. 10 – 14.
- Albella, J.M (1993). Introducción a la ciencia de materiales: técnicas de preparación y caracterización. Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- American Chemical Society, (1989). Chemical Abstracts Service. American Chemical Society, 1989. Universidad de Michigan.
- Anzaldúa, A. y Morales. (1994). La Evaluación Sensorial de los Alimentos en la Teoría y la Práctica. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Arntfield, S. D., yBernatsky. ( 1993). Characteristic of heat-induced networks for mixtures of ovalbumin and lysozyme. Journal of Agricultural and Food Chemistry.
- Arunepanlop, B., Morr, C. V., Karleskind, D., y Laye, I. (1996). Partial replacement of egg white proteins with whey proteins in angel food cakes. Journal of Food Science, 61, 1085–1093.
- BaduiDergal, S., (2006). Química de los alimentos”, 4ta. Edición, Ed. Addison Wesley, (1999).
- Bagley, E. y Christianson, D. (1987). Measurement and interpretation of rheological properties of foods. . Food Technology 96-99.
- Ball, A., y Jones, R. A. (1995). Conformational changes in adsorbed proteins. Langmuir., 11, 3542–3548
- Baziwane, D., y He, Q. (2003). Gelatin: the paramount food additive. Food Reviews International, 19, 423-435.
- Badii, F., y Howell, N. K. (2006). Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. Food Hydrocolloids., 20 (5) 630–640
- Balerin, C., Aymard, Ducept, Vaslin, y Cuvelier. (2007). Effect of formulation and processing factors on the properties of liquid food foams. Journal of Food Engineering.78, 802–809.

- Beldarraín, A. (2008). Aplicaciones de la calorimetría diferencial de barrido. Ciudad de La Habana, Cuba: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.
- Berge, J., Tymoczko, J., y Stryer, L. (2004). Bioquímica. Ed. Reverté, 43, 79, 91. Barcelona, España.
- Berry T,K. (2008). Foaming Properties, Interfacial Properties, and Foam Microstructure of Egg White Protein and Whey Protein Isolate, Alone and in Combination. Thesis and dissertation. North Carolina State University.
- Berry, T.K., Yang, X., y Foegeding, E.A. (2009). Foams prepared from whey protein isolate and egg white protein: 2. Changes associated with angel food cake functionality, *Journal of Food Science.*, 74, E269-E277.
- Biswas B., y Haydon D, A. (1962). The coalescence of droplets stabilized by viscoelastic adsorbed films. *Kolloid Z.*, 185, 31-43.
- Blanco, A. (2007). Química Biológica., 8 ed., Ed. El ateneo., Buenos Aires, Argentina.
- Bourne, M. (1978). Texture Profile Analysis. *Food Technology.*, 32(7), 62-66, 72.
- Bourne.M. (1982). Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement., Academic press.
- Bourne, M. (1966). A classification of objective methods for measuring texture and consistency of foods. *Journal of food science*, 31, 1011–1015.
- Bourne, M. (1982). Food texture and viscosity: concept and measurement. Food science and technology international series. Academic Press.
- Understanding Food: Principles and Preparation
- Brown, A. (2010). Understanding Food: Principles and Preparation. Cengage Learning. 4th Edition.
- Campbell, G. M., y Mougeot, E. (1999). Creation and characterization of aerated food products, *Trends in Food Science & Technology.*, 10,283–296.
- Cheftel J., y Lorient. (1989). Proteínas alimentarias. Ed. Acribia., Zaragoza, España.
- Childs, J.L., Yates M.D. y Drake M.A. (2007). Sensory properties of meal replacement bars and beverages made from whey and soy proteins. *Journal of Food Science* 72(6), S425-S434

- Chothia C, Janin J. (1975). Principles of protein-protein recognition. *Nature.*, 256, 705–708.
- Chronakis, I., y Kasapis, S. (1996). Small deformation rheological properties of maltodextrin—milk protein systems, *Carbohydrate Polymers*, 29, 137-148.
- Clark, D. C. (1991). Destabilisation of  $\alpha$ -lactalbumin foams by competitive adsorption of the surfactant Tween. *Colloids and Surfaces.*, 59, 209–223
- Conesa Ferrer, J. A. (2000). *Curso básico de análisis térmico*. Editorial Club Universitario. España.
- Crespo, L.F. y Soldevilla, H. (1991). *Modernas técnicas en el procesado de alimentos.*, 83-104.
- Croguennec, T., Renault, A., Beaufils, S., y Dubois. (2007). Interfacial properties of heat-treated ovalbumin. *Journal of Colloid and Interface Science.*, 315, 627-636.
- Crowley, P., Grau, H., y Arendt, E. K. (2000). Influence of additives and mixing time on crumb grain characteristics of wheat bread. *Cereal Chemistry.*, 77:370-375.
- Damodaran S., (2005). Protein Stabilization of Emulsions and Foams. *Journal of Food Science.*, 70, R54-R64.
- Damodaran S., y Paraf A., (1997). *Food proteins and their applications*. Ed. Marcel Dekker.
- Damodaran, S. (1994). Structure-function relationship of food proteins. *Protein functionality in food systems*, Ed. Marcel Dekker.
- Damodaran, S. (2004). Adsorbed layers formed from mixtures of proteins. *Current Opinion in Colloid & Interface Science.*, 9, 328–339
- Damodaran, S., Anand, K., & Razumosky, L. (1998). Competitive adsorption of egg white proteins at the air water interface: direct evidence for electrostatic complex formation between lysozyme and other egg proteins at the interface. 46, 872–876. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 46: 872-876.
- Davis, J. P., Foegeding, E. A., y Hansen, F. K. (2004). Electrostatic effects on the yield stress of whey protein isolate foams. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.*, 34, 13–23.

- DeMan, J. 1990. Principles of Food Chemistry. 2a ed. Ed. International Thomson Publishing. USA.
- Denkov, N. D., y Marinova, K. G. (2006). Antifoam effects of solid particles, oil drops and oil-solid compounds in aqueous foams. In B. P. Binks, & T. S. Horozov (Eds.), Colloidal particles at liquid interfaces, Cambridge., pp. 383–444.
- DeVilbiss, E. D., Holsinger, V. H., Posati, L. P., y Pallansch, M. J. (1974). Properties of whey protein concentrate foams. Food Technology., 28(3), 40–42
- Dickinson, E., (1992). An introduction to food colloids. New York: Oxford University Press., p.135, 216.
- Dickinson E., Ettelaie, R., Murray, B. S., Du Z. (2002). Kinetics of disproportionation of air bubbles beneath a planar air-water interface stabilized by food proteins. Journal of Colloid and Interface Science., 252, 202-213.
- Doi, E., y Kitabatake. (1997). Structure and functionality of egg proteins. Food proteins and their applications., Ed Marcel Dekker., New York, USA.
- Donovan, J. W., Mapes, C. J., Davis, J. G. y Garibaldi, J. A. (1975). A differential scanning calorimetric study of the stability of egg white to heat denaturation. Journal of Science Food and Agriculture. 26,73.
- Du, L., Prokop, A., Tanner R, D., (2003). Variation of bubble size distribution in a protein foam fractionation column measured using a capillary probe with photoelectric sensors. Journal of Colloid and Interface Science., 259, 180-185.
- Ettelaie, R., Dickinson E., Du, Z., Murray, B. S., 2003. Disproportionation of clustered protein-stabilized bubbles at planar air-water interfaces. J Colloid and Interface Science., 263, 47-58.
- Farrell, H. M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G. T., Brown, E. M., Butler, J. E., Creamer, L.K., (2004). Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. Journal of Dairy Science, 87(6), 1641–1674.
- Fennema, O. R. (2000). Química de los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza. España.
- Fligner, M. A., y Mangino, M. E. (1991). Accelerated tests for predicting long-term stability of infant formula systems. Food Hydrocolloids., 5, 269–280.

- Finn., W. (1979). *Macromolecules: structure and function*. Ed. Prentice-Hall. Wisconsin, USA.
- Foegeding, E. A., Luck, P. J., y Davis, J. P. (2006). Factors determining the physical properties of protein foams. *Food Hydrocolloids.*, 20, 284–292
- Gareis, H., y Schrieber S. (2007). *Gelatine handbook: theory and industrial practice*. Wiley-VCH GmbH & Co.
- German, B., Damodaran, S., y Kinsella, J. E. (1982). Thermal dissociation and association behavior of soy proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 30, 807-811
- Graham, D. E., y Phillips, M. C. (1980b). Proteins at liquid interfaces. V. Shear properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 76, 240– 250.
- Hall, G. (1996). *Methods of testing protein functionality*. Londres, Chapman and Hall.
- Halling, J. (1981). Protein-stabilized foams and emulsions. *Journal of food science and nutrition*, CRC., 15, 155-203.
- Harrington, W.F., y Rao, N.V. (1970). Collagen structure in solution. I. Kinetics of helix regeneration in single-chain gelatins. *Biochemistry*, 19(19), 3714-3724.
- Harwalker, V. R., y Ma, D. (1991). Thermal analysis of food proteins. *Advances in Food and Nutrition Research.*, 35, 317-366.
- Hicasmaz Z, Yazgan Y, Bozoglu F, Katnas Z. 2003. Effect of polydextrose substitution on the cell structure of the high-ratio cake system. *Lebensm-Wiss. U-Technology.*, 36, 441-450.
- Holen, E., Elsayed, S. (1990) Characterization of four major allergens of hen-egg white by IEF/-SDS-PAGE combined with electrophoretic transfer and IgE-Immunoautoradiography *Int. Arch Allergy Immunology.*, 91,136-141
- Hsieh, Y.L., Regenstein, J.M y M.A. Rao (1993). The gel point of whey and egg proteins from dynamic rheological data. *Journal of. Food Science.*, 58, 116-119
- Ibañez, F.C., S. Loygorri. A.,Ordoñez, I. y TORRE, P. (1998). Evaluación instrumental y sensorial de la textura en quesos de oveja con Denominación de Origen. *Alimentaria*. 292, 49 – 53.
- Jellinek, G. (1990). *Sensory Evaluation of Food.Theory and Practice*.Ellis Horwood Ltda., Chichester, Reino Unido.

- Johnson, T.M., y Zabik, M.E. (1981). Egg albumen proteins interactions in an angel food cake system. *Journal of Food Science.*, 46, .2071- 2083.
- Kasapis, S., Al-Marhoobi I.M., Deszczynski, M., Mitchell JR., Abeysekera R. (2003) Gelatin vs polysaccharide in mixture with sugar. *Biomacromolecules.*, 4 (5), 1142-1149
- Kato A, Hirata S, Kobayashi K. (1978). Structure of the sulfated oligosaccharide chain of ovomucin. *Agriculture Biochemistry.*, 42, 1025–1029.
- Kato, A. y Nakai, S. (1980). Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins. *Biochem.Biophys.Acta.*624: 13.
- Kilara, A., y Vaghela M.N. (2004). Whey proteins. In “Proteins in food processing” Edited by Yada RY. Washington DC: CRC Press. p 72-99
- Kinsella, J.E., y Phillips, L.G. (1989). Structure function relationships in food proteins: films and foaming behavior. In: Kinsella, J.E., Souncie, W.G (Ed)., *Food proteins*. Champaign: AOCS., 52-77
- Kauzmann, W.(1959). Some factors in the interpretation of protein denaturation. *Advances in protein chemistry*. Academic Press Inc., 14, 1-63
- Koshiyama, I. (1971). Some aspects of subunit structure of a 7S protein in soybean globulins. *AgricBiol Chem.*, 35(3),385–92.
- Lagrain, B., Boeckx, L., Wilderjans, E., Delcour, J. A., y Lauriks, W. (2006). Noncontact ultrasound characterization of bread crumb: Application of the Biot– Allard model. *Food Research International.*, 39(10), 1067–1075.
- Lau, K., y Dickinson, E. (2004). Structural and rheological properties of aerated high sugar systems containing egg albumen. *Journal of Food Science.*, 69, E232–E239.
- Lewis, M. (1987). *Physical Properties of foods and Food Processing Systems*. Ellis Horwood Ltd.
- Li-Chan, E. y. Nakai, S.(1989). Biochemical basis for the properties of egg. *CRC Critical Reviews in Poultry Biology.*,2, 21-57.
- Marcone, M. F.; Niekamp, F. K.; LeMaguer, M.; Yada, R. Y. (1994).Purification and characterization of the physicochemical properties of the albumin fraction from the seeds of *Amaranthushypochondriacus*. *FoodChemistry.*, 51, 287-294.

- Martínez, J. A. (2000). La fisicoquímica de las claras de huevo. *Annales de la real sociedad española de química*.
- Matsuda, T., Watanabe, K., y Sato. (1982). Interaction between ovomucoide and lyozyme. *Journal of food science*.,47, 637–641
- Matz, S. A. (1992). *Bakery Technology and Engineering*.3a ed. Springer.
- Morr, C.V., Hoffman, W., Buchheim, W ., ( 2003). Used of applied air pressure to improve the baking properties of whey protein isolates in angel food cakes. *Food Science and Technology*., 36: 83-90.
- Münzing, K. (1991). DSC studies of starch in cereal and cereal products. *Thermochim.Acta.*, 193:441-448.
- Murray, B.S., (2007) Stabilization of bubbles and foams. *Current Opinion Colloid Interface Science.*, 12,232-241.
- Murray, E.D., Myers, C.D., Barker, L.D. (1981). Functional attributes of protein—Anoncovalent approach to processing and utilizing plant proteins. In: Stanley DW, Murray ED, Lees DW (eds), *Utilization of Protein Resources*, Food and Nutrition Press, Inc., Westport, CT.
- Murray, E. K. (1987). Interfacial behaviour of protein mixtures at air–water interfaces. In E. Dickinson, *Food emulsions and foams*. London: Royal Society of Chemistry., 170–187
- Murray, B., yEttelaie. (2004). Foam stability: proteins and nanoparticles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science.*, 9, 314–320.
- Myers, C. D. (1990). Study of thermodynamics and kinetics of protein stability by thermal analysis. in *Thermal Analysis of Foods*. Ed. Elsevier., 16–50.
- Oakenfull, D., y Scott, (1986). Stabilization of gelatin gels by sugars and polyols. *Food Hydrocolloids.*, 1, 163-175..
- O'Mahony, M., y Rousseau (2002). Discrimination testing: a few ideas, old and new. *Food Quality and Preference* 14: 157–164.
- O'Mahony, M., S. Masuoka, S., y R. Ishii. (1994). A theoretical note on difference tests: models, paradoxes and cognitive strategies. *Journal of Sensory Studies* 9: 247–272.
- Powrie, W.D. (1976) Characteristics of edible fluids of animal origin: Eggs. In: Fennema OR, editor. *Food Chemistry*. New York: Marcel Dekker Inc., 659-675



- Pavia, M., Trujillo, A., Guamis, B., y Ferragut, V. (1999). Evolución de la composición y textura de un queso de oveja en la maduración. *Alimentaria.*, 306, 43-47.
- Peleg, M. (1983). The semantics of rheology and texture. *Food technology.*, 11, 54-61.
- Pernell, C. W., Luck, P. J., Foegeding, E. A. y Daubert, C. R.. (2002). Heat-induced changes in angel food cakes containing egg-white protein. *Journal of Food Science.*, 67, 2945-2951.
- Petrucelli, S., y Añón, M.C. (1995). Thermal aggregation of soy protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 3035
- Phillips Whitehead, D. M.; y Kinsella, J. E. (1994). Structurefunction properties of food proteins. *Food Science and Technology International Series.*, Academic Press New York., pp 207-255
- Phillips, L. G., Yang, S. T., Schulman, W., y Kinsella, J. E (1989). Effects of lysozyme, clupeine, and sucrose on the foaming properties of whey isolate and b-lactoglobulin. *Journal of Food Science.*, 54, 1356-1368
- Pilosof, A., y Bartholomai, G. (2000). Caracterización funcional estructural de proteínas. *Cytod-Eudeba.*, Buenos Aires, Argentina.
- Potter, R.M., Dougherty M.P., Halteman W.A., y Camire M.E. (2007). Characteristics of wild blueberry–soy beverages. *LWT-Food Science And Technology.*, 40(5), 807–814.
- Prins A. (1992). Surface rheology and practical behavior of foams and thin liquid films. *Chem. IngTechnology.*, 64: 73-75.
- Pugh, R. J. (2001). Foams and Foaming. *Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry.* K. Holmberg, John Wiley y Sons, Ltd: 23 - 43
- Renkema, J., Lakemond, C. M., De Jongh, H., Gruppen, H., y Van Vliet, T. (2000). The effect of pH on heat denaturation and gel forming properties of soy proteins. *Journal of Biotechnology.*, 79, 223-230.
- Rhee, K. (1994). Functionality of soy protein in Protein-Functionality in Food Systems. Basic symposium series. Marcel Dekker, Inc., Minnessota, USA.
- Richert, S.H. (1979). Physical-chemical properties of whey protein foams. *Journal of Agriculture Food Chemistry.*, 27, 665-668.
- Sanchez P, M., Ortiz, A., Mora E.R., Chanona P.J., y Necochea-Mondragon, H. (2008). Comparison of crumb microstructure from pound cakes baked

- in a microwave or conventional oven. *Lebensmittel- Wissenschaft Und Technologie-Food Science and Technology.*, 41(4), 620–627.
- Salager, Anderson, J. M., & Forgiarini. (2005). Influencia de la formulación sobre las espumas. *Laboratorio de Formulaciones, Interfase, Reología y Procesos*, 263., Cuaderno FIRP N° 263. .
- Schmitt, C., & Kolodzi. (2007). Whey protein soluble aggregates from heating with NaCl: Physicochemical, interfacial, and foaming properties. *Langmuir.* 23, 4155–4166.
- Setser, C. S. (1993). Sensory evaluation. In: *Advances in Baking Technology*. B. S. Kamel and C. E. Stauffer, eds. Blackie Academic & Professional., 254-291., Glasgow, Reino Unido.
- Shimada, K., & Cheftel, J.C. (1988). Determination of sulfhydryl groups and disulfide bonds in heat-induced gels of soy protein isolate. *Journal of Agriculture Food Chemistry.*, 36, 147– 53.
- Slade, H., & Levine, L. (1987). Recent advances in starch retrogradation. in: *Industrial Polysaccharides*. S. S. Stivala, V. Crescenzi, and I. C. M. Dea, eds. Gordon and Breach Science: New York., 387-430.
- Sorgentini, D. A., Wagner, J. R., & Añón, M. C. (1995). Effects of thermal treatment of soy protein isolate on the characteristics and structure-function relationship of soluble and insoluble fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(9), 2471-2479.
- Stadelman, W., & Cotterill. (1995). *Egg science and technology*. Ed. Haworth. New York, USA.
- Stanley, & Yada., (1991). Physical consequence of thermal reactions in food proteins systems. *Physical Chemistry of Foods.*, 669-773.
- Stone, H., & Sidel J. L. (1978). Computing exact probabilities in sensory discrimination tests. *Journal of Food Science.*, 43: 1028 – 1029.
- Stone, H., & Sidel J. L. (1993). *Sensory Evaluation Practices*, 2da Ed. Academic. E.E.U.U.
- Tester, R.F., & Debon, S.J. (2000) Annealing of starch: a review. *International journal of biological macromolecules.* 27, 1-12.

- Thanh, V.Hh., y Shibasaki K. (1977). Beta-conglycinin from soybean proteins: isolation and immunological and physicochemical properties of the monomeric forms. *BiochimBiophys Acta.*, 490,370–84.
- Tunick, M. H. (2000). Rheology of dairy foods that gel, stretch and fracture. Symposium Dairy products Rheology. *Journal of Dairy Science.*, 83, 1892 – 1898.
- Utsumi, S., y Kinsella, J. (1985). Structure-function relationships in food proteins: subunit interactions in heat induced gelation of 7S, 11S and soy isolate proteins. *Journal of agricultural Food Chemistry.*, 33, 297-303.
- Utsumi, S., Matsumura, y., y Mori, T. (1997). Structure-Function relationships in food proteins in food proteins and their applications., Marcel Dekker, Inc.
- Walstra, P. (2003) *Physical Chemistry of foods*. Ed. Marcel Dekker., New York, USA.
- Walstra, P., y de Roos, A. L. (1993). Proteins at air–water and oil–water interfaces: static and dynamic aspects. *Food Reviews International.*, 9,503–525.
- Watts, B.M., Ylimaki, G.L., Jeffery, L.E., Elías, L.G. (1992). Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. Centro Internacional de investigaciones para el desarrollo, Ottawa, Canadá.
- Wilchek, M., y Bayer, E. A. (1990). Isolation of biologically active compounds: A universal approach. *Methods Enzymol.*, 184, 243-244.
- Wilde, P., Mackie, A., Husband, F., Gunning, P., y Morris, V. (2004). Proteins and emulsifiers at liquid interfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108–109, 63–71.
- Wilderjans , E., Pareyt, B., Goesaert, H., Brijs, K., Delcour, J.,(2008). The role of gluten in a pound cake system: A model approach based on gluten–starch blends. *Food Chemistry.*, 110, 909–915
- Wolf, d. (2003). Collagen and gelatin. In: *Progress in biotechnology*, Amsterdam, Netherlands: Elsevier Science B.V., 23, 133-218.
- Woodward, S. A. y Cotterill, O. J. (1986). Texture and microstructure of heat-formed egg white gels. *Journal of Food Science.*, 51, 333-339.
- Yang, X., (2009). Effects of sucrose on egg white protein and whey protein isolate foams: Factors. *Food Hydrocolloids*, 24, 227–238.

- Zayas, F., & Joseph.(1997). Functionality of proteins in food Journal of Food science.Berlín: Springer-Verlag.
- Zayas, J. F. (1997). Foaming properties of proteins.In Functionality of proteins in food.Berlín: Springer-Verlag., 260-309.
- Zeleznak, K. J., y Hosenev, R. C. (1987). The glass transition in starch Cereal Chemistry., 64:121-124.
- Zhang, J., Mungara, P., y Jane, J. (2001). Mechanical and thermal properties of extruded soy protein sheets. Polymers. The American Society for Nutritional Sciences J., 42(6), 2569–2578.

## Apéndice 1. Análisis de varianza (ANOVA) de una vía

### Tiempo de Batido

Origen	DF	SS	MS	F	P
Tiempo de batido	4	1502.42	375.60	48.43	0.000
Error	10	77.55	7.76		
Total	14	1579.97			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	
1	3	92.00	1.00	(---*---)
2	3	108.60	0.79	(---*---)
3	3	110.67	5.10	(---*---)
4	3	104.30	2.38	(---*---)
5	3	85.47	2.34	(---*---)

90 100 110 120

### Porcentaje de sobrerrendimiento

Origen	DF	SS	MS	F	P
% de sobrerrendimiento	3	5894.8	1964.9	117.41	0.000
Error	8	133.9	16.7		
Total	11	6028.7			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	
APL	3	514.36	6.00	(---*---)
APS	3	505.47	2.61	(---*---)
CH	3	496.17	4.69	(---*---)
G	3	456.35	1.46	(---*---)

460 480 500 520

### Tiempo ½ de drenado

Origen	DF	SS	MS	F	P
t ½ de drenado	3	2387.85	795.95	310.31	0.000
Error	8	20.52	2.56		
Total	11	2408.37			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

```

Level N  Mean  StDev  +-----+-----+-----+-----+
APL  3   84.53  1.97  (*-)
APS  3  110.60  1.65      (-*-)
CH   3  114.87  1.45      (-*)
G    3  121.83  1.25      (-*)
-----+-----+-----+-----+
          84      96      108      120

```

### Aumento de Volumen

Origen	DF	SS	MS	F	P
Aumento de volumen	3	0.20667	0.06889	27.56	0.000
Error	8	0.02000	0.00250		
Total	11	0.22667			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

```

Level N  Mean  StDev  +-----+-----+-----+-----+
APL  3  0.43333  0.05774  (----*----)
APS  3  0.73333  0.05774      (----*----)
CH   3  0.76667  0.05774      (----*----)
G    3  0.60000  0.00000      (----*----)
-----+-----+-----+-----+
          0.48  0.60  0.72  0.84

```

### No. de Objetos

Origen	DF	SS	MS	F	P
No. De Objetos	3	14483	4828	44.73	0.000
Error	68	7339	108		
Total	71	21822			

Individual 95% CIs For Mean Based on

Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
APL	18	106.56	7.05
APS	18	136.78	14.40
CH	18	140.61	11.93
G	18	115.94	5.69

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
APL	18	106.56	7.05
APS	18	136.78	14.40
CH	18	140.61	11.93
G	18	115.94	5.69

108 120 132 144

### TPA

### Dureza

Origen	DF	SS	MS	F	P
Muestra	3	2058.5	686.2	20.93	0.000
Error	24	786.7	32.8		
Total	27	2845.2			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
APL	7	75.911	7.189
APS	7	65.783	2.210
CH	7	65.963	8.375
G	7	51.826	2.100

50 60 70 80

### Cohesividad

Origen	DF	SS	MS	F	P
Muestra	3	0.12196	0.04065	6.47	0.002
Error	24	0.15089	0.00629		
Total	27	0.27285			

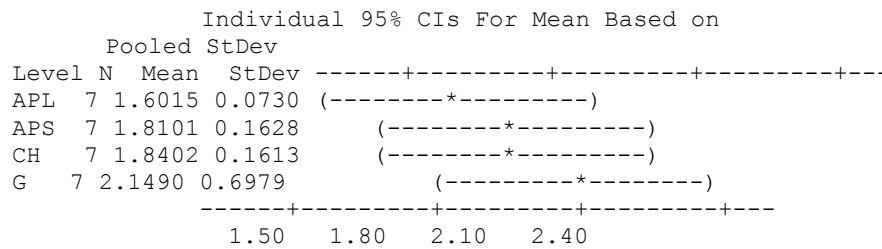
Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
APL	7	0.90286	0.07476
APS	7	0.81843	0.07305
CH	7	0.81684	0.02705
G	7	0.71653	0.11615

0.720 0.800 0.880 0.960

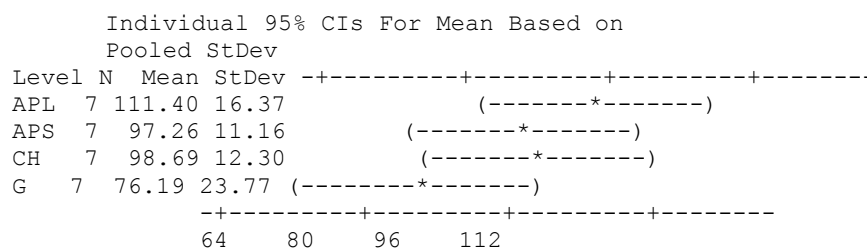
### Elasticidad

Origen	DF	SS	MS	F	P
Muestra	3	1.070	0.357	2.62	0.074
Error	24	3.269	0.136		
Total	27	4.339			



### Masticabilidad

Origen	DF	SS	MS	F	P
Muestra	3	4469	1490	5.37	0.006
Error	24	6654	277		
Total	27	11123			





## Apéndice 2. Cuestionario de evaluación sensorial. Prueba de preferencia

### EVALUACIÓN SENSORIAL DE PASTEL ÁNGEL

EDAD: \_\_\_\_

SEXO: M\_\_ F\_\_

1. Marque con una X la muestra que le gusta más en general:

234

452

377

749